

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

**Avaliação da concordância da expressão imuno-histoquímica da proteína
p53 entre a amostra endometrial pré-operatória e a peça uterina nos
carcinomas de endométrio**

Razyane Audibert Silveira

Porto Alegre, 2017.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

Avaliação da concordância da expressão imuno-histoquímica da proteína p53 entre a amostra endometrial pré-operatória e a peça uterina nos carcinomas de endométrio

Razyane Audibert Silveira

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Maria Kliemann

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia Appel

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, 2017.

CIP - Catalogação na Publicação

Silveira, Razyane Audibert

Avaliação da concordância da expressão imuno-histoquímica da proteína p53 entre a amostra endometrial pré-operatória e a peça uterina nos carcinomas de endométrio / Razyane Audibert Silveira. -- 2017.

80 f.

Orientadora: Lúcia Maria Kliemann.

Coorientadora: Márcia Appel.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Neoplasia de endométrio. 2. Gene p53. I. Kliemann, Lúcia Maria, orient. II. Appel, Márcia, coorient. III. Título.

*“Nenhum de nós é tão bom
quanto todos nós juntos”*

Ray Kroc

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À minha orientadora, Professora Lúcia Maria Kliemann, pelo acolhimento, estímulo e respeito ao meu tempo e às minhas limitações.

À minha co-orientadora, Professora Márcia Appel, pela idealização e criação deste projeto, por sua confiança em mim e por todos os ensinamentos práticos ao longo dos últimos anos.

À Professora Raquel Riveiro, pela disponibilidade e pelo auxílio na leitura das lâminas.

À Equipe da Oncologia Genital do HCPA, por me apresentar a paixão pela causa e me acolher de braços abertos; em especial, à Dra Heleusa Mônego, pela paciência, dedicação e generosidade em dividir seus conhecimentos.

Aos meus amigos, pelo apoio, pelas críticas e pelas palavras de conforto na hora exata.

Aos meus pais, Márcia e Airton, e à minha irmã, Alyane, pelo suporte e amor incondicionais. Vocês são a razão pela qual tento ser uma pessoa e profissional melhor todos os dias.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	12
1. Estratégias para localizar e selecionar as informações.....	15
2. Marco conceitual esquemático	17
3. Epidemiologia da Neoplasia Endometrial	18
4. Fatores de Risco para Neoplasia Endometrial	18
5. Diagnóstico da Neoplasia Endometrial.....	21
6. Tipos Histológicos da Neoplasia Endometrial.....	22
6.1 Adenocarcinomas Endometrioides	22
6.2 Adenocarcinomas Não Endometrioides.....	25
7. Sistema de Estadiamento na Neoplasia Endometrial.....	28
8. Tratamento da Neoplasia Endometrial	30
9. Alterações Genéticas na Neoplasia Endometrial.....	32
9.1 O Papel da p53 na Neoplasia Endometrial	34
JUSTIFICATIVA	42
HIPÓTESES.....	43
Hipótese Nula.....	43
Hipótese Alternativa	43
OBJETIVOS	44
Principal	44
Secundários	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ARTIGO EM INGLÊS	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	77
ANEXOS	79

LISTA DE ABREVIATURAS

ACS	<i>American Cancer Society</i>
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
TP53	Gene p53
p53	Proteína p53
G	Grau tumoral
G1	Grau tumoral 1 – bem diferenciado
G2	Grau tumoral 2 – moderadamente diferenciado
G3	Grau tumoral 3 - indiferenciado
IMH	Imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
TH	Terapia Hormonal
IMC	Índice de Massa Corporal
EE	Espessura Endometrial
PAS	Ácido Periódico Schiff
WHO	<i>World Health Organization</i>
GOG	<i>Gynecologic Oncology Group</i>
CDK	Quinases dependente de ciclinas
Kda	Kilodalton
Fase G1	Fase de repouso do Ciclo Celular
Fase S	Fase de síntese proteica do Ciclo Celular
MPC	Morte Programada da Célula
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Palavras-chave e artigos localizados.

Figura 2. Sistema de Estadiamento Cirúrgico da Neoplasia Endometrial.

RESUMO

Objetivo: avaliar a concordância da expressão imuno-histoquímica (IMH) da proteína p53 (p53) na amostra endometrial e na peça cirúrgica de histerectomia, associando-a a fatores como tipo histológico, grau tumoral e estadiamento, bem como analisar a concordância interobservador para expressão e intensidade de expressão da p53 entre biópsia diagnóstica e peça cirúrgica. Métodos: estudo transversal retrospectivo, no qual foram incluídas pacientes com carcinoma endometrial submetidas à biópsia de endométrio e tratamento cirúrgico primário na Unidade de Oncologia Genital do HCPA. As lâminas foram lidas por dois patologistas. O percentual de expressão da p53 foi avaliado em três categorias (<10%, 10-50% e >50%). A intensidade foi avaliada como fraca, média ou forte. Foram extraídos dados do prontuário eletrônico das pacientes. A concordância foi avaliada através do coeficiente *Kappa* ponderado. Resultados: 72 pacientes foram incluídas, com idade média de 65,5 anos. O percentual de expressão da p53 entre biópsia e peça cirúrgica apresentou uma taxa de concordância de 70,8%, com um índice de *Kappa* ponderado de 0,64 e a intensidade de expressão apresentou uma taxa de concordância de 69,4%, com *Kappa* ponderado de 0,65. A avaliação da concordância do percentual de expressão da p53 conforme tipo histológico e grau tumoral apresentou coeficientes de *Kappa* ponderado de 0,64 e 0,72, nos carcinomas não endometrioides e G3, respectivamente. Tais dados, com diferença estatística significativa. A concordância interobservador para a expressão e intensidade da p53 na biópsia apresentou índices de *Kappa* ponderado de 0,77 e 0,75, respectivamente. Na peça cirúrgica, os índices de *kappa* ponderado foram de 0,85 e 0,88, para a expressão e intensidade,

respectivamente. Conclusões: as taxas de concordância para a expressão e intensidade de expressão IMH da p53 entre biópsia endometrial e peça cirúrgica foram boas, podendo ser útil em tempo pré-operatório, para a seleção de pacientes candidatas a uma cirurgia mais extensa, principalmente quando os dados anatomopatológicos da biópsia forem insuficientes para tal decisão. Devemos, no entanto, levar em consideração que existem muitos outros marcadores moleculares para a neoplasia endometrial, sendo provável futuramente o estudo da concordância deles em associação ao da p53.

Palavras chave: carcinoma endometrial, p53, imuno-histoquímica, biópsia.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the agreement of the immunohistochemical (IMH) expression of the p53 protein (p53) in preoperative endometrial tissues and in surgical specimens obtained during hysterectomy, to determine the association of this agreement with factors such as histological type, tumor grade and stage and to evaluate interobserver agreement for the expression and intensity of p53 between the diagnostic biopsy and the surgical specimen. Methods: Retrospective cross-sectional study. Patients with endometrial carcinoma who submitted to endometrial biopsy and primary surgical treatment at the HCPA Genital Oncology Unit were included. The slides were assessed by two pathologists. The percentage of p53 expression was evaluated and categorized into one of three groups (<10%, 10-50% and >50%). The intensity was evaluated as weak, medium or strong. The agreement was assessed by the weighted *Kappa* coefficient. Results: 72 patients with a mean age of 65.5 years were included. The percentage of p53 expression between the biopsy and the surgical specimen presented an agreement rate of 70.8%, with a weighted *Kappa* index of 0.64. The intensity of expression had an agreement rate of 69.4% with a weighted *Kappa* of 0.65. When evaluated according to histological type and tumor grade, the agreement for p53 expression showed weighted *Kappa* indexes of 0.64 and 0.72 in non-endometrioid and G3 carcinomas, respectively ($p < 0.001$). With respect to the biopsy, the interobserver agreement for the expression and intensity of p53 had weighted *Kappa* indexes of 0.77 and 0.75, respectively. With respect to the surgical specimen, the weighted *Kappa* indexes were 0.85 and 0.88 for expression and intensity, respectively.

Conclusions: This study found good agreement rates for the expression and intensity of p53 IMH expression between the endometrial biopsy specimen and the surgical specimen, which may be useful in a preoperative setting for the selection of patients who are candidates for more extensive surgery, especially when anatomopathological biopsy data are insufficient for such a decision.

Key words: endometrial carcinoma, p53, immunohistochemistry, biopsy.

INTRODUÇÃO

O carcinoma endometrial representa cerca de 5% de todas as neoplasias malignas femininas no mundo, sendo que as maiores taxas de incidência se encontram na América do Norte e na Europa, enquanto as menores ocorrem na África e na Ásia [1]. Nos Estados Unidos, segundo dados da *American Cancer Society* (ACS), cerca de 61380 novos casos são estimados para 2017 e 10920 mulheres morrerão em decorrência da doença [2]. No Brasil, esse mal ocupa a sexta posição (3,4%) entre todas as neoplasias diagnosticadas na mulher, superado pelas lesões de pele, mama, cólon, colo do útero, pulmão e estômago [1].

O carcinoma de endométrio se desenvolve durante os anos reprodutivos e após a menopausa, com idade média em torno de 64 anos [3]. Cerca de 90% das pacientes o manifestam ao apresentar sangramento vaginal anormal, mais comumente pós-menopáusicos [4]. A pontualidade e a precocidade da sintomatologia são, em parte, responsáveis pelo diagnóstico da doença em fase inicial. Além disso, é descrito que cerca de 75% das pacientes com esse carcinoma apresentam-se, ao diagnóstico, em estágio I [5], com taxas de sobrevida em cinco anos em torno de 85% [6,7].

O diagnóstico definitivo da neoplasia de endométrio é realizado através de exame histológico, e o material para avaliação pode ser adquirido através de biópsia aspirativa em consultório ou curetagem uterina. No entanto, a biópsia guiada por histeroscopia, com visão direta da cavidade, é considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico [8].

A neoplasia endometrial deve ser estadiada e tratada primariamente através de procedimento cirúrgico. O ideal, conforme recomendação da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO), envolve a realização de histerectomia total com salpingo-ooforectomia bilateral, exame citológico de lavados ou esfregaços da superfície peritoneal e as linfadenectomias pélvica e para-aórtica [9]. Com o real conhecimento da extensão da doença, algumas pacientes serão consideradas tratadas, enquanto outras terão indicação de terapia adjuvante. Enquanto a radioterapia pós-operatória é o tratamento complementar mais utilizado, a quimioterapia sistêmica adjuvante é reservada para pacientes em estádios avançados (III e IV) [10].

Os fatores prognósticos classicamente relacionados ao carcinoma de endométrio incluem o tipo histológico, o grau de diferenciação tumoral e a profundidade de invasão miometrial, além do estadiamento cirúrgico [11–13]. No entanto, existe um interesse crescente em definir alterações moleculares que possam, em conjunto ou de forma independente dos fatores já descritos, prever, com maior acurácia, qual a evolução clínica das pacientes.

Desde que Silverman e cols. [14] reconheceram uma série de mutações no DNA da célula endometrial, muito se tem acrescentado ao conhecimento da biologia molecular deste tumor. O gene p53 (TP53), por exemplo, é considerado um gene de supressão tumoral e encontra-se mutado em aproximadamente 21 a 49% dos carcinomas endometriais [15–17]. Segundo dados da literatura, a positividade celular para a proteína p53 (p53) relacionou-se com pior sobrevida em tumores grau 1 (G1) e grau 2 (G2), bem como se associou diretamente a tumores de mau prognóstico: indiferenciados, de

histologia não endometrióide, com invasão miometrial profunda e extensão linfática [16–19].

Assim, a avaliação imuno-histoquímica (IMH) da p53 na amostra endometrial e sua possibilidade de correlacionar-se a fatores prognósticos adversos possibilitam a seleção, em tempo pré-operatório, de pacientes candidatas a tratamento cirúrgico mais amplo, incluindo linfadenectomia retroperitoneal [20,21]. No entanto, assim como estudos apontam índices de discordância entre a biópsia diagnóstica e a peça cirúrgica quanto ao grau tumoral e ao tipo histológico [22,23], suscita-se a mesma questão em relação à expressão IMH da p53. Dessa forma, trabalhos sobre a concordância da leitura IMH entre amostra endometrial e peça cirúrgica definitiva precisam ser desenvolvidos. No presente estudo, testamos a hipótese de que a expressão positiva da p53 na amostra endometrial seja concordante com a expressão na peça cirúrgica, a fim de utilizá-la como marcador tumoral pré-operatório para avaliação prognóstica e definição de tratamento cirúrgico.

REVISÃO DA LITERATURA

1. Estratégias para localizar e selecionar as informações

Foram utilizadas para busca de periódicos as seguintes base de dados:

- Pubmed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)
- Scielo (www.scielo.org)
- Lilacs (www.lilacs.bvsalud.org)

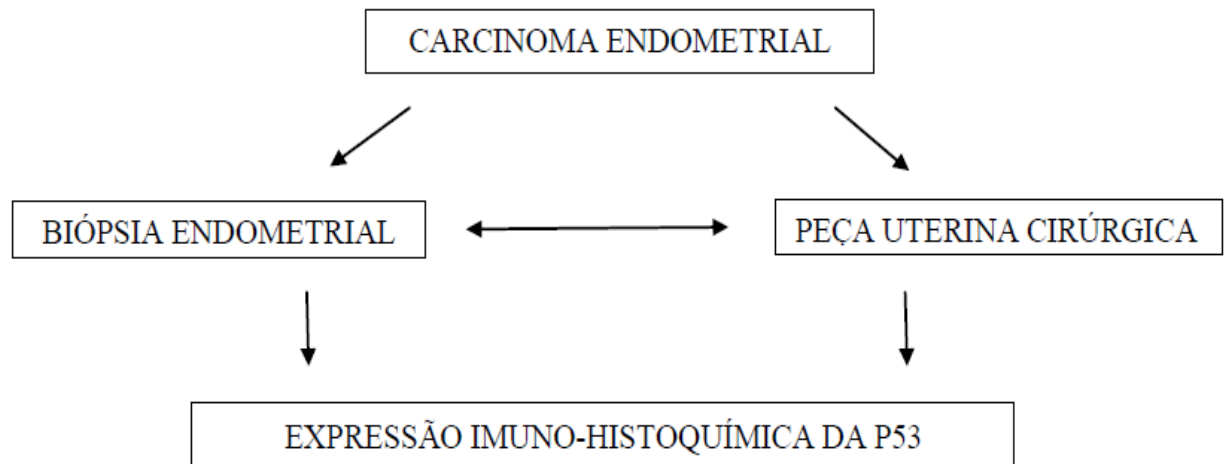
Inicialmente, foram selecionados artigos que apresentavam dados sobre carcinoma endometrial e sobre p53 isoladamente. Dentre estes, foram identificados artigos relacionados à biópsia endometrial e ao papel prognóstico da p53 na neoplasia endometrial. Por último, foram localizados estudos que combinassem essas variáveis. Foram incluídas também webpages do Instituto Nacional do Câncer e da *American Cancer Society*.

Figura 1. Palavras-chave e artigos localizados.

PALAVRAS	PUBMED	SCIELO	LILACS
Endometrial carcinoma	30409	33	311
Endometrial adenocarcinoma	9878	21	32
Endometrial cancer	32734	69	326
Câncer de endométrio	7	46	357
p53	85766	378	29
Endometrial carcinoma AND p53	1034	1	0
Endometrial adenocarcinoma AND p53	99	2	0
Endometrial cancer AND p53	1062	0	0
Câncer de endométrio AND p53	0	0	0

Endometrial carcinoma AND p53 AND prognosis	425	0	0
Endometrial adenocarcinoma AND p53 AND prognosis	42	0	0
Endometrial cancer AND p53 AND prognosis	427	0	0

2. Marco conceitual esquemático



Inicialmente, frente a uma suspeita de neoplasia endometrial, realiza-se a biópsia de endométrio. Uma vez comprovado o diagnóstico, a paciente é submetida à cirurgia de estadiamento, a qual também faz parte do tratamento. A avaliação patológica da peça uterina cirúrgica fornece os dados definitivos sobre a neoplasia endometrial, sendo possível compará-los aos dados obtidos primeiramente através da biópsia. Entre esses dados, a IMH da p53 pode acrescentar informações importantes sobre o prognóstico da doença. O objetivo deste estudo, portanto, é avaliar a concordância da expressão dessa proteína entre a biópsia endometrial e a peça uterina cirúrgica.

3. Epidemiologia da Neoplasia Endometrial

O carcinoma endometrial representa cerca de 5% de todas as neoplasias malignas femininas no mundo. As maiores taxas de incidência encontram-se na América do Norte e na Europa, enquanto as menores ocorrem na África e na Ásia [1]. É considerado o câncer ginecológico mais prevalente em países desenvolvidos [24]. Nos Estados Unidos, segundo dados da ACS, cerca de 61380 novos casos são estimados para 2017 e 10920 mulheres morrerão em decorrência da doença. A probabilidade de uma mulher desenvolver câncer de endométrio ao longo da vida é de 1:36, enquanto a probabilidade de morrer da doença é de 1:172. Mulheres brancas têm maior risco de desenvolver a neoplasia, cerca de 2,7%, e mulheres negras têm risco menor, cerca de 2,06%, porém apresentam maiores chances de morte [2].

No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), excetuando-se tumores de pele não-melanoma, o câncer endometrial ocupa a sexta posição entre as neoplasias malignas femininas mais frequentes, atrás do câncer de mama, cólon, colo do útero, pulmão e estômago. Para o ano de 2016, estimaram-se cerca de 6950 casos novos de câncer do corpo do útero, com um risco estimado de 6,74 casos a cada 100 mil mulheres [1].

4. Fatores de Risco para Neoplasia Endometrial

A neoplasia endometrial desenvolve-se predominantemente na faixa etária dos 50 aos 65 anos [25]. Estudos mostram que aproximadamente 60% dos casos ocorrem em pacientes com mais de 60 anos [26], sendo a idade média em torno de 64 anos [3]. Ainda, 25% dos tumores endometriais são

diagnosticados antes da menopausa, porém somente 5% o são antes dos 40 anos de idade [25].

Entre os fatores de risco da doença, destaca-se a exposição prolongada a estrogênios: uso de terapia hormonal (TH) sem oposição progestogênica, obesidade, *diabetes mellitus*, ciclos anovulatórios, nuliparidade e menopausa tardia [6,27,28]. Shapiro e cols. [29] demonstraram que a prevalência do uso de TH é duas vezes maior em pacientes com carcinoma de endométrio, comparativamente aos controles sem doença, sendo este risco permanente por até dez anos após o término do uso da terapia hormonal. Estudos nacionais apontam que pacientes com tumor endometrial apresentam, entre as suas características epidemiológicas, índice de massa corporal (IMC) acima de 25kg/m² (73,8 a 78,5% dos casos), obesidade (21,35 a 48,5%), hipertensão arterial sistêmica (41,7 a 73,3%) e *diabetes mellitus* (16,5 a 21,35%) [3,26,30]. A história familiar ou pessoal de câncer colorretal não polipoide (Síndrome de Lynch) pode configurar um risco hereditário para esta neoplasia. Observa-se também aumento de risco em mulheres pós-menopáusicas usuárias de tamoxifeno [6,24,31].

Em contrapartida, situações que diminuam a exposição ao estrogênio ou aumentem os níveis de progesterona (TH combinada, anticoncepcional hormonal combinado, ovulação) podem ser consideradas como protetoras. Ainda, em artigo publicado em 2008, Lindemann e cols. [32] descreveram que mulheres fumantes apresentaram 45% menos chance de desenvolver neoplasia de endométrio que mulheres não-fumantes.

A partir de publicação de Bokhman [33], em 1983, baseado em características clínicas, patológicas e endócrinas, os tumores endometriais passaram a ser categorizados em dois tipos distintos. Carcinomas do tipo I correspondem a aproximadamente 80% dos casos e caracterizam-se pelo estado de hiperestrogenismo, relacionando-se, portanto, aos fatores de risco clássicos como diabetes e obesidade. Em geral, esses tumores associam-se à hiperplasia endometrial, são de histologia endometriode, moderadamente ou bem diferenciados, com invasão superficial do miométrio e apresentam positividade para receptores hormonais. Tais características configuram prognóstico favorável.

Alternativamente, tumores tipo II são, em geral, de subtipos histológicos papilar seroso e de células claras, comuns em mulheres magras, sem distúrbios metabólicos, associados à atrofia endometrial. Essa patologia, a qual representa cerca de 10% de todas as neoplasias endometriais, é altamente agressiva, apresentando-se de maneira indiferenciada, com maiores chances de metástases e recidiva [34].

Além disso, os dois tipos também diferem pelo perfil biológico molecular [35]. Enquanto tumores tipo I caracterizam-se por mutações nos genes k - RAS, PTEN, beta-catenina e PICK3CA, tumores do tipo II normalmente apresentam os genes HER2 e TP53 mutados [34]. Sendo assim, é importante ressaltar que tumores endometriodes indiferenciados são considerados tumores tipo II, devido às características IMH e ao comportamento mais agressivo que os outros tumores endometriodes [36]. É possível, ainda, que alguns tumores não possam ser enquadrados dentro de uma das duas

categorias, sendo provável a identificação de outros perfis biomoleculares futuramente [15,33,37].

5. Diagnóstico da Neoplasia Endometrial

Cerca de 90% das pacientes com carcinoma de endométrio apresentam, como sintoma inicial, sangramento vaginal anormal, seja pela mudança no padrão das menstruações, sangramento entre os ciclos ou após a menopausa [4]. A precocidade da sintomatologia é a grande responsável pelo diagnóstico da doença em uma fase inicial. Segundo dados da literatura, cerca de 75% das pacientes com carcinoma endometrial apresentam-se, ao diagnóstico, com doença em estágio I [5]. Essas pacientes, segundo estudos, apresentam taxas de sobrevida em cinco anos em torno de 85% [6,7]. Para estádios II, III e IV, esses valores caem para 75, 45 e 25% respectivamente [6]. Por esse motivo, não existe na literatura uma recomendação clara para o rastreamento da neoplasia endometrial em mulheres sem risco definido, mesmo que obesas, diabéticas, hipertensas, usuárias de tamoxifeno ou de terapia hormonal. Para pacientes portadoras ou com suspeita de Síndrome de Lynch, recomenda-se rastreamento anual a partir dos 35 anos com ecografia transvaginal [38].

A ecografia transvaginal fornece dados sobre a espessura endometrial (EE), sendo considerada um método confiável para a avaliação e conduta de uma eventual patologia endometrial [39]. Nesse sentido, estudos apontam que o ponto de corte para a EE varia de 3 a 5mm, abaixo do qual a probabilidade de desenvolvimento de neoplasia endometrial seria mínima [40–42]. Uma vez estabelecido o ponto de corte, pacientes que apresentarem sangramento

uterino anormal ou pós-menopáusico, juntamente com alteração ecográfica, devem prosseguir investigação com métodos invasivos, pois o diagnóstico definitivo da neoplasia de endométrio se dá através de exame histológico.

Para tal avaliação, a biópsia aspirativa realizada em consultório é um procedimento de fácil execução, baixo custo e eficaz, com probabilidade de menos de 1% de apresentar-se negativa na presença de câncer endometrial [6]. Já a curetagem uterina, a qual é um método clássico de avaliação, apresenta como limitações o risco de perder-se o diagnóstico de lesões de crescimento focal e o fato de que apenas 60 a 75% da superfície endometrial são retirados normalmente [43]. Assim, a biópsia guiada por histeroscopia, com visão direta da cavidade endometrial, é considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico[8].

6. Tipos Histológicos da Neoplasia Endometrial

A maioria dos carcinomas endometriais são adenocarcinomas, os quais são classificados nos subtipos endometrioides e não endometrioides.

6.1 Adenocarcinomas Endometrioides

O adenocarcinoma endometriode típico é o mais comum, ou seja, é responsável por mais de três quartos de todos os casos e apresenta melhores índices de sobrevida [44]. Tumores nesta categoria não exibem mais do que 10% de diferenciação celular serosa, mucinosa ou de células claras [45]. A superfície endometrial pode ser focalmente hemorrágica, sendo a neoplasia quase uniformemente exofítica, mesmo nas ocorrências em que ocorre invasão

profunda. Em alguns casos, pode manifestar-se como massas polipoides. Microscopicamente, o grau do carcinoma endometriode é baseado no padrão arquitetural, nuclear ou ambos. A graduação arquitetural foi definida a partir da classificação da FIGO de 1988 e baseia-se na extensão do tumor que é composta por massas sólidas, em comparação com o componente glandular. O de grau 1 arquitetural apresenta não mais do que 5% de componente sólido; o de grau 2, de 6 a 50% e o de grau 3, mais do que 50% de massa sólida.

O grau nuclear, por sua vez, é determinado pelas variações no tamanho e forma dos núcleos, distribuição da cromatina e tamanho do nucléolo. No grau 1, os núcleos são ovalados, levemente alargados e apresentam cromatina dispersa. No grau 3, os núcleos são extremamente alargados e pleomórficos, com distribuição grosseira de cromatina e nucléolo proeminente e eosinofílico. O grau 2 nuclear apresenta características intermediárias entre o grau 1 e grau 3. A FIGO recomenda que os tumores sejam graduados primeiramente conforme critério arquitetural, sendo modificados pelo critério nuclear quando houver discordância. Por exemplo, tumores G1 e G2 crescem para um grau acima em caso de atipias nucleares significativas [9,46]. No entanto, essa discordância não é comum nos carcinomas endometrioides.

Ainda, é importante ressaltar que o diagnóstico diferencial do carcinoma endometriode de baixo grau inclui hiperplasia atípica, adenomioma polipóide atípico, metaplasias e reação de Árias-Stella. Outra dificuldade pode ser a diferenciação entre o carcinoma endometriode de endométrio e o de ovário, na medida em que, muitas vezes, é impossível determinar o sítio primário e a metástase, ou a coexistência de dois tumores primários. O carcinoma

endometrióide de alto grau pode ser de difícil diferenciação com os tumores müllerianos mistos.

O carcinoma viloglandular é uma variante do carcinoma endometrióide, já que revela uma arquitetura papilar e comporta-se como os tumores endometrióides de baixo grau. Microscopicamente é caracterizado por um vilão delicado coberto por células colunares com núcleos que apresentam de leve a moderada atipia. O principal diagnóstico diferencial é com o carcinoma seroso, devido ao padrão papilar de ambos tumores.

O carcinoma secretor também é uma variante do carcinoma endometrióide, em que a maioria das células exibe vacúolos citoplasmáticos sub ou supranucleares, assemelhando-se ao endométrio secretor de segunda fase. Esse padrão pode ser difuso ou focal e frequentemente se encontra adjacente ao adenocarcinoma endometrióide. Ademais, representa 1 a 2% dos carcinomas endometriais e comporta-se similarmente aos endometrióides de baixo grau, proporcionando um prognóstico muito favorável.

. Desse modo, o mais importante diagnóstico diferencial é com o carcinoma de células claras. Ambos apresentam células com citoplasma rico em glicogênio, no entanto as características histológicas são distintas: enquanto o carcinoma secretor apresenta células colunares, o de células claras exibe arquitetura tubulocística ou papilar.

Os adenocarcinomas endometrióides podem conter epitélio escamoso em quantidade muito variável. Para ser considerado adenocarcinoma com diferenciação escamosa, a extensão desse componente deve ser de pelo menos 10%. Além disso, são divididos, principalmente pelo grau de

diferenciação tumoral, em adenocantomas, com elemento escamoso benigno e prognóstico favorável, e carcinoma adenoescamoso, com comportamento mais agressivo e prognóstico desfavorável. Nos tumores de baixo grau, o componente glandular predomina, e o epitélio escamoso está confinado ao lúmen das glândulas. Já nos tumores de alto grau, o epitélio escamoso é atípico e se estende para fora das glândulas. Desse modo, o principal diagnóstico diferencial desses tumores de baixo grau é a hiperplasia atípica, ou metaplasia escamosa. No entanto, eles também podem ser confundidos com carcinomas de alto grau devido ao componente sólido representado pela proliferação do epitélio escamoso. Para os tumores de alto grau, o diagnóstico diferencial principal é com os adenocarcinomas escamosos de endocérvice, sendo que o componente glandular predomina no tipo endometrial, enquanto o componente escamoso é mais extenso no tipo endocervical. Por isso, o comportamento e o tratamento são similares aos carcinomas endometrioides de mesmo estágio.

6.2 Adenocarcinomas Não Endometrioides

Dentre os carcinomas não endometrioides, destacam-se: carcinoma mucinoso, seroso, de células claras e indiferenciado.

O primeiro representa até 9% dos carcinomas endometriais e assemelha-se ao carcinoma mucinoso da endocérvice. Para qualificá-lo, mais da metade das células tumorais devem apresentar coloração de Ácido Periódico Schiff (PAS) positiva, que significa presença de mucina intracitoplasmática, a qual pode estar difusa no citoplasma, confinada a alguma área ou apresentar uma combinação dos dois padrões. Costuma ser de

configuração viloglandular o padrão arquitetural, no qual as glândulas apresentam-se dilatadas e preenchidas com mucina. Ademais, as células epiteliais exibem mínima estratificação, e áreas cribriformes não são comuns. Atipias nucleares também são leves ou moderadas, e a atividade mitótica não é proeminente.

Além disso, no segmento uterino inferior, o epitélio endocervical mistura-se com o glandular: isso significa que essa diferenciação pode ser complicada. A diferença do carcinoma mucinoso para o de células claras e para o secretor se estabelece através da morfologia e da coloração de PAS. Nos secretores, as células são claras devido à presença de glicogênio e a mucina se apresenta focalmente. Os carcinomas de células claras, por sua vez, manifestam-se quase sempre como massas sólidas, em contraste com o padrão glandular do carcinoma mucinoso. A maioria dos tumores mucinosos comporta-se como tumores endometrioides de baixo grau, minimamente invasivos e tem excelente prognóstico.

O segundo representa de 3 a 10% dos carcinomas endometriais e caracteriza-se por afetar pacientes mais idosas e menos obesas. Neste caso, grande proporção das pacientes são negras [47]. Em relação aos achados macroscópicos, os serosos são tumores exofíticos, de aparência papilar, frequentemente associados a pólipos. Microscopicamente, o padrão papilar é típico, assim o que o diferencia dos demais tumores endometriais com padrões papilares, como os carcinomas viloglandulares, é a acentuada atipia nuclear. Esses tumores caracterizam-se por uma discordância entre o grau arquitetural (normalmente bem diferenciado) e a morfologia nuclear, geralmente de alto grau, e a atividade mitótica é alta.

Além disso, o endométrio adjacente às lesões apresenta-se normalmente atrófico; em até 90% dos casos, é composto por camadas de células atípicas que se estendem para glândulas normais, sem invasão estromal, e determinam o chamado carcinoma intraepitelial seroso de endométrio. Nesse caso, o diagnóstico diferencial com carcinomas endometrioides de alto grau pode ser realizado através da IMH, já que muitos estudos têm demonstrado uma positividade forte para o marcador da p53 nos carcinomas serosos, o que se correlaciona com a presença de mutações do TP53. Esses tumores também não exibem normalmente receptores de estrógeno e progesterona, mas são caracterizados por altos índices de proliferação, mensurados pela expressão do ki-67. Devido a suas características mais agressivas, estes tumores exibem uma propensão maior à invasão miometrial e linfática e tendem a ser diagnosticados em estádios mais avançados, por isso são considerados de pior prognóstico.

O terceiro tem uma prevalência em torno de 1 a 6% entre todos os carcinomas endometriais e não está associado à obesidade e ao diabetes, nem à terapia de reposição hormonal [47]. Pode apresentar-se através de padrões sólido, papilar, tubular ou cístico. O citoplasma claro resulta da presença de glicogênio, demonstrada pela coloração de PAS positiva. Quase sempre exhibe núcleos pleomórficos e alargados, que caracterizam sua marcada atipia. Dessa forma, o diagnóstico diferencial inclui o carcinoma secretor, seroso e o tumor do seio endodérmico. Assim, diferencia-se do seroso de endométrio essencialmente pelo padrão arquitetural, já que esse não apresenta padrão tubulocístico ou sólido. No entanto, ambos tumores têm um alto grau nuclear. O tumor do seio endodérmico apresenta-se contrastadamente em mulheres mais

jóvens e tem como característica não só a presença de corpos de Schiller-Duval, bem como elevados níveis séricos de alfafetoproteína, a qual pode também ser identificada nos tumores através da IMH. Seu comportamento é semelhante ao dos tumores serosos de endométrio, pois tendem a ser de alto grau, com invasão profunda do miométrio, invasão linfovascular e diagnóstico em estágio avançado [48].

Já os últimos são definidos pela *World Health Organization* (WHO) como uma entidade de tumores endometriais que não apresentam uma evidência de diferenciação, mas comportam-se como tumores endometrioides G3. Microscopicamente são definidos como uma proliferação monótona de células, sem definição de um padrão arquitetural clássico. Nesse caso, são tumores altamente agressivos, já que aproximadamente metade das pacientes possuem doença extrauterina no momento da cirurgia. Estudos têm associado a presença deles a alguma anormalidade genética, tal qual acontece com pacientes com Síndrome de Lynch [45].

7. Sistema de Estadiamento na Neoplasia Endometrial

De acordo com a recomendação da FIGO, a neoplasia endometrial deve ser tratada e estadiada cirurgicamente. Isso significa que o real conhecimento da extensão da doença, do risco de recorrência e o prognóstico só são possíveis após intervenção cirúrgica [49]

O sistema de estadiamento, atualizado pela FIGO em 2009, inclui o conhecimento da invasão miometrial e cervical, a avaliação dos anexos uterinos (ovários e trompas) e dos linfonodos retroperitoneais e a citologia

peritoneal. Para tanto, é recomendada e bem estabelecida a realização da histerectomia total com salpingo-ooforectomia bilateral. Alguns autores defendem a realização rotineira da omentectomia por ser este comprometimento um marcador de mau prognóstico [50]. No entanto, parece apenas haver benefício neste procedimento em pacientes com carcinomas de subtipos histológicos mais agressivos, que revelam disseminação peritoneal precoce, como o carcinoma papilar seroso e o de células claras do endométrio. Nos adenocarcinomas endometrioides, a inspeção e palpação do omento durante a cirurgia parecem ser suficientes para avaliação [51].

Atualmente, a citologia peritoneal não tem valor como achado isolado. No entanto, a sua coleta ainda é recomendada, pois um resultado positivo, associado a fatores como profundidade de invasão, grau tumoral e tipo histológico, pode influenciar adversamente o prognóstico destas pacientes [52]

Em relação à linfadenectomia retroperitoneal, o seu principal papel é determinar a necessidade de terapia adjuvante. Entretanto, a sua realização sistemática e obrigatória é muito debatida, pois questões como a extensão da linfadenectomia (incluindo um número mínimo de linfonodos a serem removidos), os sítios a serem dissecados e o quão alto deve-se estender ao longo da aorta são controversas. Ou seja, a extensão desse procedimento pode variar desde a simples palpação com biópsia dos linfonodos aumentados, passando pela amostragem dirigida de determinada cadeia linfática, até a dissecação completa dos linfonodos pélvicos e para-aórticos [53].

Figura 2. Sistema de Estadiamento Cirúrgico da Neoplasia Endometrial.

Estádio I	Tumor limitado ao corpo uterino A - tumor limitado ao endométrio e invasão menor que 50% do miométrio B - invasão igual ou maior que 50% do miométrio
Estádio II	Tumor invade o estroma cervical
Estádio III	Tumor está além dos limites uterinos, porém restrito à pelve A - invasão da serosa e/ou anexos uterinos (metástase ou extensão direta) B – envolvimento da vagina (metástase ou extensão direta) ou envolvimento parametrial* C - metástases para linfonodos pélvicos e/ou para-aórticos* C1- linfonodos pélvicos C2- linfonodos para-aórticos * citologia positiva isoladamente não altera estadiamento
Estádio IV	Tumor invade órgãos vizinhos ou metástases à distância A - invasão de mucosa vesical e/ou mucosa do intestino B - metástases à distância (inclui metástase para linfonodo inguinal, implantes intraperitoniais e/ou omento, ascite, metástase em pulmão, fígado ou óssea)

Fonte: FIGO, 2009.

8. Tratamento da Neoplasia Endometrial

Desde 1988, por recomendação da FIGO, a neoplasia endometrial deve ser tratada e estadiada primariamente através da cirurgia [9]. Como citado previamente, deve-se realizar histerectomia total, salpingooforectomia bilateral, lavado peritoneal, linfadenectomia pélvica e para-aórtica e omentectomia em casos selecionados. Assim, com o conhecimento real da extensão da doença através do estadiamento cirúrgico, algumas pacientes serão consideradas

tratadas, enquanto outras terão indicação de terapia complementar com radioterapia e/ou quimioterapia. A via cirúrgica escolhida pode ser a tradicional laparotômica ou a laparoscópica (esta última é considerada como padrão, devido aos benefícios pós-operatórios) [54].

Embora se saiba que as cadeias linfáticas regionais são os sítios mais frequentes de disseminação da doença extrauterina, há uma grande diversidade na prática da linfadenectomia retroperitoneal nas pacientes portadoras de neoplasia endometrial. Soliman e cols. [55] relataram que 66% dos ginecologistas oncológicos realizam linfadenectomia em tumores G2 e que 90%, em tumores G3. Todavia, somente 35% executam linfadenectomia pélvica e para-aórtica em tumores G1. Já no protocolo institucional da *Mayo Clinic*, Mariani e cols. [4] estabeleceram a não-realização da linfadenectomia em tumores de qualquer grau restritos ao endométrio ou em tumores G1 e G2 com invasão de menos de 50% do miométrio. Isso pode ser justificado pelo fato de o procedimento apresentar morbidade significativa, especialmente para pacientes com o perfil clínico das portadoras de neoplasia endometrial, além de elevar o tempo cirúrgico.

Uma vez que os linfonodos estejam comprometidos, o estadiamento cirúrgico caracteriza-se como IIIC, definindo um importante valor prognóstico e estabelecendo risco de recorrência e necessidade de terapia adjuvante [10]. Questiona-se, entretanto, o papel terapêutico da linfadenectomia, especialmente em pacientes com baixo risco de disseminação linfática. Um estudo multicêntrico italiano [56] avaliou 514 pacientes em estágio I pré-operatório e concluiu que, apesar de a linfadenectomia pélvica permitir um melhor estadiamento das pacientes, o procedimento não aumentou o tempo

livre de doença ou a sobrevida global das pacientes. Da mesma forma, um ensaio clínico randomizado publicado em 2009 intitulado *MRC ASTEC trial* [57], que avaliou 1400 pacientes com neoplasia de endométrio estágio I, também não encontrou benefício na realização da linfadenectomia total para pacientes com doença restrita ao útero, tanto no tempo livre de doença, quanto na sobrevida total. Ainda, é importante ressaltar complicações maiores no grupo que realizou linfadenectomia, como necessidade de drenagem de linfocele e aparecimento de linfedema de membros inferiores. Dessa maneira, a identificação de pacientes com maior risco de exporem disseminação linfática é de extrema importância para definir a abordagem cirúrgica, beneficiando com estadiamento completo aquelas de maior risco e poupando da linfadenectomia as pacientes com doença aparentemente restrita ao útero [10].

Em relação ao tratamento adjuvante, enquanto a quimioterapia sistêmica é reservada para pacientes em estádios III e IV, a radioterapia é amplamente empregada. A utilização de tratamento complementar é baseada no risco de recorrência, estimado pelo estadiamento cirúrgico. Segundo estudo GOG 33, as pacientes com risco baixo de recorrência não se beneficiam de tratamento adjuvante algum, as com risco intermediário de recorrência beneficiam-se de radioterapia com ou sem braquiterapia, e as com risco alto de recorrência, sendo aquelas nos estádios III ou IV, beneficiam-se de tratamento adjuvante com radioterapia e quimioterapia [10].

9. Alterações Genéticas na Neoplasia Endometrial

Células cancerosas diferem de células normais em características que incluem perda de diferenciação, aumento de potencial invasor e diminuição de sensibilidade a drogas [58]. Essas diferenças se apresentam através de múltiplas alterações genéticas, as quais são essenciais no processo de tumorigênese [59]. Em 1976, Peter Nowell sugeriu que as células do câncer possuíam mutações que resultariam em instabilidade genética e, conseqüentemente, aceleração do processo de desenvolvimento celular [60]. Mais tarde, trabalhos corroboraram essa ideia, e alterações cariotípicas (ganho ou perda de cromossomos) e de ploidia das células foram consideradas comuns no câncer [61]. No entanto, existe outra categoria de genes que, quando mutada, também aumenta a instabilidade genética e acelera a progressão celular: é a composta por genes de pontos de checagem do ciclo celular.

O processo no qual as células duplicam os seus componentes e se dividem caracteriza o ciclo celular, com transições de extrema complexidade e que requerem a coordenação de uma ampla variedade de movimentos e sínteses moleculares. Dessa forma, a passagem das células de um estágio ao outro do ciclo é realizada através da ativação de complexos conhecidos como ciclinas e quinases dependentes de ciclinas (CDK) [62]. Ademais, o controle negativo do ciclo celular é efetuado através dos genes de pontos de checagem. Assim, esses genes, diante de danos ou mutações no genoma, sejam ocasionadas por fatores externos como drogas e radiações, sejam por falhas intrínsecas no mecanismo mitótico, determinam a parada do ciclo celular através da produção de proteínas inibidoras do complexo CDK, até que o reparo no genoma seja concluído [63]. Portanto, defeitos nesses mecanismos

de pontos de checagem, responsáveis pela integridade do genoma, podem levar à replicação de células aberrantes, favorecendo a tumorigênese [58].

9.1 O Papel da p53 na Neoplasia Endometrial

O TP53 é um dos mais importantes genes controladores de pontos de checagem. Por essa razão, é considerado um gene de supressão tumoral. Localiza-se no braço curto do cromossoma 17 e codifica uma fosfoproteína nuclear de 53 kilodaltons (kda), a p53. Diante de falhas existentes no DNA da célula prestes a se dividir, a p53 promove a parada do ciclo celular na fase G1, bloqueando a entrada na fase S. A partir desse momento, pode haver reparo na lesão do DNA ou, diante de situações de dano grave ao genoma, indução da morte programada da célula (MPC) ou apoptose [64].

O TP53 encontra-se mutado em aproximadamente 50% das neoplasias humanas [64], sendo que tumores incluindo cólon, pulmão, mama e ovário já foram minuciosamente avaliados [61]. Já foi observado que alterações do tipo *missense* são as mais comuns, caracterizadas pela substituição de um aminoácido por outro [65]. Essas mutações levam à perda funcional da proteína, inativando o efeito regulador negativo do TP53 sobre o ciclo celular, conferindo aumento da atividade proliferativa e progressão tumoral [66]. A p53 selvagem tem uma meia vida de 5 a 45 minutos, sendo expressa em níveis muito baixos na maioria dos tecidos normais e, por conseguinte, não identificáveis através da IMH [65]. No entanto, mutações do tipo *missense* no TP53 resultam em uma proteína com meia vida de 4 a 8h, o que permite seu acúmulo no núcleo de células afetadas e, conseqüentemente, a detecção através da avaliação IMH [19]. Já as mutações do tipo *nonsense/frameshift*, as

quais geram um fragmento de polipeptídeo não funcional, produzem proteínas instáveis; por isso, apresentam níveis do marcador da p53 indetectáveis. Essa categoria constitui menos de 20% das mutações do TP53 descritas em tumores humanos [61]. Ainda, identificam-se tumores que são p53 positivos à leitura IMH, mas não exibem mutações gênicas, sendo a estabilidade da p53 relacionada a ligações com proteínas celulares [15]. Dessa maneira, não se pode afirmar claramente nem que o acúmulo da p53 relaciona-se sempre a mutações gênicas, nem que a ausência dessa expressão exclua mutações no TP53.

Para a identificação da p53 e detecção de mutações no TP53, é possível utilizar o método de amplificação do DNA pela reação em cadeia de polimerase (PCR) [64]. No entanto, a IMH, técnica de fácil execução e baixo custo, é a mais utilizada. Com ela, aproveita-se o material biológico conservado em parafina. A imunopositividade para a p53 ocorre no núcleo das células afetadas, que se coram de marrom. Assim, a leitura pode ser realizada de forma semiquantitativa ou por meio do uso de aparelhos para análise digital de imagens [67–69]. Ademais, critérios de positividade descritos na literatura variam de 5% a valores superiores a 50% [20,66,70]. Outros estudos ainda levam em consideração, além da frequência de reação, a intensidade da reação nuclear (fraca, moderada ou forte) [18,71,72]. Alkushi e cols. [70] consideram a positividade baseada em mais de 50% das células tumorais coradas como de maior poder discriminatório e relevância clínica, possibilitando separar os tumores endometriais de bom e mau prognóstico.

Em estudo de 61 casos, Kounelis e cols. [15] avaliaram diferenças na expressão IMH de marcadores moleculares entre carcinomas endometrioides e

carcinomas serosos de endométrio. Houve diferença significativa na expressão da p53 entre os dois tipos de tumores. Enquanto 76,2% dos carcinomas serosos apresentaram imunopositividade para a p53, apenas 35% dos adenocarcinomas endometrióides obtiveram o mesmo resultado. Além disso, a expressão da p53 associou-se com diferença significativa a tumores de maior grau tumoral e estádios mais avançados de doença. Esses achados confirmaram os de Kohler e cols. [73], que encontraram 80% de positividade da p53 para carcinomas serosos de endométrio e apenas 20% para carcinomas endometrioides. Em outro espectro, Lomo e cols. [74], em estudo analisando parâmetros que influenciam a acurácia e reprodutibilidade da classificação de tumores endometriais tipo I (adenocarcinomas endometrióides) e tumores tipo II (carcinomas serosos), sugerem o uso da avaliação IMH da p53 para os casos discordantes. Tal proposta foi utilizada na avaliação de 358 biópsias de adenocarcinoma de endométrio, em que Wei e cols. [75] realizaram painel imuno-histoquímico em 41 casos com diagnóstico histológico discordantes (tipo I e tipo II). Nesse estudo, a imunopositividade para p53 exibiu sensibilidade de 55% e especificidade de 95% no diagnóstico de carcinoma seroso de endométrio. Assim, concluiu-se que uma combinação de marcadores imuno-histoquímicos é necessária para a correta diferenciação entre os dois tipos de tumores.

Em relação à utilidade como fator prognóstico no carcinoma endometrial, a expressão IMH da p53 na peça uterina tem sido estudada há pelo menos duas décadas. Lee e cols. [76], em estudo com 131 pacientes, observaram correlações estatísticas significativas entre alterações na p53 e tipo histológico não endometriode, tumores de alto grau e ausência de receptores de

progesterona. Além disso, esse estudo mostrou que alterações na p53 predizem uma sobrevida menor para pacientes com neoplasia endometrial. Por sua vez, Geisler e cols. [19] correlacionaram a expressão IMH da p53 com fatores prognósticos em 46 pacientes. Em seu estudo, verificou-se que alterações da p53 eram mais frequentes em subtipos histológicos mais agressivos, tumores mais indiferenciados e estádios mais avançados. No entanto, não houve diferença significativa em relação à profundidade de invasão miometrial do tumor. Da mesma forma, Appel e cols. [16] demonstraram relação significativa da expressão da p53 com tumores indiferenciados, não endometrioides e com extensão linfonodal.

Já Hamel e cols [68], em estudo com 221 pacientes, além dos fatores de mau prognóstico já citados, observaram não só correlação com invasão miometrial profunda, bem como prejuízo na sobrevida livre de doença para pacientes com imunopositividade para p53. Tal estudo pode ser complementado por Stănescu e cols. [77] os quais em 2014 avaliaram parâmetros clínicos e patológicos e marcadores imuno-histoquímicos em 79 pacientes com neoplasia de endométrio e demonstraram correlação entre a expressão da p53 e alterações histológicas como tumores indiferenciados, padrão de crescimento sólido, atipias e alto grau nuclear.

Dessa maneira, apesar de alguns estudos, através de análises multivariadas, não confirmarem a imunopositividade para p53 como fator prognóstico no carcinoma de endométrio [78,79], outros inúmeros trabalhos demonstraram um importante papel da expressão IMH da p53 como fator de mau prognóstico para essas pacientes. No entanto, poucos estudos avaliam a imunopositividade da p53 no fragmento endometrial diagnóstico e a sua

concordância com a peça uterina. Essa análise, em tempo pré-operatório, pode ajudar a avaliar fatores prognósticos adversos, bem como chance de disseminação linfonodal; assim, podem-se selecionar pacientes candidatas a uma cirurgia mais radical.

Silverman e cols. [14], em estudo publicado em 2000, avaliaram se a análise molecular e citocinética das amostras de 130 curetagens poderiam ser usadas como mecanismo de triagem de pacientes com neoplasia endometrial antes de serem submetidas ao tratamento cirúrgico definitivo. O percentual de células em fase S, que pode ser utilizado como índice de proliferação tumoral, e a expressão IMH da p53, foram considerados os fatores de risco biomoleculares mais importantes antes do tratamento. Quando observados simultaneamente, os dois fatores apresentaram alto risco de recorrência e morte pela doença, com significância estatística.

Tais dados foram corroborados pelo trabalho de Oreskovic e cols. [18], que estudaram o comportamento molecular do carcinoma de endométrio através da análise IMH da p53, do ki-67 e de receptores hormonais em material obtido por curetagem. Nesse caso, houve concordância entre os dados da amostra pré-operatória e da peça cirúrgica. O ponto de corte para imunopositividade da p53 foi considerado 15% e apresentou-se, em análise multivariada, como o único fator independente para sobrevida. Pacientes com tumores G1 tiveram melhor prognóstico quando a expressão da p53 era menor que 15%. Em tumores G2, a sobrevida foi afetada pela expressão de receptores de estrogênio (mais de 30% de positividade) e pela expressão da p53 (menor que 15%). Nenhum dos parâmetros foi significativo na avaliação de tumores G3.

Ainda referente à concordância entre amostra endometrial e peça cirúrgica, Engelsen e cols. [71], avaliaram 236 casos para a expressão da p53 e do p16 em material de curetagem uterina. A expressão da p53 no espécime da curetagem e da peça uterina foram altamente concordantes, com achados discordantes em 14% das amostras e a expressão da p53 foi correlacionada – com diferença estatística – com alto grau tumoral, estádios avançados de doença, tipos histológicos não endometrioides e tumores com alto índice de proliferação. A sobrevida em cinco anos para pacientes com os dois marcadores foi de 13%, comparada com a de 67% para um marcador, e a de 91% quando não houve marcadores positivos.

Já Mariani e cols. [69] realizaram uma análise levando em consideração o comprometimento linfonodal. Em estudo com 283 pacientes, reportaram que não só a positividade para p53 e bcl2, bem como a presença de tipo histológico não endometriode, combinadas ou não, em material de curetagem, poderiam prever esse status em pacientes com neoplasia de endométrio. Ainda nesse estudo, a expressão da p53 foi apresentada como o único fator independente associado ao comprometimento de linfonodos.

Tais achados concordam com estudo prospectivo de Fayallah e cols. [20], no qual avaliaram a expressão da p53 em tempo pré-operatório em 38 pacientes com neoplasia de endométrio em estágio clínico I. As pacientes foram randomizadas em dois grupos de tratamento: histerectomia e histerectomia com linfadenectomia pélvica. A expressão da p53 foi reportada em 47% dos casos, sendo correlacionada com aumento de grau tumoral e subtipos não endometrioides. Não houve correlação estatística significativa em relação à profundidade de invasão miometrial. Em pacientes com positividade

para p53, a linfadenectomia associou-se – com diferença estatística – a um maior intervalo de recorrência de doença (24.07 meses vs. 17.08 meses).

Por outro lado, alguns estudos levaram em consideração a avaliação de outros marcadores moleculares, por exemplo, Obeidat e cols. [21] analisaram a expressão de p53, Her-2, ki-67 e receptores de progesterona e estrogênio em amostras de endométrio de 62 pacientes. A expressão da p53 associou-se a tumores não endometrioides e G3, mas não houve diferença significativa em relação ao estadiamento cirúrgico e à profundidade de invasão miometrial. Concluíram que a utilização de marcadores biomoleculares na amostra endometrial pode ser útil para definição de tratamento cirúrgico, quando associada a outros fatores prognósticos já reconhecidos.

Por fim, em estudo publicado em 2014, Stelloo e cols. [80] analisaram alterações moleculares presentes na amostra de curetagem uterina e na sua correspondência com a peça uterina. Foram avaliados 48 casos (42 carcinomas endometrioides e 6 carcinomas não endometrioides), sendo a IMH analisada para a p53, beta-catenina e PTEN. As taxas de concordância obtidas variaram de 88 a 100%. A perda da expressão de PTEN e a beta-catenina exibiram taxas de concordância de 89.6% e 95.8% respectivamente. A expressão da p53 apresentou concordância de 97.9%, com apenas um caso discordante entre amostra endometrial e peça cirúrgica. Esse mesmo estudo apresentou concordância de 93,8% para o tipo histológico e 66,7% para o grau tumoral, sendo a acurácia maior para tumores G2 e G3 em comparação a tumores G1. Assim, os resultados desse estudo afirmam que é possível utilizar o perfil biomolecular da amostra endometrial para estabelecer fatores

prognósticos em tempo pré-operatório para, dessa forma, individualizar estratégias de tratamento.

JUSTIFICATIVA

De uma forma geral, o estudo da biologia molecular das neoplasias permite identificar características tumorais importantes, as quais se destacam no processo de investigação diagnóstica e no desenvolvimento de abordagens terapêuticas. Neste contexto, o TP53 apresenta-se como um importante gene de supressão tumoral, encontrando-se mutado em diversas neoplasias humanas. Essas alterações podem ser identificadas através da avaliação IMH da p53.

Nas neoplasias endometriais, diversos estudos indicam que a positividade IMH da p53 na peça cirúrgica relaciona-se a fatores de mau prognóstico: alto grau tumoral, histologia não endometriode, invasão miometrial profunda e extensão linfática. Ainda, alguns estudos confirmam uma menor sobrevida geral e menor sobrevida livre de doença em pacientes com carcinoma endometrial com positividade para p53.

Dessa maneira, a avaliação IMH da p53 na amostra endometrial possibilita, em tempo pré-operatório, a identificação de prognóstico desfavorável em pacientes que, devido a isso, seriam candidatas a tratamento cirúrgico mais radical, visto que, para pacientes que apresentam um perfil tumoral de bom prognóstico, a linfadenectomia retroperitoneal é dispensável. Assim, trabalhos sobre a concordância da leitura IMH entre amostra endometrial e peça cirúrgica definitiva precisam ser desenvolvidos, a fim de que possamos utilizar, com segurança, a positividade do p53 como um marcador tumoral pré-operatório para avaliação prognóstica e definição de tratamento cirúrgico nas pacientes com neoplasia endometrial.

HIPÓTESES

Hipótese Nula

A expressão IMH da p53, avaliada no fragmento histológico da biópsia pré-operatória, é diferente da expressão IMH da mesma proteína na peça cirúrgica final.

Hipótese Alternativa

A expressão IMH da p53, avaliada no fragmento histológico da biópsia diagnóstica pré-operatória, é concordante com a expressão IMH da mesma proteína na peça cirúrgica final.

OBJETIVOS

Principal

Avaliar o índice de concordância entre a expressão e a intensidade de expressão IMH da p53 na amostra endometrial diagnóstica e na peça cirúrgica uterina em pacientes com carcinoma de endométrio.

Secundários

- Verificar o percentual de expressão e a intensidade da expressão IMH da p53 na biópsia endometrial.
- Verificar o percentual de expressão e a intensidade da expressão IMH da p53 na peça cirúrgica uterina.
- Associar o tipo histológico na peça uterina com o percentual de expressão e a intensidade da expressão IMH da p53.
- Identificar qual tipo histológico apresenta maior concordância do percentual de expressão e intensidade de expressão IMH da p53 entre a biópsia e a peça cirúrgica.
- Associar o estadiamento na peça uterina com o percentual de expressão e a intensidade da expressão IMH da p53.
- Associar o grau tumoral na peça uterina com o percentual de expressão e intensidade da expressão IMH da p53.
- Identificar qual grau tumoral apresenta maior concordância do percentual de expressão e intensidade de expressão IMH da p53 entre a biópsia e a peça cirúrgica
- Avaliar a concordância interobservador do percentual de expressão e intensidade de expressão IMH da p53 na biópsia endometrial e na peça cirúrgica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2016 [Internet]. [cited 20 Jul 2017]. Available: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/sintese-de-resultados-comentarios.asp>
2. Key statistics for endometrial cancer? [Internet]. [cited 18 Oct 2016]. Available: <http://www.cancer.org/cancer/endometrialcancer/detailedguide/endometrial-uterine-cancer-key-statistics>
3. Catelan MF, Nisida A, Almeida Junior O. Câncer de endométrio: epidemiologia, tratamento e sobrevida. ginecol obstet. bases.bireme.br; 1998; Available: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=225816&indexSearch=ID>
4. Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, Gostout BS, Jones MB, Wilson TO, et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol.* 2008;109: 11–18.
5. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 1991;40: 55–65.
6. Van den Bosch T, Coosemans A, Morina M, Timmerman D, Amant F. Screening for uterine tumours. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26: 257–266.
7. Pessini AS, Zettler CG, Wender MCO, Pellanda LC, Silveira GPG. Survival and prognostic factors of patients treated for stage III endometrial carcinoma in a reference cancer center in southern Brazil. *Eur J Gynecol Oncol.* 2007;28: 48-50.
8. Lee DO, Jung MH, Kim HY. Prospective comparison of biopsy results from curettage and hysteroscopy in postmenopausal uterine bleeding. *J Obstet*

Gynaecol Res. 2011;37: 1423–1426.

9. Amant F, Mirza MR, Koskas M, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri. FIGO Cancer Report 2015. *Int J Gynecol Obstet* 2015;131: S96-S104.
10. Creutzberg CL. GOG-99: ending the controversy regarding pelvic radiotherapy for endometrial carcinoma? *Gynecol Oncol*. 2004;92: 740-743.
11. Geisinger KR, Homesley HD, Morgan TM, Kute TE, Marshall RB. Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer*. 1986;58: 1518–1525.
12. Creasman WT, Rutledge F. The prognostic value of peritoneal cytology in gynecologic malignant disease. *Am J Obstet Gynecol*. 1971;110: 773–781.
13. Hanson MB, van Nagell JR Jr, Powell DE, Donaldson ES, Gallion H, Merhige M, et al. The prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer*. 1985;55: 1753–1757.
14. Silverman MB, Roche PC, Kho RM, Keeney GL, Li H, Podratz KC. Molecular and cytogenetic pretreatment risk assessment in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2000;77: 1–7.
15. Kounelis S, Kapranos N, Kouri E, Coppola D, Papadaki H, Jones MW. Immunohistochemical profile of endometrial adenocarcinoma: a study of 61 cases and review of the literature. *Mod Pathol*. 2000;13: 379–388.
16. Appel MLM, Edelweiss MI, Fleck J, Rivero LF, Rivoire WA, Mônego HI, et al. P53 and BCL-2 as prognostic markers in endometrial carcinoma. *Pathol Oncol Res*. 2008;14: 23–30.
17. Kohler MF, Berchuck A, Davidoff AM, Humphrey PA, Dodge RK, Iglehart JD, et al. Overexpression and mutation of p53 in endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 1992;52: 1622–1627.
18. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, Barisic D, Beketic-Oreskovic L. A

- significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation factor Ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2004;93: 34–40.
19. Geisler JP, Wiemann MC, Zhou Z, Miller GA, Geisler HE. p53 as a prognostic indicator in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1996;61: 245–248.
 20. Fayallah EA, Hemida RA, Gamal AM, Elhady EA, Anwar KI, Nada NA, et al. Pretreatment study of P53 overexpression for selection of candidates for pelvic lymphadenectomy in clinical stage I endometrial carcinoma: a randomized-controlled study. *Arch Gynecol Obstet.* Springer; 2011;283: 617–622.
 21. Obeidat BR, Matalka II, Mohtaseb AA, Al-Kaisi NS. Selected immunohistochemical markers in curettage specimens and their correlation with final pathologic findings in endometrial cancer patients. *Pathol Oncol Res.* 2013;19: 229–235.
 22. Mitchard J, Hirschowitz L. Concordance of FIGO grade of endometrial adenocarcinomas in biopsy and hysterectomy specimens. *Histopathology.* 2003;42: 372–378.
 23. Lampe B, Kürzl R, Hantschmann P. Reliability of tumor typing of endometrial carcinoma in pre hysterectomy curettage. *Int J Gynecol Pathol.* 1995;14: 2–6.
 24. Kitchener HC, Trimble EL, Endometrial Cancer Working Group of the Gynecologic Cancer Intergroup. Endometrial cancer state of the science meeting. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19: 134–140.
 25. Appel M, Garcia TS, Kliemann LM, Magno VA, Monego HI, Wender MCO. Adenocarcinoma de endométrio: epidemiologia, tratamento e sobrevida de pacientes atendidas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *Clinical and biomedical research Porto Alegre Vol 35, n 1,(2015), p 27-34.* 2015; Available: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/158763>

26. Garcia M, Carvalho M, Garcia MM. Análise dos fatores de risco em pacientes com adenocarcinoma endometrial. *Reprod clim. bases.bireme.br*; 1998; Available: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=229466&indexSearch=ID>
27. Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med*. 1996;335: 640–649.
28. Hobeika JD, Zeferino LC, Pinto-Neto AM. Avaliação endometrial em mulheres na pós-menopausa e em usuárias de terapia de reposição hormonal. *Rev ciênc méd ,(Campinas)*. 2000;9: 12–15.
29. Shapiro S, Kelly JP, Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Rosenshein NB, et al. Risk of localized and widespread endometrial cancer in relation to recent and discontinued use of conjugated estrogens. *N Engl J Med*. 1985;313: 969–972.
30. Cará PR. Incidência das neoplasias endometriais em Caxias do Sul, Brasil, 1995 e 1996 [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1999;
31. Neven P, Vergote I. Tamoxifen, screening and new oestrogen receptor modulators. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2001;15: 365–380.
32. Lindemann K, Vatten LJ, Ellstrøm-Engh M, Eskild A. Body mass, diabetes and smoking, and endometrial cancer risk: a follow-up study. *Br J Cancer*. 2008;98: 1582–1585.
33. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983;15: 10–17.
34. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol*. 2014;15: e268–78.
35. Garg K, Leitao MM Jr, Wynveen CA, Sica GL, Shia J, Shi W, et al. p53 overexpression in morphologically ambiguous endometrial carcinomas correlates with adverse clinical outcomes. *Mod Pathol*. 2010;23: 80–92.
36. Voss MA, Ganesan R, Ludeman L, McCarthy K, Gornall R, Schaller G, et

- al. Should grade 3 endometrioid endometrial carcinoma be considered a type 2 cancer—A clinical and pathological evaluation. *Gynecol Oncol*. 2012;124: 15–20.
37. Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology*. 1998;33: 297–303.
38. Endometrial Cancer Screening Guidelines [Internet]. [cited 20 Jul 2017]. Available: <https://www.cancer.org/health-care-professionals/american-cancer-society-prevention-early-detection-guidelines/endometrial-cancer-screening-guidelines.html>
39. Bitencourt LMP. Câncer de endométrio: mortalidade populacional e sobrevida de uma coorte Hospitalar no Rio de Janeiro, Brasil [Internet]. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. 2011. Available: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=609639&indexSearch=ID>
40. Smith-Bindman R, Kerlikowske K, Feldstein VA, Subak L, Scheidler J, Segal M, et al. Endovaginal ultrasound to exclude endometrial cancer and other endometrial abnormalities. *JAMA*. 1998;280: 1510–1517.
41. Gull B, Karlsson B, Milsom I, Granberg S. Can ultrasound replace dilation and curettage? A longitudinal evaluation of postmenopausal bleeding and transvaginal sonographic measurement of the endometrium as predictors of endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188: 401–408.
42. Timmermans A, Opmeer BC, Khan KS, Bachmann LM, Epstein E, Clark TJ, et al. Endometrial thickness measurement for detecting endometrial cancer in women with postmenopausal bleeding: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010;116: 160–167.
43. Oliveira HC de, Lemgruber I, Costa OT. Tratado de ginecologia: Febrasgo. Tratado de Ginecologia: FEBRASGO. Revinter; 2000.

44. Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology*. 1998;33: 297–303.
45. Kurman RJ. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. Springer Science & Business Media; 2013.
46. Clarke BA, Gilks CB. Endometrial carcinoma: controversies in histopathological assessment of grade and tumour cell type. *J Clin Pathol*. 2010;63: 410–415.
47. Cirisano FD Jr, Robboy SJ, Dodge RK, Bentley RC, Krigman HR, Synan IS, et al. Epidemiologic and surgicopathologic findings of papillary serous and clear cell endometrial cancers when compared to endometrioid carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1999;74: 385–394.
48. Sakuragi N, Hareyama H, Todo Y, Yamada H, Yamamoto R, Fujino T, et al. Prognostic significance of serous and clear cell adenocarcinoma in surgically staged endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79: 311–316.
49. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014;125: 97–98.
50. Valejo FAM, Tiezzi DG. Tratamento do câncer de endométrio. *Femina*. 2009; Available: <http://saudepublica.bvs.br/pesquisa/resource/pt/lil-545659>
51. Fujiwara H, Saga Y, Takahashi K, Ohwada M, Enomoto A, Konno R, et al. Omental metastases in clinical stage I endometrioid adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2008;18: 165–167.
52. Wethington SL, Barrena Medel NI, Wright JD, Herzog TJ. Prognostic significance and treatment implications of positive peritoneal cytology in endometrial adenocarcinoma: Unraveling a mystery. *Gynecol Oncol*. 2009;115: 18–25.
53. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martin A,

- Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. *Int J Gynecol Cancer* 2016;26(1): 2-30.
54. Walker JL, Piedmonte MR, Spirtos NM, Eisenkop SM, Schlaerth JB, Mannel RS, et al. Laparoscopy compared with laparotomy for comprehensive surgical staging of uterine cancer: Gynecologic Oncology Group Study LAP2. *J Clin Oncol*. 2009;27: 5331–5336.
 55. Soliman PT, Frumovitz M, Spannuth W, Greer MJ, Sharma S, Schmeler KM, et al. Lymphadenectomy during endometrial cancer staging: practice patterns among gynecologic oncologists. *Gynecol Oncol*. 2010;119: 291–294.
 56. Benedetti Panici P, Basile S, Maneschi F, Alberto Lissoni A, Signorelli M, Scambia G, et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100: 1707–1716.
 57. ASTEC study group, Kitchener H, Swart AMC, Qian Q, Amos C, Parmar MKB. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet*. 2009;373: 125–136.
 58. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science*. 1994;266: 1821–1828.
 59. El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*. 1993;75: 817–825.
 60. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*. 1976;194: 23–28.
 61. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. 1991. p53 mutations in human cancers. *Science*.
 62. Nurse P. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. *Nature*. 1990;344: 503–508.

63. Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*. 1989;246: 629–634.
64. Rossi BM, Pinho M. *Genética e biologia molecular para o cirurgião*. Livraria e Editora Marina; 1999.
65. Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*. 1993;329: 1318–1327.
66. Ito K, Watanabe K, Nasim S, Sasano H, Sato S, Yajima A, et al. Prognostic significance of p53 overexpression in endometrial cancer. *Cancer Res*. 1994;54: 4667–4670.
67. Geisler JP, Geisler HE, Wiemann MC, Zhou Z, Miller GA, Crabtree W. p53 expression as a prognostic indicator of 5-year survival in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 1999;74: 468–471.
68. Hamel NW, Sebo TJ, Wilson TO, Keeney GL, Roche PC, Suman VJ, et al. Prognostic value of p53 and proliferating cell nuclear antigen expression in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1996;62: 192–198.
69. Mariani A, Sebo TJ, Katzmann JA, Roche PC, Keeney GL, Lesnick TG, et al. Endometrial cancer: can nodal status be predicted with curettage? *Gynecol Oncol*. 2005;96: 594–600.
70. Alkushi A, Lim P, Coldman A, Huntsman D, Miller D, Gilks CB. Interpretation of p53 immunoreactivity in endometrial carcinoma: establishing a clinically relevant cut-off level. *Int J Gynecol Pathol*. 2004;23: 129–137.
71. Engelsen IB, Stefansson I, Akslen LA, Salvesen HB. Pathologic expression of p53 or p16 in preoperative curettage specimens identifies high-risk endometrial carcinomas. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195: 979–986.
72. Kosmas K, Stamoulas M, Marouga A, Kavantzias N, Patsouris E, Athanassiadou P. Expression of p53 in imprint smears of endometrial carcinoma. *Diagn Cytopathol*. 2014;42: 416–422.

73. Kohler MF, Nishii H, Humphrey PA, Sasaki H, Marks J, Bast RC, et al. Mutation of the p53 tumor-suppressor gene is not a feature of endometrial hyperplasias. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169: 690–694.
74. Lomo L, Nucci MR, Lee KR, Lin M-C, Hirsch MS, Crum CP, et al. Histologic and immunohistochemical decision-making in endometrial adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2008;21: 937–942.
75. Wei J-J, Paintal A, Keh P. Histologic and immunohistochemical analyses of endometrial carcinomas: experiences from endometrial biopsies in 358 consultation cases. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137: 1574–1583.
76. Lee E-J, Kim T-J, Kim DS, Choi CH, Lee J-W, Lee J-H, et al. p53 alteration independently predicts poor outcomes in patients with endometrial cancer: a clinicopathologic study of 131 cases and literature review. *Gynecol Oncol.* 2010;116: 533–538.
77. Stănescu AD, Nistor I, Potecă AG, Dițescu D, Comănescu M. Prognostic biomarkers in endometrial adenocarcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2014;55: 1339–1344.
78. Athanassiadou P, Athanassiades P, Grapsa D, Gonidi M, Athanassiadou AM, Stamatou PN, et al. The prognostic value of PTEN, p53, and beta-catenin in endometrial carcinoma: a prospective immunocytochemical study. *Int J Gynecol Cancer. Wiley Online Library;* 2007;17: 697–704.
79. Lukes AS, Kohler MF, Pieper CF, Kerns BJ, Bentley R, Rodriguez GC, et al. Multivariable analysis of DNA ploidy, p53, and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer.* 1994;73: 2380–2385.
80. Stelloo E, Nout RA, Naves LCLM, Ter Haar NT, Creutzberg CL, Smit VTHBM, et al. High concordance of molecular tumor alterations between pre-operative curettage and hysterectomy specimens in patients with endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2014;133: 197–204.

ARTIGO EM INGLÊS

Evaluation of the agreement of the immunohistochemical expression of p53 protein between preoperative endometrial samples and uterine specimens in patients with endometrial carcinoma

Razyane Audibert Silveira¹

Marcia Appel²

Raquel Rivero³

Lucia Kliemann⁴

1 – Postgraduate Program in Medical Sciences: Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

2 – Professor, Department of Gynecology and Obstetrics and Postgraduate Program in Medical Sciences, UFRGS

3 – Professor, Department of Pathology, UFRGS

4 – Professor, Department of Pathology and Postgraduate Program in Medical Sciences, UFRGS

Evaluation of the agreement of the immunohistochemical expression of p53 protein between preoperative endometrial samples and uterine specimens in patients with endometrial carcinoma

Objective: To evaluate the agreement of the immunohistochemical (IMH) expression of the p53 protein (p53) in preoperative endometrial tissues and in surgical specimens obtained during hysterectomy, to determine the association of this agreement with factors such as histological type, tumor grade and stage and to evaluate interobserver agreement for the expression and intensity of p53 between the diagnostic biopsy and the surgical specimen.

Methods: Retrospective cross-sectional study. Patients with endometrial carcinoma who submitted to endometrial biopsy and primary surgical treatment at the HCPA Genital Oncology Unit were included. The slides were assessed by two pathologists. The percentage of p53 expression was evaluated and categorized into one of three groups (<10%, 10-50% and >50%). The intensity was evaluated as weak, medium or strong. The agreement was assessed by the weighted *Kappa* coefficient.

Results: 72 patients with a mean age of 65.5 years were included. The percentage of p53 expression between the biopsy and the surgical specimen presented an agreement rate of 70.8%, with a weighted *Kappa* index of 0.64. The intensity of expression had an agreement rate of 69.4% with a weighted *Kappa* of 0.65. When evaluated according to histological type and tumor grade, the agreement for p53 expression showed weighted *Kappa* indexes of 0.64 and 0.72 in non-endometrioid and G3 carcinomas, respectively ($p < 0.001$). With

respect to the biopsy, the interobserver agreement for the expression and intensity of p53 had weighted *Kappa* indexes of 0.77 and 0.75, respectively. With respect to the surgical specimen, the weighted *Kappa* indexes were 0.85 and 0.88 for expression and intensity, respectively.

Conclusions: This study found good agreement rates for the expression and intensity of p53 IMH expression between the endometrial biopsy specimen and the surgical specimen, which may be useful in a preoperative setting for the selection of patients who are candidates for more extensive surgery, especially when anatomopathological biopsy data are insufficient for such a decision.

Key words: endometrial carcinoma, p53, immunohistochemistry, biopsy.

Evaluation of the agreement of the immunohistochemical expression of p53 protein between preoperative endometrial samples and uterine specimens in patients with endometrial carcinoma

INTRODUCTION

Endometrial carcinoma accounts for approximately 5% of all female malignancies worldwide. The highest incidence rates are found in North America and Europe, while the lowest rates occur in Africa and Asia.¹ In the United States, according to data from the *American Cancer Society (ACS)*, approximately 61,380 new cases are estimated to occur in 2017, and 10,920 women will die as a result of the disease.²

This type of neoplasia develops during the female reproductive years and primarily after menopause. In 90% of cases, the initial symptom is vaginal bleeding.³ These neoplasias are histologically classified as adenocarcinomas. Typical endometrioid adenocarcinoma is the most common, as this type is responsible for more than three-quarters of all cases and has better survival rates.⁴ According to FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics), tumors in this category are also classified according to the level of tumor differentiation, as follows: G1, well differentiated; G2, moderately differentiated; and G3, poorly differentiated. Non-endometrioid adenocarcinomas (e.g., clear cell carcinoma and serous papillary carcinoma) are considered G3. Regarding the molecular profile, while endometrioid tumors, which are normally characterized as type I, feature mutations in the k - RAS, PTEN, beta-catenin and PICK3CA genes, non-endometrioid tumors, which are considered type II, feature mutated HER2 and TP53 genes.⁵ It has been

reported that approximately 75% of patients with endometrial carcinoma present at stage I⁶ with a five-year survival rate of approximately 85%.^{7,8}

The classical prognostic factors that are related to endometrial carcinoma include the histological type, degree of tumor differentiation and depth of myometrial invasion as well as surgical stage.⁹⁻¹¹ However, many have an increasing interest to define the molecular alterations that can, together or independently of the factors already described, more accurately predict the clinical evolution of these patients.

The p53 (TP53) gene, for example, is considered a tumor suppressor gene and is mutated in approximately 21 to 49% of endometrial carcinomas.¹²⁻¹⁴ Data from the literature show that cell positivity for the p53 (p53) protein is associated with worse survival of patients with G1 and G2 tumors. p53 positivity is also directly associated with poor prognosis in patients with tumors that are undifferentiated and that have non-endometrioid histology, deep myometrial invasion and lymphatic extension.¹³⁻¹⁶

Thus, the immunohistochemical (IMH) evaluation of p53 in the endometrial sample and its potential correlation with adverse prognostic factors allows the preoperative selection of patients who are candidates for broader surgical treatment, including retroperitoneal lymphadenectomy,^{17,18} which can be used to treat tumors with an apparent good prognostic profile. However, as studies have indicated indices of disagreement between the diagnostic biopsy sample and the surgical specimen with respect to tumor grade and histological type,^{19,20} the same question is raised in relation to the IMH expression of p53.

The objective of the present study was to evaluate the agreement of the IMH expression of p53 in the endometrial sample and the surgical specimen

obtained during hysterectomy and to determine whether the agreement index can be used as a preoperative tumor marker for the prognostic evaluation and definition of surgical treatment. We also associate p53 expression with the histological type, tumor grade and stage. Furthermore, we analyzed the interobserver agreement for p53 expression and the intensity of expression between the diagnostic biopsy sample and the surgical specimen.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective cross-sectional study was conducted. Initially, all the patients with endometrial carcinoma who underwent endometrial biopsy and primary surgical treatment at the HCPA Genital Oncology Unit from January 2002 to December 2015 were identified from the computerized system of the Pathology Service of the Clinical Hospital of Porto Alegre. Patients whose associated paraffin blocks from the biopsy or surgical specimen were not located within the HCPA Pathology Service and those with insufficient material for IMH evaluation were excluded.

Representative paraffin blocks were selected from the tumor biopsy and the surgical specimen for the preparation of IMH slides. The specimens were fixed in 10% buffered formalin, processed and embedded in paraffin and were then submitted for histological sectioning on a microtome set to a thickness of 3 μm . The sections were placed on previously silanized slides. As part of the IMH technique, the slides were then heated in an oven at 80°C for 30 minutes, deparaffinized in xylol, and rehydrated in ethyl alcohol, distilled water and PBS buffer for 5 minutes each. Antigen retrieval was performed in a water bath at 94°C for 35 minutes in citrate buffer, pH 6.0. Endogenous peroxidase activity

was blocked by incubating the slides in 5% hydrogen peroxide solution in methanol for 20 minutes in the dark. Slides were incubated in powdered 5% skim milk diluted in PBS for 20 minutes to block non-specific protein binding. The sections were then incubated overnight in a refrigerator at 2 to 8°C with a primary antibody against p53 (Santa Cruz, sc-6243, rabbit polyclonal) at a 1:100 dilution. After incubation, a goat anti-rabbit secondary antibody (Millipore, AP 132P) was applied at a 1:200 dilution, followed by incubation for 1 h and 30 minutes at room temperature. Visualization of the reaction was obtained with Liquid Dab (Dako, K3468), which was applied according to the manufacturer's recommendations. After visualization, the slides were counterstained in Harris hematoxylin for 10 seconds and differentiated in 2% ammonia water for 30 seconds. The sections were dehydrated in absolute alcohol and placed in xylol before the sections were mounted with Entellan[®] resin.

The slides were read by two independent pathologists who were blinded to the anatomopathological diagnosis of both the diagnostic biopsy and the surgical specimen. The percentage of p53 expression was evaluated and categorized into one of three groups: <10%, 10-50% and >50%. The expression intensity of p53 was evaluated as either weak, medium or strong according to the experience of the pathologists. The discordant cases were reviewed jointly by both pathologists, who reached a definitive result by common agreement. Data on age, menopausal status, stage, histological type and definitive tumor grade were extracted from the electronic medical records of the patients and were evaluated according to the FIGO classification system.

Statistical analysis was performed using SPSS software version 21.0. Quantitative variables were described by the mean and standard deviation,

while categorical variables were described by absolute and relative frequencies. To compare means, Student's t-test or analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test was applied. For the comparison of proportions, Pearson's chi-square test was used in conjunction with fitted residuals analysis. The concurrence of p53 expression between the biopsy sample and the surgical specimen as well as interobserver agreement were assessed by the weighted *Kappa* coefficient, because the variable was ordinal, together with the 95% confidence interval. According to Altman,²¹ *Kappa* values below 0.20 represent very poor agreement, those between 0.21 - 0.40 represent poor agreement, those between 0.41 - 0.60 represent moderate agreement, those between 0.61 - 0.80 represent good agreement and those above 0.80 represent very good agreement. The level of significance was set at 5%.

RESULTS

Initially, 95 patients who underwent biopsy and primary surgical treatment for endometrial carcinoma from January 2002 to December 2015 were identified. Of these, paraffin blocks, biopsy samples or uterine surgical specimens were missing for 20 cases. Finally, 3 patients were excluded during assessment of the slides due to inadequate material for IMH evaluation. Therefore, 72 patients were included in the study.

The mean age of the patients was 65.6 years, and 90.3% of the patients presented at menopause. In all, 75% (n=54) of the patients presented tumors of endometrioid histology, whereas 25% (n=18) presented tumors of non-endometrioid histology. Data on the tumor grade as determined by biopsy were not available in the anatomopathological report in 12.5% of the cases. G1

tumors were diagnosed in 31.9% of cases, G2 in 25% and G3 tumors in 30.6% of cases. With respect to the surgical specimen, G1 and G2 tumors had an identical frequency of 29.2%, whereas G3 tumors accounted for 41.7% of the cases. Moreover, 69.4% of the patients were diagnosed in stage I, 8.3% in stage II, 20.8% in stage III and 1.4% in stage IV (Table 1).

The percentage of p53 expression between the biopsy sample and the surgical specimen presented an agreement rate of 70.8%, with a weighted *Kappa* coefficient of 0.64 (95% CI 0.49 - 0.78). The expression intensity of p53 presented an agreement rate of 69.4%, with a weighted *Kappa* of 0.65 (95% CI 0.51 - 0.78). (Table 2).

When agreement between the biopsy sample and the surgical specimen was analyzed according to the histological type, endometrioid carcinomas presented a weighted *Kappa* coefficient of 0.51 for both analyses, 95% CIs of 0.29 - 0.74 for the percentage of expression of p53 and 95% CIs of 0.31-0.70 for the intensity of p53 expression ($p<0.001$). Non-endometrioid carcinomas presented a weighted *Kappa* coefficient of 0.64 (95% CI 0.34 - 0.94, $p<0.001$) for the percentage of p53 expression and a weighted *Kappa* of 0.85 (CI 0.68 - 1.00, $p<0.001$) for p53 expression intensity (Table 3).

When the agreement between the biopsy sample and the surgical specimen was analyzed according to the final tumor grade, in G1 tumors, the correlation of the p53 expression rate between the biopsy sample and the surgical specimen showed a weighted *Kappa* coefficient of 0.17 (95% CI -0.33 - 0.67, $p=0.150$); the intensity of p53 expression had a weighted *Kappa* of 0.09 (95% CI -0.44 - 0.61, $p=0.314$). Neither the result for the expression rate nor the result for the intensity of expression was statistically significant. In G2 tumors,

both the percentage of expression and the intensity of p53 expression showed a weighted *Kappa* of 0.55, with a 95% CI between 0.20 - 0.90 and 0.28 - 0.82, respectively ($p=0.001$). In G3 tumors, the weighted *Kappa* coefficient for the analysis of p53 expression and p53 expression intensity was 0.72 (95% CI 0.53 - 0.90, $p<0.001$) and 0.81 95% CI 0.66 - 0.96, $p<0.001$), respectively (Table 4).

An analysis of the percentage of expression of p53 in the surgical specimen showed that 39.1% of the tumors with <10% expression were G1 and that 71.4% of the tumors with >50% expression were G3 ($p=0.009$). Regarding the histological type, 89.1% of tumors with p53 expression <10% were endometrioid, while 57.1% of tumors with >50% expression were non-endometrioid ($p<0.001$). Furthermore, in relation to stage, 82.6% of patients with p53 expression <10% had stage I disease, while 42.9% of patients with p53 expression >50% had stage III/IV disease ($p=0.020$) (Table 5). An analysis of the intensity of p53 expression according to grade, histological type and stage, revealed results similar to those found in the analysis of the percentage of p53 expression ($p<0.05$).

The agreement between pathologists was evaluated for both the percentage and intensity of p53 expression in the biopsy sample and in the surgical specimen. The agreement in the percentage of p53 expression in the biopsy sample had a weighted *Kappa* of 0.77 (95% CI 0.66 - 0.88, $p<0.001$). For the expression intensity of p53 in the biopsy sample, the weighted *Kappa* was 0.75 (95% CI 0.62 - 0.88, $p<0.001$). The agreement for p53 expression in the surgical specimen presented a weighted *Kappa* of 0.85 (CI 0.75 - 0.94, $p<0.001$), while for the expression intensity of p53 in the surgical specimen, the weighted *Kappa* was 0,88 (95% CI 0.80 – 0.96, $p<0.001$).

DISCUSSION

In the literature, the criteria for IMH positivity of p53 range from 5% to values greater than 50%.^{17,22,23} Alkushi et al.²² considered that positivity based on more than 50% of cells stained has greater discriminatory power and clinical relevance. This study evaluated the percentage and intensity of p53 expression in biopsy samples and surgical specimens and categorized their levels into one of three groups, as described above.

In the present study, the agreement rates of p53 expression and intensity of expression between the biopsy and the surgical specimen were 70.8% and 69.4%, respectively. These values, although lower than those obtained in previous studies, indicate a good agreement between the biopsy sample and the surgical specimen, with weighted *Kappa* coefficient values of 0.64 and 0.65 for expression and intensity, respectively. A possible explanation for the lower agreement values obtained in the current study may be that we did not distinguish the cases that were diagnosed through aspiration biopsy in an office setting, uterine curettage or biopsy guided by hysteroscopy. Aspiration biopsy is typically performed in our service and is probably the most common method used for diagnoses in our unit. However, we know that the material obtained from this procedure tends to be superficial and may therefore provide incomplete information about the neoplasia, both with respect to the histological type and tumor grade and the IMH expression of p53 in these specimens. Nevertheless, we used different cut-off points from the previously mentioned studies.

In our sample, 75% of the 72 patients presented endometrioid tumors (n=54), which reflects the higher occurrence of this histological type.⁴ Our study showed that, among the cases that presented >50% p53 IMH expression, 71% were G3 tumors and 57.1% were non-endometrioid tumors. Among all patients with non-endometrioid tumors, 66% presented a percentage of p53 expression >50%. These data are in agreement with the literature, in which endometrial serous carcinomas are reported to be approximately 70 to 80% positive for p53, while only 20 to 30% of endometrioid carcinomas are positive.^{12,14} In addition, the utility of p53 IMH expression as a prognostic factor in endometrial carcinomas has been extensively studied in surgical specimens, including its association with more advanced stages and lymph node extension.^{13,16,24} The present study demonstrated that, while 82.6% of the tumors with a percentage of p53 expression <10% were diagnosed as stage I disease, 42.9% of tumors with a percentage of p53 expression >50% were stage III/IV disease. This difference was statistically significant. However, no evaluation of the depth of tumor invasion was performed in the surgical specimens.

Although a number of studies has evaluated the expression of p53 in diagnostic specimens of endometrial carcinomas and its correspondence with adverse factors,^{17,25,26} very little data can be found in the literature on the agreement of p53 IMH expression between diagnostic endometrial specimens and surgical specimens. Our study evaluated the IMH expression and intensity of p53 in endometrial biopsy samples and compared the results with those obtained in surgical specimens, which is considered the gold standard. Oreskovic et al.¹⁵ studied the molecular behavior of endometrial carcinoma through an IMH analysis of p53, ki-67 and hormone receptor expression in

material obtained by curettage in 136 patients. The cut-off point considered for immunopositivity of p53 was 15%, and according to a multivariate analysis, this was the only independent factor for patient survival. Excellent agreement was observed between the IMH expression of p53 in the endometrial specimen and in the surgical specimen. Engelsen et al.,²⁷ in a study of 236 patients, evaluated the IMH expression of p53 and p16 in material obtained by uterine curettage. The expression of p53 in the curettage specimens and surgical specimens was different in only 14% of the samples. The five-year survival of patients whose tumors were positive for both markers was 13% compared with 67% for one marker and 91% when both markers were negative. In a study published in 2014, Stelloo et al.²⁸ analyzed the molecular alterations that were present in samples obtained by uterine curettage and their correspondence with uterine specimens in 48 cases. p53 expression was in agreement in 97.9% of cases, and only one case of disagreement was found between the endometrial specimen and the surgical specimen.

We did not find any previous studies that evaluated the agreement of IMH expression and intensity of p53 between endometrial biopsy samples and surgical specimens according to histological type and tumor grade. These data might be useful for the preoperative evaluation of tumors for which radical surgery in the first instance is not completely established, such as in endometrioid G2 tumors.

Our study demonstrated a greater agreement between the biopsy specimen and the surgical specimen for non-endometrioid tumors. Such a result can be explained by the finding that non-endometrioid tumors, especially endometrial serous carcinomas, demonstrate a well-established positivity for

the IMH expression and intensity of p53 in their molecular profile. Regarding tumor grade, we found progressively higher agreement rates as the tumor grade increased. For G1 tumors, agreement was very weak and was not statistically significant. For G2 tumors, we found a statistically significant moderate agreement rate. However, the highest agreement rates were obtained for G3 tumors, both for the IMH expression and intensity of p53. In these tumors, the agreement between the biopsy sample and the surgical specimen with respect to the percentage of p53 expression >50% was 100%, while disagreement was found in one case with respect to strong expression intensity of p53. These data reflect the same results that were obtained after an analysis was performed in non-endometrioid tumors. Still, if we assume that endometrial biopsy does not often provide data on tumor differentiation, we can conclude that the greater the expression and intensity of p53 in the biopsy sample, the greater the chance that the tumor is a G3 tumor. This accounts for the high agreement rate between the biopsy sample and the surgical specimen in these cases.

The interobserver evaluation by the pathologists in our service presented very good agreement indexes for the expression and intensity of p53, both in the biopsy sample and in the surgical specimen. The highest index, however, was observed in the surgical specimen, with weighted *Kappa* values of 0.85 and 0.88 for expression and intensity, respectively. This result is explained by the fact that analysis of the surgical specimen, even a semiquantitative analysis, is considered the gold standard and reflects a similar pattern of work by the pathologists in our service.

Our work has some limitations. As mentioned previously, we did not distinguish the diagnoses of the endometrial samples obtained through aspiration biopsy, uterine curettage and diagnostic hysteroscopy, and this may have provided relevant data in the analysis of the agreement between the biopsy material and the surgical specimen. We also did not evaluate the weight of the endometrial specimens. This conflicts with the finding that a single tumor contains areas with different degrees of differentiation, and low-grade areas are usually located superficially and at the periphery of tumors.²⁹ These findings may also reflect differences in p53 IMH expression depending on the tumor area analyzed. We did not assess the depth of tumor invasion in the surgical specimens, which is an important prognostic factor for endometrial carcinoma that may be related to the greater IMH expression of p53.

It is important to emphasize the well-established prognostic criteria for endometrial tumors, which should always be evaluated in conjunction with the molecular profile of this neoplasm. These data, especially in G2 tumors, are of extreme importance since the agreement index between the biopsy sample and the surgical specimen for these tumors was only moderate.

Thus, despite these limitations, we conclude that this study, in general, found good agreement rates for the IMH expression and intensity of p53 between endometrial biopsy and surgical specimens. This preoperative evaluation can therefore be useful in the characterization of tumors with a reserved prognosis, and may aid in the selection of candidates for radical surgery, especially when the anatomopathological data of the biopsy are insufficient for this decision. However, some considerations must be made in this assessment. For example, we must account for the disagreement rates

between the biopsy samples and the surgical specimens with respect to tumor grade and histological type.^{19,20} Finally, many other molecular markers should be considered in endometrial neoplasia, which provides additional rationale for future agreement studies based on p53 expression.

REFERENCES

1. INCA - Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2016 [Internet]. Available at: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/sintese-de-resultados-comentarios.asp>. Accessed August 25, 2017.
2. Key statistics for endometrial cancer? [Internet]. Available at: <http://www.cancer.org/cancer/endometrialcancer/detailedguide/endometrial-uterine-cancer-key-statistics>. Accessed October 18, 2016.
3. Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol* 2008;109:11–18.
4. Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology* 1998;33:297–303.
5. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol* 2014;15:e268–e278.
6. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1991;40:55–65.

7. Van den Bosch T, Coosemans A, Morina M, et al. Screening for uterine tumours. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2012;26:257–266.
8. Pessini AS, Zettler CG, Wender MCO, Pellanda LC, Silveira GPG. Survival and prognostic factors of patients treated for stage III endometrial carcinoma in a reference cancer center in southern Brazil. *Eur J Gynecol Oncol*. 2007;28: 48-50..
9. Geisinger KR, Homesley HD, Morgan TM, et al. Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 1986;58:1518–1525.
10. Hanson MB, van Nagell JR Jr, Powell DE, et al. The prognostic significance of lymph-vascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer* 1985;55:1753–1757.
11. Creasman WT, Rutledge F. The prognostic value of peritoneal cytology in gynecologic malignant disease. *Am J Obstet Gynecol* 1971;110:773–781.
12. Kounelis S, Kapranos N, Kouri E, et al. Immunohistochemical profile of endometrial adenocarcinoma: a study of 61 cases and review of the literature. *Mod Pathol* 2000;13:379–388.
13. Appel MLM, Edelweiss MI, Fleck J, et al. P53 and BCL-2 as prognostic markers in endometrial carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2008;14:23–30.
14. Kohler MF, Berchuck A, Davidoff AM, et al. Overexpression and mutation of p53 in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1992;52:1622–1627.
15. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, et al. A significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation

- factor Ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004;93:34–40.
16. Geisler JP, Wiemann MC, Zhou Z, et al. p53 as a prognostic indicator in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1996;61:245–248.
 17. Fayallah EA, Hemida RA, Gamal AM, et al. Pretreatment study of P53 overexpression for selection of candidates for pelvic lymphadenectomy in clinical stage I endometrial carcinoma: a randomized-controlled study. *Arch Gynecol Obstet*. Springer 2011;283:617–622.
 18. Obeidat BR, Matalka II, Mohtaseb AA, et al. Selected immunohistochemical markers in curettage specimens and their correlation with final pathologic findings in endometrial cancer patients. *Pathol Oncol Res* 2013;19:229–235.
 19. Mitchard J, Hirschowitz L. Concordance of FIGO grade of endometrial adenocarcinomas in biopsy and hysterectomy specimens. *Histopathology* 2003;42:372–378.
 20. Lampe B, Kürzl R, Hantschmann P. Reliability of tumor typing of endometrial carcinoma in prehysterectomy curettage. *Int J Gynecol Pathol* 1995;14:2–6.
 21. Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. CRC Press; 1990.
 22. Alkushi A, Lim P, Coldman A, et al. Interpretation of p53 immunoreactivity in endometrial carcinoma: establishing a clinically relevant cut-off level. *Int J Gynecol Pathol* 2004;23:129–137.
 23. Ito K, Watanabe K, Nasim S, et al. Prognostic significance of p53 overexpression in endometrial cancer. *Cancer Res* 1994;54:4667–4670.

24. Lee EJ, Kim TJ, Kim DS, et al. p53 alteration independently predicts poor outcomes in patients with endometrial cancer: a clinicopathologic study of 131 cases and literature review. *Gynecol Oncol* 2010;116:533–538.
25. Mariani A, Sebo TJ, Katzmann JA, et al. Endometrial cancer: can nodal status be predicted with curettage? *Gynecol Oncol* 2005;96:594–600.
26. Silverman MB, Roche PC, Kho RM, et al. Molecular and cytogenetic pretreatment risk assessment in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2000;77:1–7.
27. Engelsen IB, Stefansson I, Akhlen LA, et al. Pathologic expression of p53 or p16 in preoperative curettage specimens identifies high-risk endometrial carcinomas. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:979–986.
28. Stelloo E, Nout RA, Naves LCLM, et al. High concordance of molecular tumor alterations between pre-operative curettage and hysterectomy specimens in patients with endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2014;133:197–204.
29. Matsuo K, Opper NR, Ciccone MA, et al. Time interval between endometrial biopsy and surgical staging for type I endometrial cancer: association between tumor characteristics and survival outcome. *Obstet Gynecol* 2015;125:424–433.

TABLES

Table 1. Characterization of the sample

Variables	n=72
Age (years) - mean \pm SD	65.6 \pm 8.4
Menopause (%)	65 (90.3)
Tumor grade of biopsy sample - n (%)	
Not registered	9 (12.5)
Grade I	23 (31.9)
Grade II	18 (25.0)
Grade III	22 (30.6)
Tumor grade of the surgical specimen - n (%)	
Grade I	21 (29.2)
Grade II	21 (29.2)
Grade III	30 (41.7)
Histological Type - n (%)	
Endometrioid	54 (75.0)
Non-Endometrioid	18 (25.0)
Stage - n (%)	
I	50 (69.4)
II	6 (8.3)
III	15 (20.8)
IV	1 (1.4)

Table 2. Agreement between the biopsy sample and the surgical specimen

p53	Biopsy n (%)	Surgical specimen n (%)	% of agreement	Weighted Kappa	95% CI	p
Expression			70.8	0.64	0.49 - 0.78	<0.001
<10%	32 (44.4)	46 (63.9)				
Between 10% and 50%	21 (29.2)	5 (6.9)				
>50%	19 (26.4)	21 (29.2)				
Intensity			69.4	0.65	0.51 - 0.78	<0.001
Weak	30 (41.7)	36 (50.0)				
Moderate	22 (30.6)	15 (20.8)				
Strong	20 (27.8)	21 (29.2)				

According to Altman: *Kappa* <0.20: very poor agreement; between 0.21 and 0.40: poor agreement; between 0.41 and 0.60: moderate agreement; between 0.61 and 0.80: good agreement; >0.8 indicates very good agreement.

Table 3. Concordance between the biopsy and surgery specimens according to histological type

Histological type	p53	Biopsy n (%)	Surgical specimen n (%)	Weighted <i>Kappa</i>	95% CI	p
Endometrioid	Expression			0.51	0.29 - 0.74	<0.001
	<10%	30 (55.6)	41 (75.9)			
	Between 10% and 50%	17 (31.5)	4 (7.4)			
	>50%	7 (13.0)	9 (16.7)	0.51	0.31 - 0.70	<0.001
	Intensity					
	Weak	28 (51.9)	32 (59.3)			
Moderate	17 (31.5)	12 (22.2)				
Strong	9 (16.7)	10 (18.5)				
Non-Endometrioid	Expression			0.64	0.34 - 0.94	<0.001
	<10%	2 (11.1)	5 (27.8)			
	Between 10% and 50%	4 (22.2)	1 (5.6)			
	>50%	12 (66.7)	12 (66.7)	0.85	0.68 - 1.00	<0.001
	Intensity					
	Weak	2 (11.1)	4 (22.2)			
Moderate	5 (27.8)	3 (16.7)				
Strong	11 (61.1)	11 (61.1)				

According to Altman: *Kappa* <0.20: very poor agreement; between 0.21 and 0.40: poor agreement; between 0.41 and 0.60: moderate agreement; between 0.61 and 0.80: good agreement; >0.8 indicates very good agreement.

Table 4. Agreement between the biopsy and surgery specimens according to tumor grade

Tumor grade	p53	Biopsy n (%)	Surgical specimen n (%)	Weighted Kappa	95% CI	p
Grade I	Expression			0.17	-0.33 - 0.67	0.150
	<10%	14 (66.7)	18 (85.7)			
	Between 10% and 50%	6 (28.6)	1 (4.8)			
	>50%	1 (4.8)	2 (9.5)	0.09	-0.44 - 0.61	0.314
	Intensity					
	Weak	15 (71.4)	16 (76.2)			
Moderate	5 (23.8)	3 (14.3)				
Strong	1 (4.8)	2 (9.5)				
Grade II	Expression			0.55	0.20 - 0.90	0.001
	<10%	12 (57.1)	16 (76.2)			
	Between 10% and 50%	6 (28.6)	1 (4.8)			
	>50%	3 (14.3)	4 (19.0)	0.55	0.28 - 0.82	0.001
	Intensity					
	Weak	10 (47.6)	11 (52.4)			
Moderate	7 (33.3)	5 (23.8)				
Strong	4 (19.0)	5 (23.8)				
Grade III	Expression			0.72	0.53 - 0.90	<0.001
	<10%	6 (20.0)	12 (40.0)			
	Between 10% and 50%	9 (30.0)	3 (10.0)			
	>50%	15 (50.0)	15 (50.0)	0.81	0.66 - 0.96	<0.001
	Intensity					
	Weak	5 (16.7)	9 (30.0)			
Moderate	10 (33.3)	7 (23.3)				
Strong	15 (50.0)	14 (46.7)				

According to Altman: *Kappa* <0.20: very poor agreement; between 0.21 and 0.40: poor agreement; between 0.41 and 0.60: moderate agreement; between 0.61 and 0.80: good agreement; >0.8 indicates very good agreement.

Table 5. Association of age, tumor grade, staging and histological type with p53 expression in the surgical specimen

Variables	<10%	10% - 50%	>50%	P
Age (years) - mean ± SD	63.2 ± 8.1a	64.6 ± 9.0ab	70.9 ± 6.6b	0.001
Part grade - n (%)				0.009
Grade I	18 (39.1)*	1 (20.0)	2 (9.5)	
Grade II	16 (34.8)	1 (20.0)	4 (19.0)	
Grade III	12 (26.1)	3 (60.0)	15 (71.4)*	
Histological Type - n (%)				<0.001
Endometrioid	41 (89.1)*	4 (80.0)	9 (42.9)	
Non-endometrioid	5 (10.9)	1 (20.0)	12 (57.1)*	
Stage - n (%)				0.020
I	38 (82.6)*	3 (60.0)	9 (42.9)	
II	2 (4.3)	1 (20.0)	3 (14.3)	
III/IV	6 (13.0)	1 (20.0)	9 (42.9)*	

^{a, b} Same letters do not differ by the Tukey test at 5% significance; *statistically significant association by the fitted residuals test at 5% significance

Table 6. Agreement between pathologists

p53	Pathologist 1 n (%)	Pathologist 2 n (%)	Weighted <i>Kappa</i>	95% CI	p
Biopsy Expression			0.77	0.66 - 0.88	<0.001
<10%	40 (55.6)	30 (41.7)			
Between 10% and 50%	13 (18.1)	22 (30.6)			
>50%	19 (26.4)	20 (27.8)			
Biopsy Intensity			0.75	0.62 - 0.88	<0.001
Weak	38 (52.8)	29 (40.3)			
Moderate	16 (22.2)	24 (33.3)			
Strong	18 (25.0)	19 (26.4)			
Surgical specimen Expression			0.85	0.75 - 0.94	<0.001
<10%	47 (65.3)	38 (52.8)			
Between 10% and 50%	4 (5.6)	14 (19.4)			
>50%	21 (29.2)	20 (27.8)			
Surgical specimen Intensity			0.88	0.80 - 0.96	<0.001
Weak	39 (54.2)	35 (48.6)			
Moderate	13 (18.1)	15 (20.8)			
Strong	20 (27.8)	22 (30.6)			

According to Altman: *Kappa* <0.20: very poor agreement; between 0.21 and 0.40: poor agreement; between 0.41 and 0.60: moderate agreement; between 0.61 and 0.80: good agreement; >0.8 indicates very good agreement.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O carcinoma endometrial é o quarto câncer mais prevalente em mulheres nos países desenvolvidos. No Brasil, apesar de menos comum, sua incidência está aumentando nos últimos anos. A maioria das pacientes é diagnosticada em estágio inicial, apresentando, dessa maneira, desfecho favorável. No entanto, até 20% dos casos exibem fatores prognósticos adversos, relacionados a risco de recorrência e morte. Dentre esses, os clássicos incluem tipo histológico, grau de diferenciação tumoral, profundidade de invasão miometrial e estadiamento cirúrgico.

Sabemos, contudo, que dados como tipo histológico e grau tumoral apresentam grande variabilidade entre a amostra endometrial e a peça cirúrgica. Dessa forma, o verdadeiro risco de recorrência só pode ser avaliado após a cirurgia de estadiamento. Na busca por definir alterações moleculares que possam prever, com maior acurácia, a evolução clínica das pacientes, já foi sugerido que a positividade imuno-histoquímica da p53 está correlacionada a fatores prognósticos adversos.

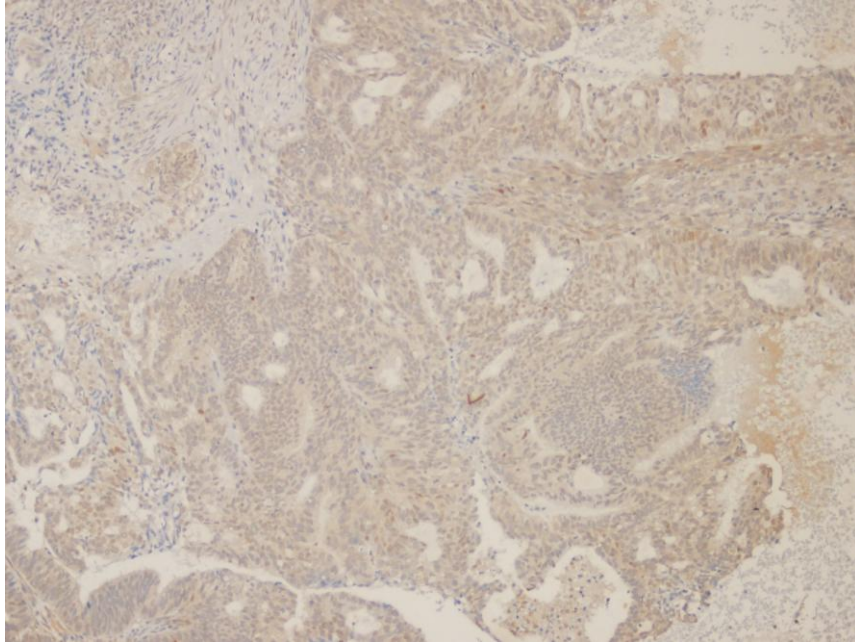
Neste estudo, avaliamos a concordância da expressão e intensidade de expressão IMH da p53 entre amostra endometrial pré-operatória e peça cirúrgica final e concluímos que os resultados foram satisfatórios. Ademais, as maiores taxas de concordância foram encontradas em tumores não endometrioides e G3. Essa avaliação em tempo pré-operatório pode ser útil, portanto, para a caracterização de tumores com prognóstico reservado, ajudando a selecionar pacientes candidatas a cirurgia radical, principalmente

quando os dados anatomopatológicos da biópsia forem insuficientes para tal decisão. Assim, já que a quantificação da p53 é executada através de exame imuno-histoquímico, cuja técnica apresenta fácil execução e baixo custo, essa avaliação pode ser facilmente incorporada na rotina das pacientes.

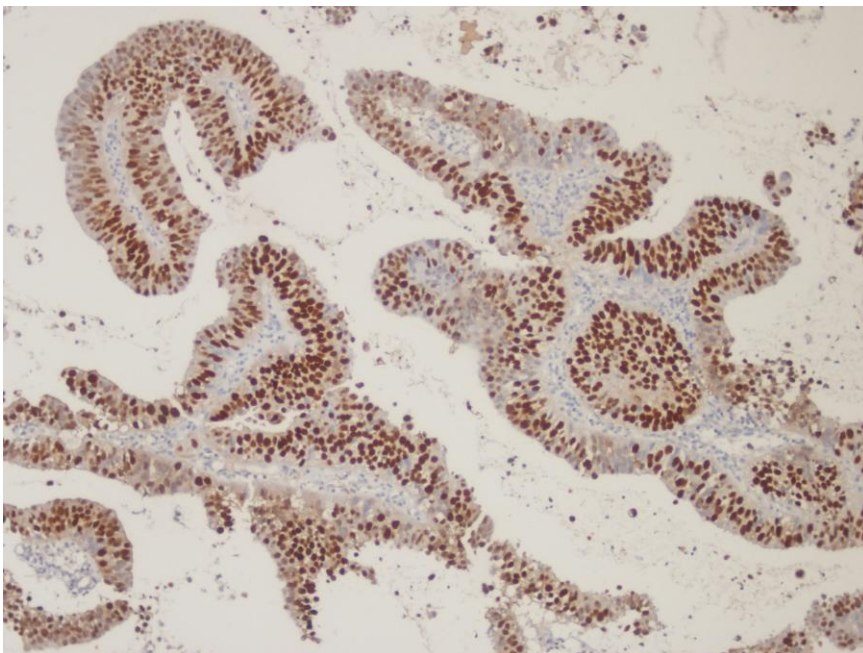
Com o aprimoramento das técnicas de biologia molecular, uma nova classificação para a neoplasia endometrial está para ser adotada, a qual é dividida em quatro categorias e baseada no sequenciamento do genoma, na avaliação de instabilidade microssatélite e na análise do número de cópias. Cada grupo, portanto, exibe um perfil prognóstico diferente. Em um futuro próximo, a perspectiva é de que estudos avaliem essas categorias de mutações, a fim de utilizá-las para estratificação de risco de recorrência e metástases, tão logo realizado o diagnóstico da neoplasia endometrial. A curto prazo, no entanto, o custo embutido nessas novas tecnologias não deverá ser absorvido pelos sistemas públicos de saúde. Assim, infelizmente, a crescente implementação da medicina personalizada aumentará a discrepância no acesso ao diagnóstico e tratamento entre as classes sociais, restringindo-se às mulheres com maior poder aquisitivo.

ANEXOS

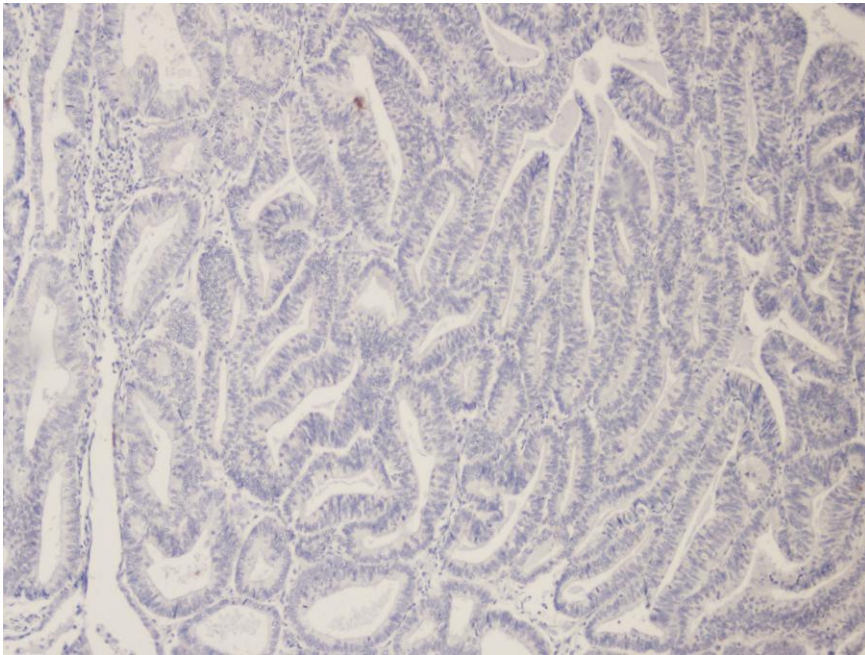
Biópsia endometrial com <10% de expressão da p53 e intensidade fraca (aumento 100X).



Biópsia endometrial com >50% de expressão da p53 e intensidade forte (aumento 100X).



Peça cirúrgica uterina com <10% de expressão da p53 e intensidade fraca (aumento 100X).



Peça cirúrgica uterina com >50% de expressão da p53 e intensidade forte (aumento 100X).

