



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**CAMILLA CORREIA PEREIRA**

**CORRELAÇÃO ENTRE PADRÃO DE MIOINVASÃO MELF E METÁSTASE  
LINFONODAL NO CARCINOMA ENDOMETRIAL ENDOMETRIOIDE**

**Recife**

**2017**

**CAMILLA CORREIA PEREIRA**

**CORRELAÇÃO ENTRE PADRÃO DE MIOINVASÃO MELF E METÁSTASE  
LINFONODAL NO CARCINOMA ENDOMETRIAL ENDOMETRIOIDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Linha de pesquisa: Modelos Morfofisiológicos e Imunológicos das Doenças.

Orientador: Dr. Roberto José Vieira de Mello

**Recife**

**2017**

Catálogo na fonte:  
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

P436c Pereira, Camilla Correia.  
Correlação entre padrão de mioinvasão melf e metástase linfonodal /  
Camilla Correia Pereira. – Recife: o autor, 2017.  
48 f.; 30 cm.

Orientador: Roberto José Vieira de Mello.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro  
de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em patologia.  
Inclui referências, apêndices e tabelas.

1 Neoplasias do endométrio. 2. Carcinoma endometriode. 3. Excisão de  
linfonodo. I. Mello, Roberto José Vieira de (orientador). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018 - 063)



## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**Centro de Ciências da Saúde - UFPE**

Av. Prof. Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife - PE

Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo

Fone/Fax: (81) 2126.8529

<http://www.ppgpatologiaufpe.com>

---

### **DISSERTAÇÃO DEFENDIDA E APROVADA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRA EM PATOLOGIA.**

**AUTORA: Camilla Correia Pereira**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Patologia**

**NOME DA DISSERTAÇÃO: “Correlação entre padrão de mioinvasão MELF e metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometrióide.”**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Roberto José Vieira de Mello**

**DATA DA DEFESA E APROVAÇÃO: 18 de dezembro de 2017.**

#### **BANCA EXAMINADORA:**

---

**Profa. Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas**

---

**Profa. Dra. Adriana Maria da Silva Telles**

---

**Profa. Dra. Mário Ribeiro de Melo Júnior**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela oportunidade de concluir o projeto que me auxiliou e me manteve na busca do autoconhecimento.

Agradeço à minha família e ao meu amigo e marido, Arthur, pela paciência, compreensão e estímulo nos momentos de ansiedade.

Agradeço aos professores e amigos pela ajuda e pela disposição.

## RESUMO

Apesar do estadiamento do câncer do endométrio incluir a avaliação de linfonodos, a taxa de acometimento linfonodal é baixa mesmo em pacientes de alto risco. Além disso, a linfadenectomia pode se associar a complicações. Assim, a indicação desse procedimento em todos os casos de carcinoma endometrial endometriode é questionada. Algumas características histológicas têm sido associadas a maior risco de metástase linfonodal, como o padrão de mioinvasão MELF (*microcistic, elongated, fragmented*). Foi realizado estudo observacional, caso-controle, retrospectivo, com laudos histopatológicos consecutivos de peças cirúrgicas de carcinomas endometriais endometriodes obtidos por procedimento cirúrgico, referentes aos anos de 2010 a 2014, do Serviço de Patologia do Hospital do Câncer de Pernambuco. Buscou-se verificar se o padrão de mioinvasão MELF aumenta o risco de metástase linfonodal ou se associa com desfecho desfavorável (óbito e recidiva) e, além disso, se é um diagnóstico reprodutível. Em 98 casos de carcinoma endometrial endometriode, foram avaliados dados de prontuário e de laudo histopatológico, além de realizada leitura de lâminas histológicas por dois patologistas separadamente para pesquisa do padrão. Os critérios diagnósticos para MELF foram: estruturas que se destacam de glândulas neoplásicas típicas mais presença de ao menos uma das seguintes características: 1- microcistos revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou escamoide; 2- estruturas alongadas, com lúmen semelhante a fenda, revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou planas; 3- células individuais ou pequeno grupo de células. MELF foi diagnosticado em 21,4% dos casos e é fator de risco (OR=6,2; p=0,054) para metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometriode, principalmente nos casos sem invasão vascular, situação em que o risco aumenta para 21 vezes (p=0,02). Há tendência de aumento no risco de desfechos desfavoráveis no carcinoma endometriode associado a MELF, porém, sem significância estatística (p=0,075). Foi observada concordância moderada ( $\kappa=0,489$ ) e significativa (p=0,000) entre os patologistas avaliadores, indicando que os critérios utilizados são reprodutíveis.

**Palavras-chave:** Neoplasias do Endométrio. Carcinoma endometriode. Excisão de linfonodo.

## ABSTRACT

Although staging of endometrial cancer includes assessment of lymph nodes, the rate of lymph node involvement is low even in high-risk patients. In addition, lymphadenectomy may be associated with complications. Thus, the indication of this procedure in all cases of endometrioid endometrial carcinoma is questioned. Some histological features have been associated with a higher risk of lymph node metastasis, such as MELF (microcistic, elongated, fragmented) myoinvasion pattern. Was performed a observational, case-control, retrospective study, with consecutive histopathological reports of surgical parts of endometrioid endometrial carcinoma obtained por surgical procedure, between years 2010 to 2014, of Patology Service of Hospital do Câncer de Pernambuco. This study examined whether this pattern increases the risk of lymph node metastasis or is associated with an unfavorable outcome (death and relapse) and, in addition, whether it is a reproducible diagnosis. In 98 cases of endometrioid endometrial carcinoma, data from the medical record and histopathological report were evaluated, as well as histological slides reading by two pathologists separately to search the pattern. The diagnostic criteria for MELF were: structures that stand out from typical neoplastic gland plus presence of at least one of the following characteristics: 1- microcysts coated by cells with eosinophilic or squamoid cytoplasm; 2- elongated structures, with slit-like lumen, coated by cells with eosinophilic or flat cytoplasm; 3- individual cells or small group of cells. MELF was diagnosed in 21.4% of the cases and has a risk factor (OR=6,2; p=0,054) for lymph node metastasis in endometrioid endometrial carcinoma, especially in cases without vascular invasion, in which the risk increases 21 times (p=0,02). There is an increased risk of unfavorable outcomes in endometrioid carcinoma associated with MELF, but without statistical significance (p=0,075). Moderate ( $\kappa=0,489$ ) and significant (p=0,000) concordance among the evaluating pathologists were observed, indicating that the criteria used are reproducible.

**Keywords:** Endometrial Neoplasms, Endometrioid carcinoma. Lymph node excision.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Adenocarcinoma endometrial endometriode grau 1.	11
Figura 2 - Adenocarcinoma endometrial endometriode grau 2.	12
Figura 3 - Adenocarcinoma endometrial endometriode grau 3.	12
Figura 4 - Estrutura microcística do padrão de mioinvasão MELF.	15
Figura 5 - Glândula com morfologia alongada no padrão de mioinvasão.	16
Figura 6 - Pequeno grupo de células malignas no padrão de mioinvasão MELF.	16
Fluxograma - Seleção de prontuários e laudos histopatológicos a serem incluídos no estudo.	23
Figura 7 - Estrutura microcística do padrão de mioinvasão MELF.	31
Figura 8 - Glândula alongada do padrão de mioinvasão MELF.	32
Figura 9 - Pequeno conjunto de células do padrão de mioinvasão MELF.	32
Figuras 10 e 11 - Morfologia sutil de glândula com padrão MELF, simulando vaso linfático.	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação em grupos de risco no Câncer do Endométrio.	14
Tabela 2 – Distribuição de frequência das variáveis: graus histológico e nuclear, invasão vascular, linfadenectomia, metástase linfonodal, invasão miometrial, desfecho.	27
Tabela 3 - Distribuição de diagnóstico de MELF para os patologistas 1 e 2 e diagnóstico final de MELF.	29
Tabela 4 - Características primárias e secundárias, por quantidade de vezes que foi citada pelo patologista 1 e pelo patologista 2.	30
Tabela 5 – Avaliação da relação entre diagnóstico final de MELF e metástase linfonodal do carcinoma endometrial endometriode.	33
Tabela 6 - Metástase linfonodal e diagnóstico final de MELF.	33
Tabela 7 – Relação entre diagnóstico de MELF e metástase linfonodal, por presença ou ausência de invasão vascular.	34
Tabela 8 - Coeficientes de Associação e Concordância entre os resultados de MELF para os dois patologistas.	35
Tabela 9 – Relação entre diagnóstico final de MELF e desfecho desfavorável (óbito ou recidiva).	37
Tabela 10 – Relação entre características clínico-patológicas e probabilidade de diagnóstico de MELF.	38
Tabela 11 – Diagnóstico MELF e faixas etárias.	39
Tabela 12 – Diagnóstico MELF e número de lâminas.	38
Tabela 13 – Diagnóstico MELF e Grau nuclear.	40
Tabela 14 – Diagnóstico MELF e grau histológico.	40
Tabela 15 – Diagnóstico MELF e profundidade de invasão miometrial.	41

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	DESENVOLVIMENTO .....	22
2.1	Objetivos .....	22
2.2	Materiais e métodos .....	22
2.3	Resultados e Discussão .....	26
3	CONCLUSÃO .....	42
	REFERÊNCIAS .....	43
	APÊNDICE A - Questionário de dados para o patologista 1.....	47
	APÊNDICE B - Questionário de dados para o patologista 2 .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer do endométrio, ou endometrial, é a quarta neoplasia mais comum entre mulheres em todo o mundo, com incidência estimada de 9,1 casos a cada 100.000 mulheres (WHO, 2012). A maioria dos carcinomas endometriais são diagnosticados precocemente (80% no estágio I), com taxa de sobrevida em 5 anos entre 95% das pacientes. A taxa de sobrevida em 5 anos, porém, é muito inferior se há disseminação regional ou metástase à distância (68% e 17%, respectivamente) (COLOMBO, 2015).

O câncer endometrial pode ser classificado em dois tipos, baseado em diferenças endócrinas, metabólicas, clínico-patológicas e moleculares. O tipo I corresponde ao carcinoma endometrial endometriode. Desenvolve-se em mulheres com condições associadas ao hiperestrogenismo, tais como obesidade, sangramento uterino anovulatório, infertilidade, síndrome dos ovários policísticos, menopausa tardia e hiperplasia endometrial. Esse é o tipo mais comum de câncer endometrial e é caracterizado por morfologia moderadamente e bem diferenciada, invasão superficial do miométrio e alta sensibilidade à progesterona. Tem prognóstico um pouco favorável, exceto nos tumores grau 3, de comportamento mais agressivo (BUHTOJAROVA, 2016). É associado a instabilidade de microssatélite e mutações nos genes do PTEN, do PIK3CA, do KRAS e do CTNNB1 (beta-catherin) (MIRANTES, 2013).

O tipo II corresponde ao carcinoma endometrial não endometriode. Desenvolve-se na presença de atrofia, é pouco diferenciado histologicamente, com tendência à invasão profunda do miométrio e com alta frequência de metástase. Esse tipo tem pior prognóstico, especialmente na população mais idosa. É mais frequentemente diagnosticado em mulheres mais velhas e com história de multiparidade, fumo e carcinoma de mama tratado com Tamoxifen (BUHTOJAROVA, 2016). Costuma apresentar mutações no gene TP53 e instabilidade microssomal (MIRANTES, 2013).

Os carcinomas endometriais endometrioides são referidos como tal por lembrarem o endométrio de fase proliferativa ((KURMAN; ELLENSON; RONNETT, 2011). São três os critérios diagnósticos essenciais para carcinoma, quando comparado à hiperplasia endometrial: padrão glandular confluyente no qual glândulas individuais, com escasso estroma de permeio, se misturam e criam um padrão

cribriforme; extensivo padrão papilar; e infiltração irregular de glândulas associadas a estroma fibroblástico (resposta estromal desmoplásica) (BUHTOJAROVA, 2016).

Desde a instituição do sistema de graduação no início dos anos 1980, proposto pela *International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO), o carcinoma endometrial endometriode é dividido em três graus:

Grau 1 (G1): menos de 5% de padrão glandular sólido não morular e não escamoso;

Grau 2 (G2): 6% a 50% de padrão glandular sólido não morular e não escamoso;

Grau 3 (G3): mais de 50% de padrão glandular sólido não morular e não escamoso (BUHTOJAROVA, 2016; CONLON, 2014).

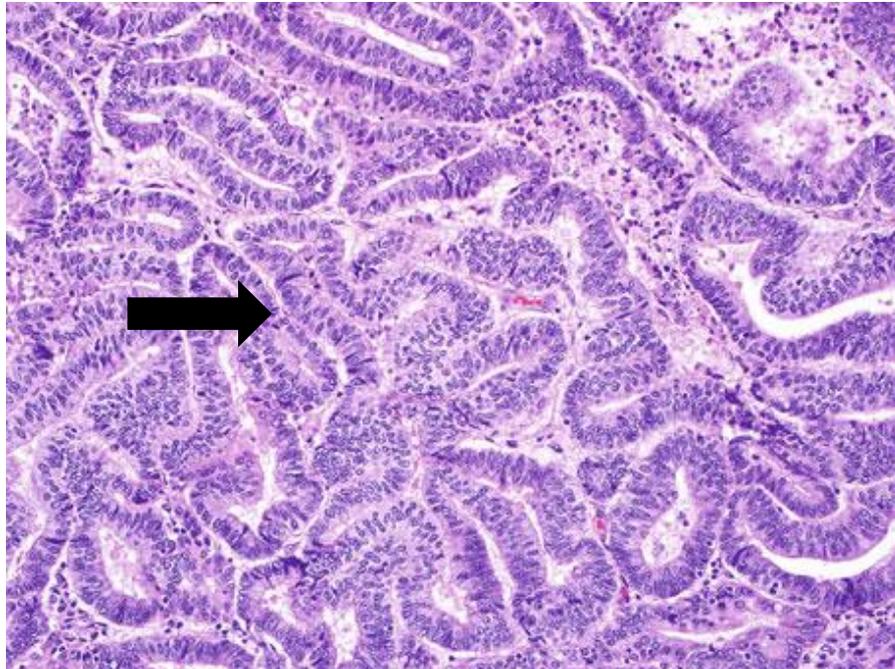


Figura 1 – Adenocarcinoma endometrial endometriode grau 1. Neoplasia composta exclusivamente por glândulas confluentes (seta preta).

Fonte: KURMAN, R.; ELLENSON L. H.; RONNETT B. M. **Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract**. 6. ed. Londres: Ed. Springer, 2011.

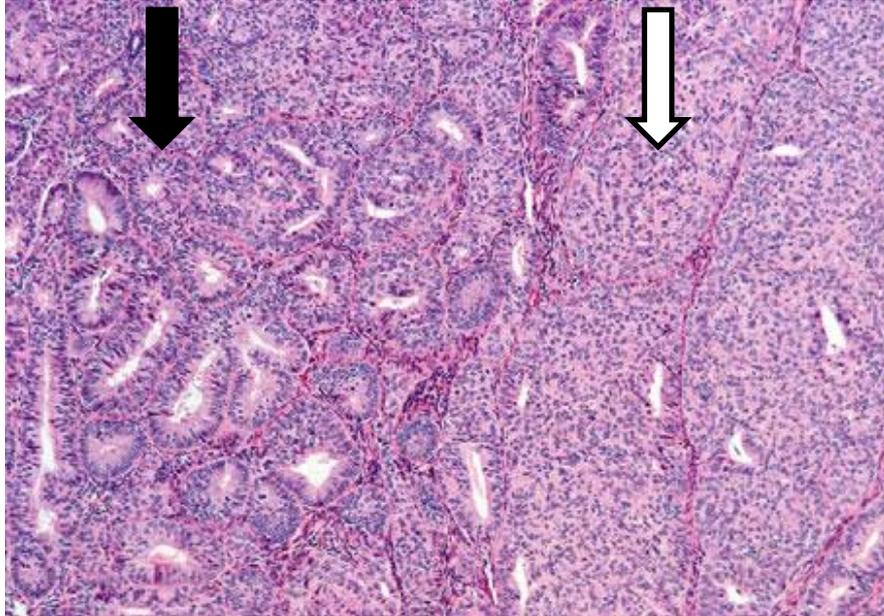


Figura 2 - Adenocarcinoma endometrial endometrióide grau 2. À Esquerda, glândulas neoplásicas confluentes (seta preta), à direita, padrão sólido (seta branca).  
 Fonte: KURMAN, R.; ELLENSON L. H.; RONNETT B. M. **Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract**. 6. ed. Londres: Ed. Springer, 2011.

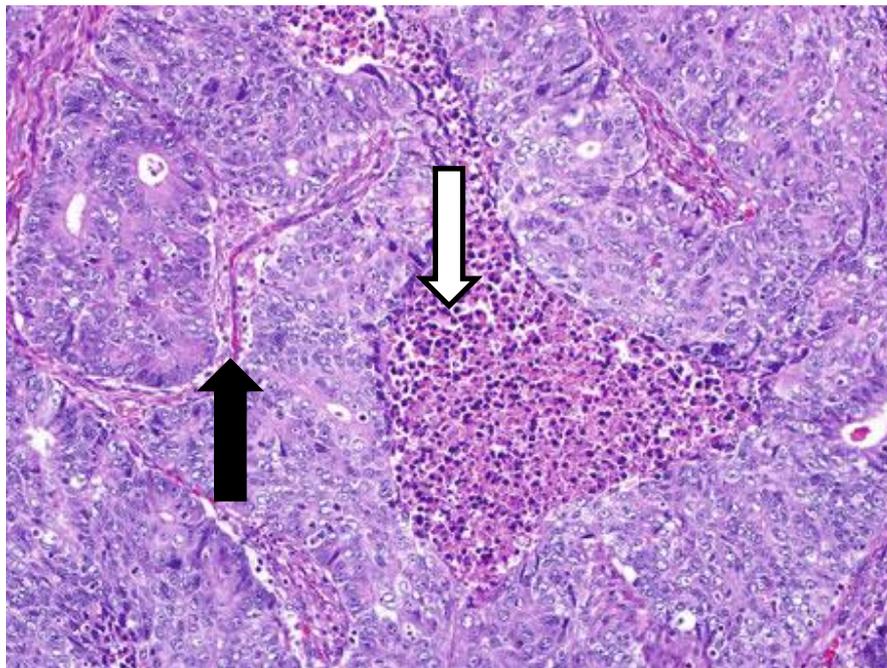


Figura 3 - Adenocarcinoma endometrial endometrióide grau 3. Padrão glandular sólido (seta preta), com necrose tumoral central (seta branca).  
 Fonte: KURMAN, R.; ELLENSON L. H.; RONNETT B. M. **Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract**. 6. ed. Londres: Ed. Springer, 2011.

Os graus dos tumores que são arquiteturalmente grau 1 ou 2 devem ser aumentados em um grau na presença de notável atipia nuclear, ou seja, grau nuclear 3. O grau nuclear é determinado pela variação no tamanho e na forma nuclear, na distribuição de cromatina e no tamanho do nucléolo. No grau 1, o núcleo é oval,

levemente alargado, e tem cromatina igualmente dispersa. No grau 3 é marcadamente alargado e pleomorfo, com cromatina irregular, grosseira e nucléolo eosinofílico proeminente. O núcleo grau 2 tem características intermediárias entre os graus 1 e 3 (KURMAN; ELLENSON; RONNETT, 2011).

O sistema de estadiamento da FIGO é o método mais amplamente aceito para estadiar cânceres endometriais e cervicais. O primeiro sistema de estadiamento foi criado em 1958 e a última revisão, de 2009, segue abaixo (MENEZES, 2010):

- Estádio I: o carcinoma confinado ao corpo uterino.
  - Ia – Tumor limitado ao endométrio ou invasão menor que a metade da espessura do miométrio (G1, G2 e G3).
  - Ib – Invasão igual ou maior que a metade da espessura do miométrio (G1, G2 e G3). Invasão glandular do colo deve ser considerada Estádio I.
- Estádio II: o carcinoma invade o estroma cervical (G1, G2 e G3), mas ainda está limitado ao útero.
- Estádio III: carcinoma com infiltração local ou regional.
  - IIIa – Tumor invadindo serosa e/ou anexos (G1, G2 e G3).
  - IIIb – Envolvimento vaginal e/ou parametrial (G1, G2 e G3).
  - IIIc – Metástase para linfonodos pélvicos e/ou retroperitoneais (G1, G2 e G3).
    - IIIc1 – Linfonodos pélvicos comprometidos.
    - IIIc2 – Linfonodos retroperitoneais comprometidos. Lavado peritoneal deve ser reportado, porém sem alterar o estadiamento.
- Estádio IV: invasão de órgãos adjacentes ou à distância.
  - IVa – Tumor invadindo bexiga e/ou mucosa intestinal (G1, G2 e G3).
  - IVb – Metástases à distância, incluindo as intra-abdominais e/ou linfonodos inguinais.

Existe ainda uma classificação em grupos de risco, que identifica as pacientes com risco de recorrência que se beneficiariam com terapia adjuvante (COLOMBO, 2015).

Tabela 1 – Classificação em grupos de risco no Câncer do Endométrio.

<b>Grupo de Risco</b>	<b>Características</b>
<b>Risco baixo</b>	Carcinoma endometriode estágio I, graus 1-2, <50% de invasão miometrial, invasão linfovascular negativa.
<b>Risco intermediário</b>	Carcinoma endometriode estágio I, graus 1-2, >=50% de invasão miometrial, invasão linfovascular negativa.
<b>Risco intermediário-alto</b>	Carcinoma endometriode estágio I, grau 3, <50% de invasão miometrial, independente do status de invasão linfovascular; Carcinoma endometriode estágio I, graus 1-2, invasão linfovascular inequivocamente positiva, independente da invasão miometrial.
<b>Risco alto</b>	Carcinoma endometriode estágio I, grau 3, >=50% de invasão miometrial, independente do status de invasão linfovascular; Estágio II; Carcinoma endometriode estágio III, sem doença residual; Carcinoma não-endometriode (seroso, ou de células claras, ou indiferenciado, ou carcinosarcoma).
<b>Risco avançado</b>	Estágio III com doença residual e estágio IVA.
<b>Risco metastático</b>	Estágio IVB.

Fonte: Colombo, N et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**, Milan, v. 27, n.1, p. 16-41, jan 2015.

Nos adenocarcinomas endometrioides em estágio clínico I cerca de 5 a 18% dos tumores apresentam envolvimento linfonodal ou metástase extrauterina (MENEZES, 2010; KOSKAS; ROUZIER; AMANT, 2015). Ainda nesse estágio clínico, apenas 10% apresentam metástase para linfonodos pélvicos e 6% para linfonodos para-aórticos, segundo o estudo de Neubauer e Lurain (2011). Mesmo entre pacientes com doença de alto risco a taxa de metástase alcançou 22% no estudo de Mariani (2008). Isso indica que se pode evitar o procedimento em alguns pacientes de baixo e alto risco. De fato, ainda existe controvérsia sobre o benefício de realizar linfadenectomia em todas as pacientes (KOSKAS; ROUZIER; AMANT, 2015). Assim sendo, estudos recentes têm verificado características histológicas que pudessem indicar qual subgrupo de pacientes se beneficiariam com o procedimento. Uma dessas características é o padrão de mioinvasão.

MELF significa literalmente *microcistic, elongated, fragmented*. Corresponde a estruturas que se destacam das glândulas neoplásicas típicas e assumem morfologia microcística, de glândulas alongadas ou de pequenos agrupamentos fragmentados infiltrando o miométrio.

As pequenas glândulas neoplásicas são revestidas por células planas ou cuboideias com citoplasma eosinofílico, às vezes de aparência escamoide (figura 4). Tufo de células intraluminais podem ser identificados. As células neoplásicas das glândulas alongadas, semelhantes a fendas (figura 5), ou as infiltrativas em pequenos fragmentos ou em células únicas (figura 6), têm morfologia semelhante à descrita acima. A reação estromal varia de compacta e celular, a edematosa (frouxa e pálida) e mixoide (basofílica). Linfócitos, neutrófilos e ocasionalmente eosinófilos podem estar associados (MURRAY; YOUNG; SCULLY, 2003).

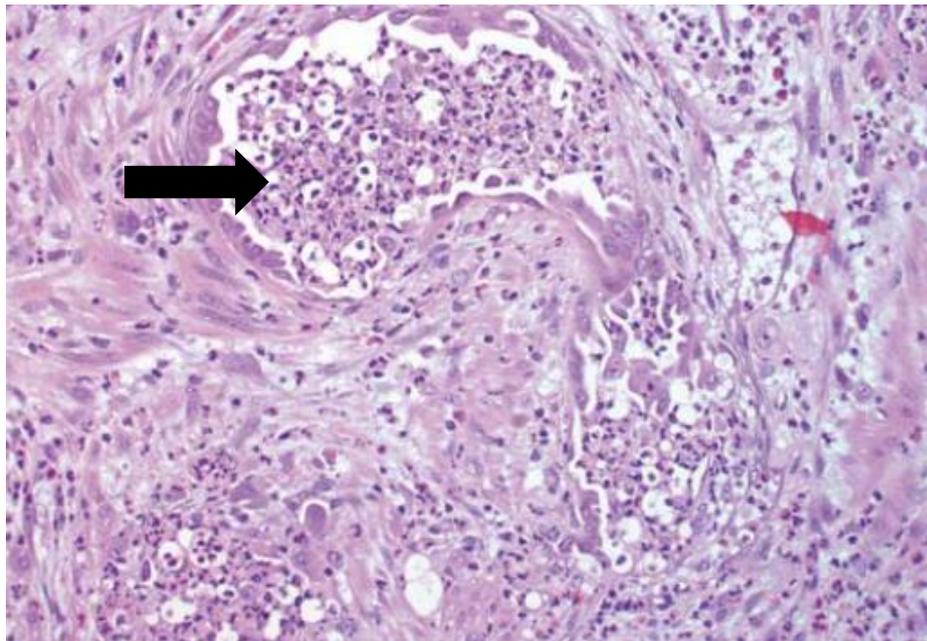


Figura 4 – Estrutura microcística do padrão de mioinvasão MELF. Estrutura cística revestida por células malignas com citoplasma escamoide (seta preta).

Fonte: EUSCHER, E. et al. The Pattern of Myometrial Invasion as a Predictor of Lymph Node Metastasis or Extrauterine Disease in Low-grade Endometrial Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, Houston, v. 37, n.11, p 1728-1736, nov. 2013.

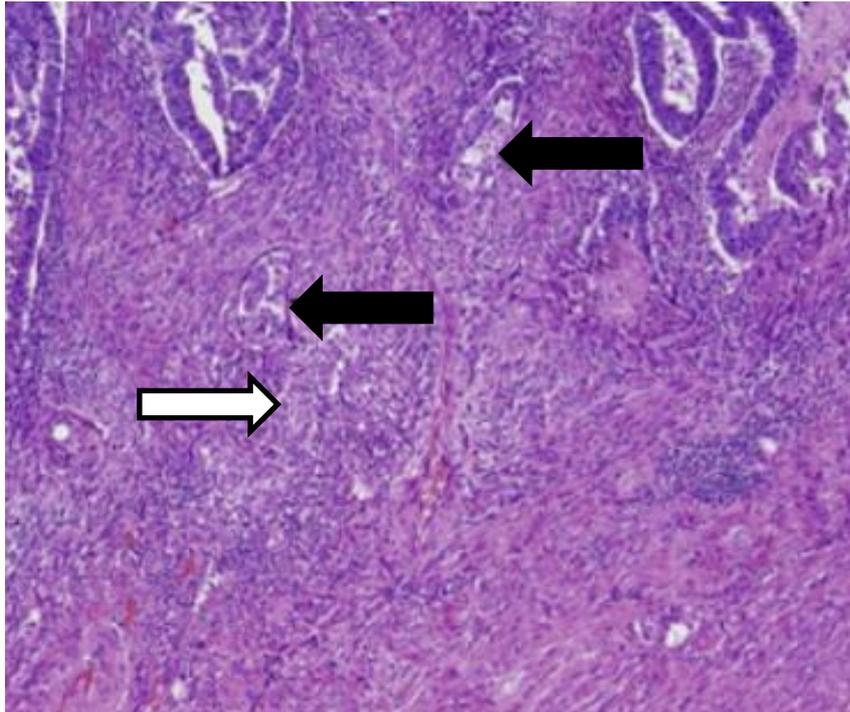


Figura 5 – Glândula com morfologia alongada no padrão de mioinvasão. Estrutura semelhante a fenda (setas pretas), permeada por células inflamatórias (seta branca).

Fonte: PELLETIER, M et al. Microcystic, elongated, and fragmented pattern invasion is mainly associated with isolated tumor cell pattern metastases in International Federation of Gynecology and Obstetrics grade I endometrioid endometrial cancer. **Human Pathology**, Montreal, v. 62, n. 2, p. 33-39, abr. 2017.

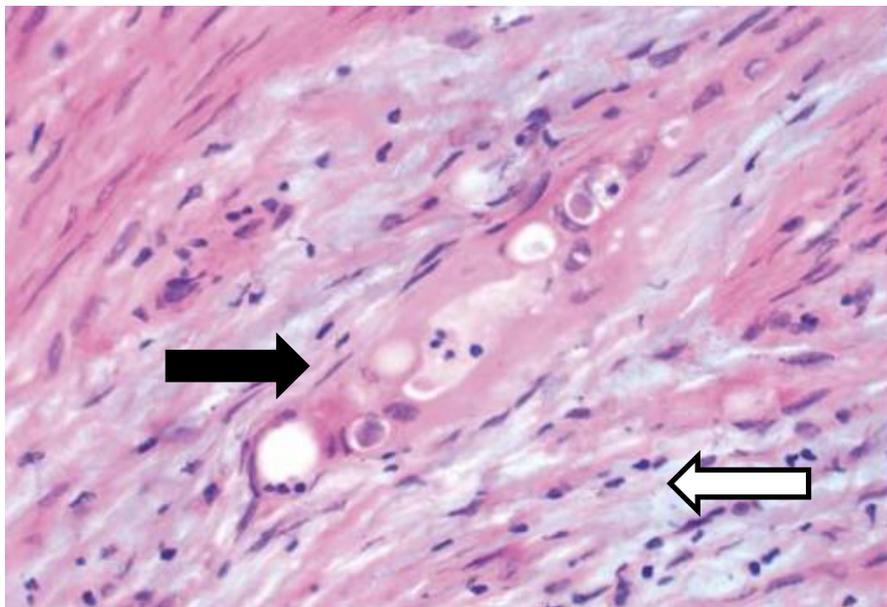


Figura 6 – Pequeno grupo de células malignas no padrão de mioinvasão MELF. Raras células malignas (seta preta) em meio a estroma mixoide (seta branca). Fonte: EUSCHER, E. et al. The Pattern of Myometrial Invasion as a Predictor of Lymph Node Metastasis or Extrauterine Disease in Low-grade Endometrial Carcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, Houston, v. 37, n.11, p 1728-1736, nov. 2013.

Foram observados casos em que o padrão de infiltração miometrial em pequenos aglomerados e células únicas apresentavam-se sem as outras características histológicas do MELF. Acredita-se que a infiltração em pequenas células seja um espectro mais agressivo do MELF, porém, sua ocorrência pode se dever a uma questão de amostragem (EUSCHER, 2013).

A frequência desse padrão de mioinvasão pode variar de 7% a 48% dos carcinomas endometriais mioinvasivos (QUICK, 2012; EUSCHER, 2013; ZAINO, 2014). MELF quase sempre se vincula ao adenocarcinoma endometriode graus 1 e 2 e geralmente está presente no local de maior profundidade da invasão miometrial (EUSCHER, 2013; HERTEL; HUETTNER; PFEIFER, 2014).

Quick et al (2012) avaliou o desfecho clínico de 324 casos de adenocarcinoma endometrial endometriode grau 1, comparando os diferentes padrões de mioinvasão, identificando, dentre os 75 casos estudados, 3 casos de padrão MELF associados a invasão linfovascular. Para Hertel, Huettner e Pfeifer (2014), que avaliaram 80 casos de carcinoma endometrial endometriode bem diferenciados, a aparência semelhante a histiócitos das células tumorais intravasculares associadas a esse padrão, pode dificultar o diagnóstico da invasão.

Com relação à invasão linfonodal, Hertel, Huettner e Pfeifer (2014) também identificaram correlação positiva e significativa entre MELF e metástase linfonodal, além de aumento na probabilidade de metástase com o aumento na quantidade desse padrão. Já Han et al (2014) compararam 18 casos de carcinoma endometrial endometriode grau I, estágio clínico I, associados a metástase linfonodal com 36 casos controle, sem acometimento linfonodal. Os autores identificaram a associação positiva entre MELF e metástase linfonodal, porém, sem significância estatística. Em outros dois estudos, sendo um comparando 185 casos de carcinoma endometrial endometriode bem ou moderadamente diferenciados não submetidos a esvaziamento linfonodal com 113 casos com linfadenectomia pélvica e/ou paraórtica (PAVLAKIS, 2011); e outro, avaliando 304 casos de carcinoma endometrial endometriode em todos os estágios e comparando grupos com e sem envolvimento linfonodal e/ou doença extra-uterina (EUSCHER, 2013); existe associação significativa com metástase linfonodal, porém há concomitância desse padrão com invasão linfovascular, o que pode representar um viés. Essa questão foi também levantada por Quick et al (2012), que não identificaram associação entre MELF e metástase linfonodal e ainda associaram esse padrão à invasão linfovascular.

Também tem se verificado a interferência do padrão de mioinvasão MELF na evolução clínica das pacientes com carcinoma endometrial endometriode. Quick et al (2012) observou que nenhum dos casos com padrão de mioinvasão puramente MELF tiveram recorrência da doença em 2 anos de acompanhamento. Já Pavlakis et al (2011) avaliaram 351 casos de adenocarcinoma endometrial endometriode para correlacionar o padrão de mioinvasão MELF com a ocorrência de metástase linfonodal. Identificaram que apenas 1 dos 33 casos foi à óbito após 5 anos devido a carcinoma de ovário concomitante, concluindo os autores que MELF se associa a melhor sobrevida. Já o estudo de Murray, Young e Scully (2012), ao avaliar o significado prognóstico do padrão de mioinvasão MELF em 115 casos de carcinoma endometrial endometriode relataram aumento na taxa de recorrência, mas baixa taxa de mortalidade.

Percebe-se que na maioria dos estudos sobre o assunto, os tumores eram mais frequentemente graus 1 e 2 (FIGO) e estágios clínicos I e II. Ressalta-se ainda que os carcinomas de baixo grau e de baixo estágio clínico, já apresentam reconhecidamente menor taxa de doença avançada e melhor sobrevida. Assim, numa população de casos com maior chance de evolução favorável, deve-se suspeitar de interferência do viés de amostragem nas taxas de metástase linfonodal, sobrevida e recorrência.

Já a presença de doença extrauterina foi estudada por Euscher et al (2013). Os autores examinaram fatores preditivos de doença extra-uterina ou de metástase à distância em 304 casos de carcinoma endometrial endometriode de baixo grau histológico (graus 1 e 2). Foi encontrado risco aumentado para esses eventos nos casos associados ao padrão MELF. Porém, a doença extrauterina foi considerada no mesmo grupo de metástase linfonodal. É importante avaliar em separado as duas variáveis, pois podem ocorrer por diferentes mecanismos de disseminação.

Com relação ao significado biológico, algumas evidências sugerem que as alterações funcionais e gênicas nesse padrão de mioinvasão se assemelham às da transição epitelial-mesenquimal (TEM). A TEM é o fenômeno em que uma célula epitelial madura sofre múltiplas modificações bioquímicas para assumir um fenótipo mesenquimal. Essa mudança ocorre durante o período de embriogênese, na regeneração de tecidos e associados à progressão tumoral. Na última situação, alterações moleculares levam a mudanças no fenótipo, que resultam em aumento da capacidade de migração, invasão e resistência a apoptose (KALLURI; WEINBERG, 2009; ZAINO, 2014).

A redução da adesão célula-célula e célula-matriz extracelular é essencial para o processo e é desencadeada pela redução ou perda de expressão de cadherinas, ocludinas, claudinas, desmoplaquinas. Vários fatores de transcrição são responsáveis por essa alteração, como Fator de Crescimento Transformador-Beta (TGFB), Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), Fator de Crescimento Insulina-1 (IGF1), Interleucina, Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta (PDGF), Integrina, Notch, Fator de Crescimento Fibroblástico (FGF) e Wnt/B-catenin (MIRANTES, 2013). A ativação de proteínas da família SMAD e espécies reativas de oxigênio também podem induzir o processo (KALLURI; WEINBERG, 2009).

A supressão da E-cadherin é mediada pelos fatores de transcrição Snail, Slug, E47, Twist, ZEB, HMGA2, os quais costumam estar hiperexpressos preferencialmente na margem invasiva do carcinoma endometrial endometriode. Interessantemente, a perda da expressão de E-cadherin é fator de pior prognóstico nos carcinomas endometriais tipos 1 e 2 (MIRANTES, 2013).

A molécula de adesão celular L1 (L1CAM) também tem sido associada à TEM e ao padrão MELF. Tem sido associada a um crescimento tumoral mais agressivo e invasivo ao agir como fator pró-angiogênico. Além disso, sua expressão indica pior prognóstico nos tumores em estágio I da FIGO (KOMMOSS, 2017).

Com relação à presença de mutações específicas de transição epitelial-mesenquimal no MELF, não se provou até o momento associação significativamente estatística com as mutações nos genes BRAF ou KRAS (STEWART, 2010).

Com relação ao perfil de expressão imuno-histoquímica, comparando-se o padrão de do MELF com áreas de mioinvasão convencional (ninhos de células neoplásicas bem circunscritas e lobuladas) observa-se expressão de CK7 (STEWART; CROOK; DOHERTY, 2010); CK19, proteína de baixo peso molecular com significado prognóstico em alguns tumores (STEWART, 2011); ciclina D1; as proteínas p16 e p21, reguladoras do ciclo celular (KIHARA, 2017); fascin, proteína ligante da actina que pode se encontrar hiperregulada em várias neoplasias malignas epiteliais e mesenquimais (STEWART; CROOK; MANSO, 2010; GUN, 2012) e S100A4, uma proteína da família S100, associada a progressão e metástase tumoral em vários tipos de câncer (TAHARA, 2016).

Por outro lado, há redução da expressão de receptores para estrogênio e progesterona, de E-cadherin (HAN, 2014); perda ou fragmentação da expressão

membranosa de B-catenin; ausência de expressão de Ki67, marcador expresso no núcleo fora da fase G0 (STEWART; CROOK; DOHERTY, 2010); redução da expressão de galectina-3, uma proteína de ligação a carboidratos multifuncional (STEWART; CROOK, 2010); redução da expressão de CD147, proteína indutora de metaloproteinase extracelular, e de MMP2 (metaloproteinase 2), embora a MMP2 seja positiva no estroma que circunda as células exibindo MELF (STEWART; CROOK, 2011). Também não há expressão de CD44v6 (pertencente à família de moléculas de adesão celular), que tem sido implicada como marcador prognóstico de neoplasias malignas epiteliais e não epiteliais (GUN, 2012).

Já o fenômeno reverso de transição mesenquimal-epitelial (TME) ainda é pouco conhecido, mas acredita-se envolver os genes do tumor de Wilms 1 (Wt1), o Pax2 e o Bmp7 (bone morphogenetic protein 7) (KALLURI; WEINBERG, 2009).

Mais recentemente um estudo sugeriu que MELF pode corresponder a uma alteração morfológica das células tumorais convencionais que evoluem para senescência. Essa sugestão foi baseada na positividade das células desse padrão para p16 e p21, o que pode indicar ativação de vias intracelulares de senescência (p16-Rb e ARF-p53-p21, respectivamente) (KIHARA, 2017).

A metástase linfonodal é o fator prognóstico mais importante no carcinoma endometrial (KOSKAS; ROUZIER; AMANT, 2015). Mesmo assim, ainda existe controvérsia quanto às indicações e à extensão de linfadenectomia nas pacientes com câncer endometrial e a prática varia amplamente entre cirurgiões e instituições (PAVLAKIS, 2011; NEUBAUER; LURAIN, 2011; HAN, 2014).

A extensão da avaliação linfonodal pode variar desde a simples palpação transperitoneal com biópsia dos linfonodos aumentados até a amostragem dirigida de um ou dois linfonodos de determinada cadeia linfática e a dissecação completa dos linfonodos pélvicos e para-aórticos (APPEL, 2015). Já o Manual de Condutas em Ginecologia Oncológica do Hospital A.C. Camargo recomenda linfadenectomia pélvica e retroperitoneal sistemática nos casos de histologia desfavorável, como carcinoma do endométrio tipo II, invasão de mais da metade da espessura endometrial, extensão istmo-cervical e doença extra-uterina (MENESES, 2010).

De fato, uma pesquisa sobre as estratégias terapêuticas utilizadas na prática diária de ginecologistas oncológicos demonstrou que 54% destes profissionais realizam sistematicamente a linfadenectomia retroperitoneal, 43,5% a fazem seletivamente após a individualização dos casos, e 2,5% nunca a realizam (APPEL,

2015). Nos estudos de Pavlaskis et al, 2011 e Quick et al, 2012, a taxa de realização do procedimento variou entre 34,8% e 54%, respectivamente.

Essa variação ocorre porque a linfadenectomia sistemática é considerada por alguns um procedimento associado à morbidade significativa (MARIANI, 2008; MENEZES, 2010; APPEL, 2015). Complicações podem ocorrer em até 24% dos casos, como as seguintes: lesão de vasos ou feixes nervosos, sangramento, trombose, linfedema, desenvolvimento de cistos linfáticos ou ascite quilosa (ALHILLI; MARIANI, 2013; HAN, 2014). O linfonodo sentinela, primeiro linfonodo a receber a células malignas de um tumor, pode reduzir a incidência dessas complicações (NEUBAUER; LURAIN, 2011), pois além de ser um procedimento menos invasivo, pode evitar a linfadenectomia regional se for negativo (FRIMER, 2010). Porém, há controvérsias sobre a superioridade do linfonodo sentinela sobre a linfadenectomia regional (NEUBAUER; LURAIN, 2011).

Há indícios de que o procedimento tenha efeitos terapêuticos em grupos de risco intermediário e alto, mas não em pacientes de baixo risco (NEUBAUER; LURAIN, 2011). Para Pavlakis et al (2011), pacientes com tumores graus 1 e 2, não apresentam aumento na sobrevida comparando o grupo que fez a linfadenectomia com grupo que não fez. Para outros autores, porém, a linfadenectomia não influencia no prognóstico das pacientes (QUICK, 2012).

Assim, para melhor seguimento clínico, esforços devem ser direcionados a identificar o subgrupo de pacientes com câncer endometrial que não vão se beneficiar de linfadenectomia, minimizando o super-tratamento (MARIANI, 2008). Dessa forma, é crucial desenvolver novos métodos para prever metástase linfonodal no carcinoma endometrial (HUANG, 2013; KOSKAS; ROUZIER; AMANT, 2015).

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Objetivos**

#### **2.1.1 Geral**

Avaliar o risco de metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometriode com padrão de mioinvasão MELF.

#### **2.1.2 Específicos**

1. Estabelecer o grau de concordância do diagnóstico de MELF feito por dois patologistas, pela avaliação das mesmas amostras;
2. Estimar o risco de desfechos desfavoráveis (recidiva e óbito) no carcinoma endometrial endometriode com padrão de mioinvasão MELF;
3. Correlacionar o padrão MELF com as características clinico-patológicas: idade, número de lâminas avaliadas, graus nuclear e histológico, número de linfonodos avaliados, profundidade de invasão miometrial, invasão vascular.

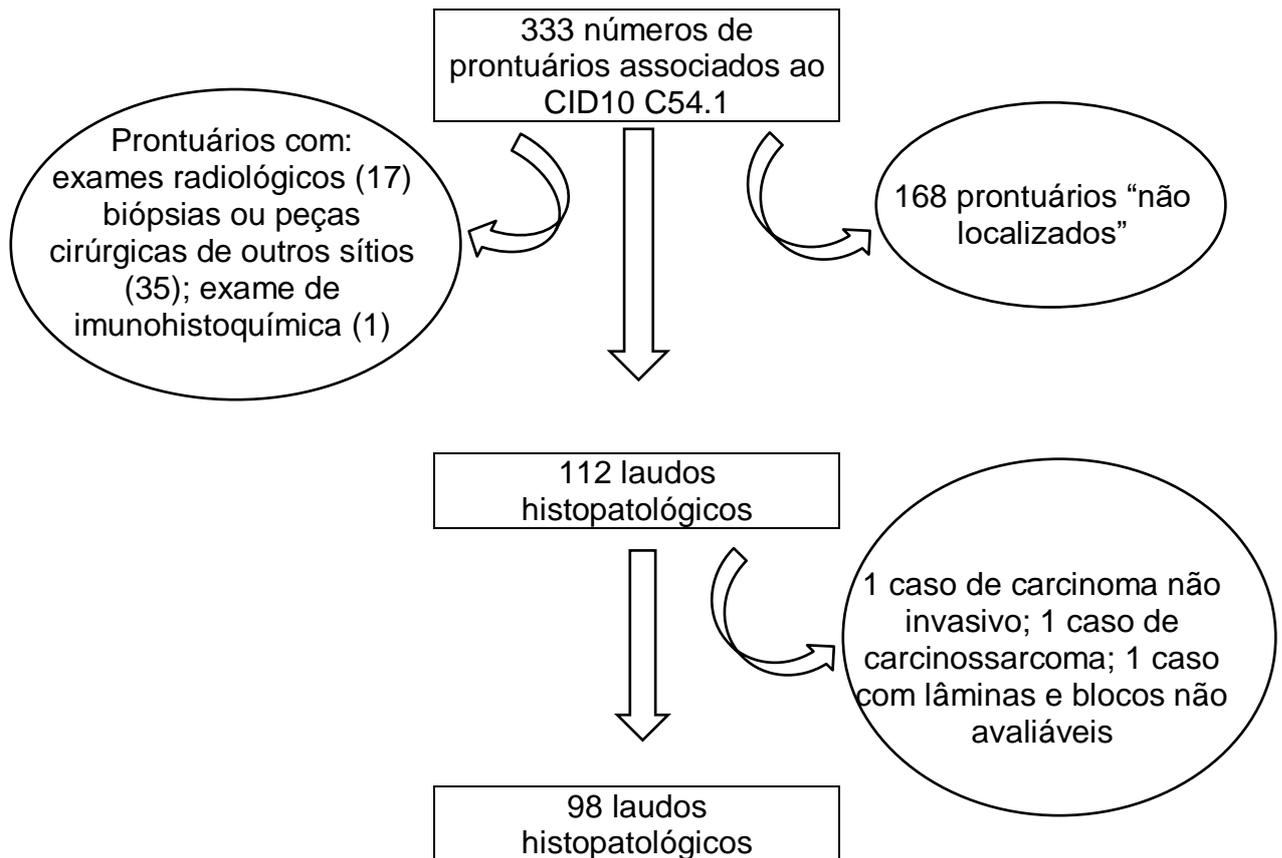
### **2.2 Materiais e métodos**

Trata-se de estudo observacional, caso-controle, retrospectivo, com laudos e lâminas histopatológicas consecutivos de peças cirúrgicas de carcinomas endometriais endometrioides obtidos por procedimento cirúrgico, referentes aos anos de 2010 a 2014, do Serviço de Patologia do Hospital do Câncer de Pernambuco.

No Registro Hospitalar de Câncer foram selecionados 333 números de prontuários associados ao CID10 C54.1 (Neoplasia maligna do endométrio) entre os anos de 2010 e 2014. Os critérios de inclusão foram: laudos histopatológicos com diagnóstico de carcinoma endometrial do tipo endometriode, mioinvasivos. Os critérios de exclusão foram: casos histopatológicos de carcinomas endometriais do tipo não endometrioides (subtipos: seroso, de células claras, carcinosarcoma,

indiferenciado); casos histopatológicos de neoplasias malignas metastáticas ou suspeitas de metástase para o útero.

O fluxograma abaixo demonstra como os casos foram selecionados, sendo excluídos primeiramente os prontuários e em seguida os laudos histopatológicos (após leitura de cada laudo) que não se adequaram aos critérios já descritos.



Fluxograma – Seleção de prontuários e laudos histopatológicos a serem incluídos no estudo.

Utilizando o sistema de busca de exames, foram excluídos 168 exames “não localizados”, que correspondem a prontuários cujas pacientes não realizaram procedimentos diagnósticos no Hospital do Câncer (diagnóstico externo). Dos outros 165 números de prontuários, 112 tinham laudos histopatológicos de peça cirúrgica de hysterectomia, sendo os demais excluídos, dos quais: 17 exames radiológicos (como ultrassonografia e radiografia), 35 biópsias ou peças cirúrgicas de outros sítios (ovário, vagina, colo, estômago, intestino e fêmur) e 1 exame de imuno-histoquímica. Após leitura dos 112 laudos histopatológicos restantes, 7 foram excluídos por corresponderem a carcinomas não endometriais (3 sarcomas, 2 carcinossarcomas, 1

carcinoma adenoescamoso e 1 carcinoma seroso) e 3 foram excluídos por não serem invasivos, restando 101 laudos histopatológicos.

Com base nos laudos histológicos, foram coletadas informações para o Questionário de Dados desenvolvido pela pesquisadora. Também foram selecionadas para leitura apenas as lâminas com representação tumoral no corpo e colo uterinos, totalizando 395 lâminas de histologia. Após leitura das lâminas, foram excluídos 1 caso de carcinoma não invasivo, 1 caso de carcinosarcoma e um caso cujas lâminas e blocos não estavam avaliáveis para leitura e recorte, restando 98 casos para análise estatística.

Todas as lâminas foram revisadas por dois patologistas generalistas com tempo de experiência semelhante em patologia cirúrgica. As avaliações foram realizadas em momentos diferentes, com intervalo de 1 semana. A pesquisadora foi a primeira patologista avaliadora. O patologista convidado não teve conhecimento do diagnóstico da primeira patologista. Como o segundo patologista não conhecia o padrão de mioinvasão MELF, antes da leitura das lâminas, lhe foram apresentados os critérios diagnósticos e imagens histológicas desse padrão, através de artigos já publicados.

Durante a leitura das lâminas, para o diagnóstico de MELF foram considerados todos os critérios histológicos já descritos nos artigos, sendo organizados em características primárias, definidoras desse padrão, e secundárias, que podem ou não se associar às primeiras.

Características primárias:

Estruturas que se destacam de glândulas neoplásicas típicas mais ao menos uma das características conceituais abaixo:

1. Microcistos revestidos por células com citoplasma eosinofílico e vagamente escamoide e que formam ocasionalmente tufos intraluminais;
2. Estruturas alongadas, com lúmen semelhante a fenda, revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou planas, semelhantes a endotélio;
3. Células individuais ou pequeno grupo de células.

Características secundárias (adicionalmente e dependentemente do diagnóstico de MELF):

1. Reação estromal compacta e celular;
2. Reação estromal edematosa (frouxa e pálida) e/ou mixoide (basofílico);
3. Neutrófilos associados;

4. Eosinófilos associados;
5. Linfócitos associados.

Para a análise de dados utilizou-se o SPSS versão 20 (ano 2011), inicialmente traçou-se o perfil da amostra a partir do estudo das medidas descritivas (média, mediana, desvio padrão, coeficiente de variação, mínimo e máximo), das variáveis quantitativas e das frequências percentuais das variáveis qualitativas, sendo então possível entender o comportamento da amostra em questão.

Para a verificação de possível relação existente entre o diagnóstico de MELF como fator de risco para a metástase linfonodal, aplicou-se uma Análise de Regressão Logística binária tendo como variável dependente a metástase linfonodal (presença ou ausência) e como variável explicativa o diagnóstico final (pós-reavaliação) de MELF. Este método é capaz de verificar se uma ou mais variáveis explicativas são estatisticamente significativas ( $p\text{-valor} < 0,05$  para o teste individual dos parâmetros) para o aumento ( $Beta > 0$ ) ou diminuição ( $Beta < 0$ ) da probabilidade de um indivíduo apresentar uma determinada característica (desfecho), em nosso caso, desenvolver a metástase linfonodal. Além disto, através da medida  $Exp(B)$  é possível mensurar em quanto o risco aumenta para um indivíduo ter aquele desfecho quando ele apresenta aquela variável explicativa (ter o diagnóstico de MELF) em relação ao indivíduo que não tem tal característica explicativa (não ter o diagnóstico de MELF). Foi aplicado o mesmo teste para a avaliação da relação entre MELF e desfechos desfavoráveis (recidiva e óbito).

Para a comparação dos resultados de diagnósticos de MELF realizados por dois patologistas em todas as pacientes, foram estudados os percentuais de concordância e discordância entre estes resultados, bem como os resultados para o Teste Exato de Fisher e análise das medidas de concordância Kappa, Coeficiente Phi, V de Crámer e Coeficiente de Contingência, com o objetivo de medir o grau de concordância e significância estatística da associação ou concordância entre os dois profissionais avaliadores.

Na análise de correlação (associação) entre o diagnóstico final de MELF e as variáveis faixa etária, número de lâminas, grau nuclear, grau histológico, número de linfonodos avaliados, profundidade de invasão miometrial e invasão linfovascular, aplicou-se a Regressão Logística binária para a análise multivariada e os testes Qui-quadrado de Independência e Teste Exato de Fisher nas análises univariadas. Estes últimos avaliam a hipótese nula de que o par de variáveis categóricas (por exemplo,

MELF e faixa etária) são independentes ( $p$ -valor $>0,05$ ) contra a hipótese alternativa de que não são ( $p$ -valor $<0,05$ ), ou seja, de alguma forma estão associados.

Para todos os testes estatísticos utilizou-se do nível de 5% de significância (Bussab e Morettin, 1987).

O projeto só foi iniciado após aprovação no Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco e do Hospital do Câncer de Pernambuco, sob a CAAE: 57332716.8.3001.5205.

### **2.3 Resultados e Discussão**

Com base nos resultados, em média a idade foi de 61,6 anos, com dispersão muito baixa (Coeficiente de Variação-CV=12,6%), indicando serem homogêneos em relação à idade. Além disto, a idade mínima registrada foi de 33 anos e a máxima de 78 anos.

Foram avaliadas em média 4 lâminas por casos, com mínimo de 2 lâminas e máximo de 9 lâminas. Não foi encontrado nenhum estudo que avaliasse o número de lâminas e a taxa de detecção do padrão MELF. Apenas um estudo descreveu o número médio de lâminas avaliadas (7 lâminas por caso) (KIHARA, 2017), acima do número médio de lâminas avaliadas no presente estudo (4 lâminas em média).

Em média os casos tiveram tempo de sobrevida de 36,3 meses, com dispersão moderada (CV=48,6%). Com relação à mediana, 50% das pacientes tiveram tempo de sobrevida de 36 meses (3 anos) e para todas as pacientes o tempo mínimo foi de 2 meses e máximo de 87 meses (aproximadamente 7 anos).

O tempo médio de acompanhamento de pacientes com carcinoma endometrial endometriode varia de 2,7 anos (ESPINOSA, 2017) até 7,2 anos (QUICK, 2012), enquanto no presente estudo, até a conclusão da coleta de dados, o período médio de acompanhamento das pacientes foi de 3 anos (36,34 meses).

Nos casos com amostragem linfonodal, foram registrados em média 7,67 linfonodos, com uma dispersão muito elevada entre eles (CV=95,5%), verificada também na elevada distância entre a quantidade mínima (1 linfonodos) e a máxima (32 linfonodos).

Até o momento, não há consenso quanto ao número mínimo de linfonodos a serem dissecados. Alguns autores recomendam ao menos 22 linfonodos (ALHILLI; MARIANI, 2013). Na prática, os valores médios relatados foram de 21 no centro de Câncer Memorial Sloan-Kettering, em Toronto, Canadá (HAN, 2014) a 20 linfonodos no Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, em Barcelona, Itália (ESPINOSA, 2017), enquanto no presente estudo a média foi de apenas 7. Além do número bem inferior ao relatado por outros autores, a grande variação entre a quantidade mínima e máxima de linfonodos coletados (1 e 36, respectivamente) revela a necessidade de critérios bem definidos de indicação e extensão do procedimento.

Na tabela 2 observa-se a distribuição de casos quanto aos graus nuclear e histológico, à presença de invasão vascular, à presença de amostragem linfonodal (paciente submetida a linfadenectomia), à profundidade de invasão miometrial e ao desfecho clínico.

Tabela 2 – Distribuição de frequência das variáveis: graus histológico e nuclear, invasão vascular, linfadenectomia, metástase linfonodal, invasão miometrial, desfecho.

	n	%		n	%
<b>Grau Histológico</b>			<b>Metástase linfonodal</b>		
1	59	60,2	Não se aplica	56	57,1
2	30	30,6	Sim	6	6,1
3	9	9,2	Não	36	36,7
<b>Grau Nuclear</b>			<b>Invasão miometrial</b>		
1	46	46,9	<50%	34	34,7
2	43	43,9	>=50%	64	65,3
3	9	9,2	<b>Desfecho</b>		
<b>Invasão Vascular</b>			Segmento	75	76,5
Presente	29	29,6	Óbito	14	14,3
Ausente	69	70,4	Doença recidivada	5	5,1
<b>Linfadenectomia</b>			Neoplasia de Colo e Mama	4	4,0
Sim	42	42,9%			
Não	56	57,1%			

No período médio de 3 anos da pesquisa, 76,5% dos casos de carcinoma endometrial endometrióide permaneceram em acompanhamento ambulatorial, 5,1% apresentaram recorrência da doença e 14,3% foram à óbito. A taxa de desfechos

desfavoráveis é inferior ao demonstrado no estudo de Bartosch et al (2015), que verificaram óbito pela doença em 44,4% dos pacientes, enquanto 51,1% persistiram livres da doença após um período de acompanhamento de 33,9 meses. Entretanto, essa taxa elevada de óbitos decorre de a maioria das pacientes neste artigo estarem em estágio avançado (FIGO III e IV), enquanto no atual estudo foram incluídas pacientes em todos os estágios da doença. Quick et al (2012) observou que nenhum dos casos com padrão de mioinvasão puramente MELF tiveram recorrência da doença em 2 anos de acompanhamento, enquanto Pavlakis et al (2011) identificaram que apenas 1 dos 33 casos foi à óbito após 5 anos devido a carcinoma de ovário concomitante.

O estadiamento cirúrgico é o método mais acurado para a detecção de metástase para linfonodos, que se não detectada, pode resultar em recidiva. Porém, enquanto o tratamento padrão no carcinoma do endométrio é a histerectomia abdominal total com salpingo-ooforectomia bilateral, ainda há pouco consenso sobre a indicação e extensão da linfadenectomia, assim como o número de linfonodos a serem dissecados (ALHILLI; MARIANI, 2013).

Tal situação é reproduzida no presente estudo, no qual a linfadenectomia foi procedida em 42,9% da amostra. Apesar dessa taxa representar a instituição como um todo, há variação na indicação do procedimento entre os cirurgiões do Hospital do Câncer de Pernambuco. Sabe-se que, de fato, a conduta pode mudar entre instituições e cirurgiões, variando de 49% (ESPINOSA, 2017) até 100% da amostragem (PELLETIER, 2017).

Pelletier et al (2017) realizaram pesquisa no departamento de patologia do Centro Hospitalar da Universidade de Montreal, no Canadá, no qual todas as pacientes com carcinoma do endométrio são rotineiramente submetidas à linfadenectomia. Adicionalmente, fizeram estudo imuno-histoquímico nas amostras de linfonodos para aumentar a taxa de detecção de células malignas. Mesmo assim, alcançaram uma taxa de 17,3% de metástase linfonodal entre 127 pacientes estudadas. Esse valor é próximo ao obtido por Frimer et al (2010), no Centro de Câncer Memorial Sloan-Kettering, que utilizaram análise imuno-histoquímica, dissecação linfonodal em 83,7% de 209 casos e detectaram metástases em 17% dos casos. No estudo de Bartosch, no qual a maioria das pacientes eram de estágio avançado (FIGO III e IV), foram identificadas metástases linfonodais em 69,6% das amostras. No presente estudo, essa taxa foi 14,2% (6 entre 42), valor próximo ao

descrito por alguns autores, mesmo sem a utilização de métodos diagnósticos adicionais (imuno-histoquímica) para a detecção das metástases. Esse resultado sugere ser a coloração de rotina pela hematoxilina e eosina eficaz na detecção da maioria das metástases.

Com relação ao impacto da adição de estudo imuno-histoquímico na detecção de metástases linfonodais, há registro de que citoqueratina AE1/AE3 contribuiu para o aumento de 32% na detecção de metástases nos casos positivos para MELF (ESPINOSA, 2017), inclusive na detecção de metástases do tipo células tumorais isoladas (depósito tumoral menor ou igual a 0,2 mm) e micrometástases (depósito tumoral >0,2 e <=2 mm) (HAN, 2014; ESPINOSA, 2017; PELLETIER, 2017). Porém, o valor prognóstico da metástase em células tumorais isoladas e da micrometástase no câncer endometrial endometriode ainda é controverso (FRIMER, 2010; ESPINOSA, 2017; PELLETIER, 2017), o que indica a necessidade de mais estudos para identificar a importância da imuno-histoquímica na detecção de metástases linfonodais no carcinoma endometrial endometriode.

Com relação ao diagnóstico de MELF, do total de 98 amostras, o primeiro patologista avaliador (patologista 1) identificou negatividade para MELF em 74/98, contra 24/98 de casos positivos. Enquanto na visão do segundo patologista (patologista 2), em 76/98 dos casos obteve-se resultado negativo para MELF contra 22/98 de casos positivos. Com relação ao diagnóstico final, de comum acordo entre os dois patologistas, observou-se que 77/98 dos casos foram classificados como negativos e 21/98 positivos para MELF.

Tabela 3 - Distribuição de diagnóstico de MELF para os patologistas 1 e 2 e diagnóstico final de MELF.

<b>MELF</b>	<b>P1</b>	<b>%</b>	<b>P2</b>	<b>%</b>	<b>Final</b>	<b>%</b>
<b>Não</b>	74	75,5	76	77,6	77	78,6
<b>Sim</b>	24	24,5	22	22,4	21	21,4
<b>Total</b>	98	100	98	100	98	100

P1= patologista avaliador 1; P2= patologista avaliador 2.

O padrão de mioinvasão MELF foi identificado em 21 de 98 casos após reavaliação e de comum acordo pelos dois patologistas. Em outros estudos, a taxa variou entre 8,9%, no estudo que avaliou 45 casos de carcinoma endometrial endometriode em vários estágios, predominantemente nos estágios III e IV (BARTOSCH, 2015), a 46,2%, em estudo que avaliou 54 casos de carcinoma

endometrial endometriode em estágio I (HAN, 2014). Entretanto, deve-se considerar que o artigo com maior taxa de utilizou reação imunohistoquímica com E-cadherin, enquanto o presente estudo utilizou apenas a coloração em hematoxilina e eosina, o que pode ter interferido na capacidade de detecção desse padrão.

A tabela 4 mostra a distribuição das características primárias e secundárias para os patologistas avaliadores.

Tabela 4 - Características primárias e secundárias, por quantidade de vezes que foi citada pelo patologista 1 e pelo patologista 2.

	Quantidade de casos com presença desta característica		% dos 24 casos positivos	
	P1	P2	P1	P2
<b>Características Primárias</b>				
Microcistos revestidos por células com citoplasma eosinofílico e vagamente escamoide e que formam ocasionalmente tufos intraluminais	22	20	91,6	90,9
Estruturas alongadas, com lúmen semelhante a fenda, revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou planas, semelhantes a endotélio	18	12	75	54,5
Células individuais ou pequeno grupo de células	6	2	2,8	9,0
<b>Características Secundárias</b>				
Reação estromal compacta e celular	1	0	4,1	0
Reação estromal edematosa e/ou mixoide	20	21	83,3	95,4
Neutrófilos associados	11	8	45,8	36,3
Eosinófilos associados	9	7	37,5	31,8
Linfócitos associados	20	13	83,3	59,0

P1= patologista avaliador 1; P2= patologista avaliador 2.

Pode-se perceber que a frequência das características primárias e secundárias foi semelhante entre os avaliadores. Dentre as características primárias, a mais citada foi “microcistos”, seguido de “fendas” e “grupos de células individuais”. De fato, as duas primeiras características são mais facilmente identificadas à coloração de

hematoxilina e eosina, principalmente quando associadas a reação estromal edematosa e/ou mixoide, sendo identificadas desde o menor aumento (aumento de 40x). Já a terceira (“grupos de células individuais”) requer maior atenção e leitura com lente de maior aumento (400x). O estroma mixoide, inclusive, pode ser uma sinalização para a detecção de MELF, podendo ser destacado com a coloração especial para mucina ácida (STEWART, 2009). Semelhante ao encontrado no estudo, para a maioria dos artigos as características mais descritas são: microcistos com células eosinofílicas e aparência alongada ou semelhante à fenda.

Com relação às características secundárias, a reação estromal edematosa e/ou mixoide foi mais identificada por ambos os avaliadores do que a reação estromal compacta e celular. O infiltrado inflamatório encontrado geralmente foi misto, sendo encontrados linfócitos, neutrófilos e eosinófilos.

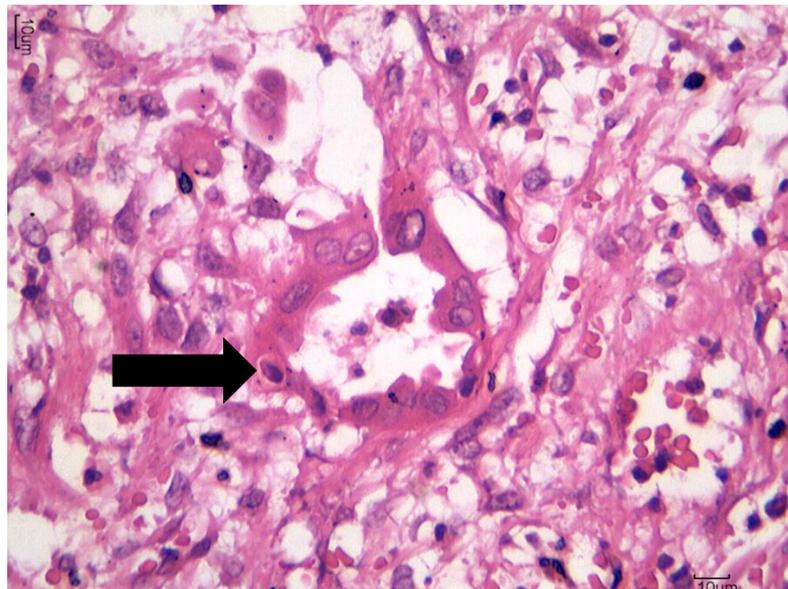


Figura 7– Estrutura microcística do padrão de mioinvasão MELF. Estrutura microcística revestida por células atípicas, com citoplasma eosinofílico (seta preta).  
Fonte: Dados do autor.

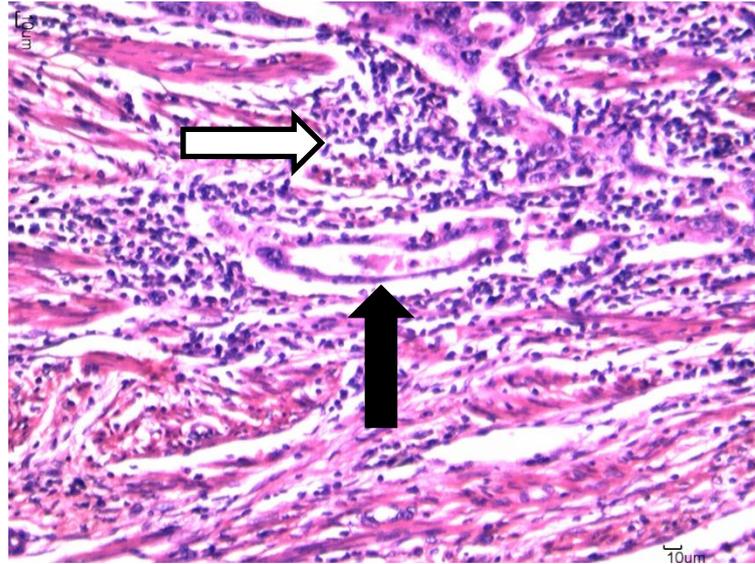


Figura 8 – Glândula alongada do padrão de mioinvasão MELF. Estrutura glandular alongada (seta preta). Em volta, infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico (seta branca).  
Fonte: Dados do autor.

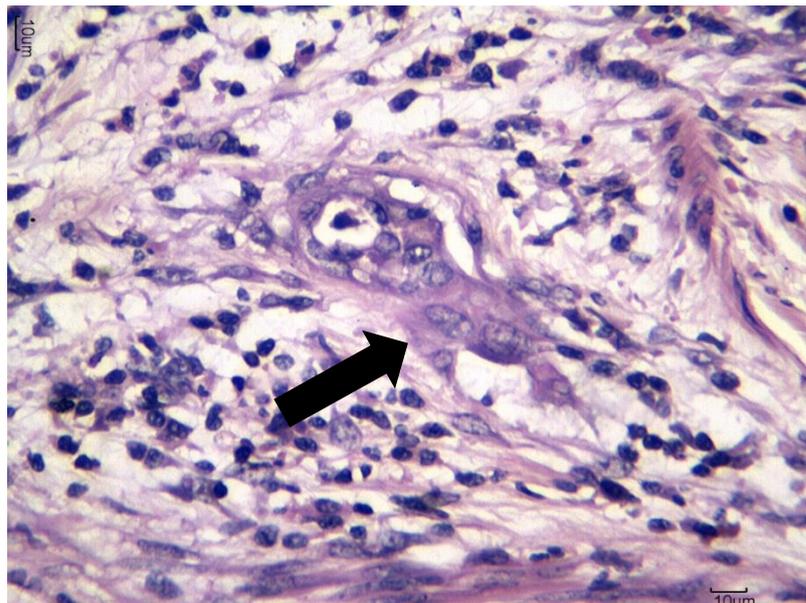


Figura 9- Pequeno conjunto de células do padrão de mioinvasão MELF. Pequeno agrupamento de células neoplásicas com citoplasma amplo, escamoide (seta preta). Fonte: dados do autor.

Foi verificado se os casos com diagnóstico final de padrão de mioinvasão MELF apresentaram maior risco de metástase linfonodal, sendo considerados apenas os casos positivos para linfadenectomia (42 casos). Pela tabela abaixo observa-se que ter MELF é um fator de risco significativo ( $p$ -valor muito próximo de 0,05) para o aumento ( $\text{Beta} > 0$ ) da probabilidade de a paciente desenvolver uma metástase linfonodal.

Tabela 5 – Avaliação da relação entre diagnóstico final de MELF e metástase linfonodal do carcinoma endometrial endometriode.

	<b>Beta</b>	<b>S.E.</b>	<b>Wald</b>	<b>Df</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp.(B)</b>
<b>Diagnóstico final de MELF</b>	1,82	0,94	3,70	1	0,05	6,2
<b>Constant</b>	-2,33	0,60	14,91	1	0	0,09

Os resultados da tabela abaixo mostram que 37,5% dos casos com diagnóstico final de MELF positivo (8 pacientes), tiveram também metástase linfonodal.

Tabela 6 - Metástase linfonodal e diagnóstico final de MELF.

		<b>Diag. final MELF</b>		<b>Total</b>	
		Não	Sim		
<b>Metástase linfonodal</b>	Não	n	31	5	36
		%	91,20%	62,50%	85,70%
	Sim	n	3	3	6
		%	8,80%	37,50%	14,30%
<b>Total</b>		n	34	8	42
		%	100,00%	100,00%	100,00%

A presença do padrão de mioinvasão MELF indica aumento no risco de metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometriode, podendo ser considerado fator de risco para tal evento. A presença de MELF aumenta em 6,2 vezes o risco de metástase linfonodal, quando comparado ao grupo sem esse padrão. Além disso, a maioria (91,2%) dos que não tiveram diagnóstico de MELF também não apresentaram metástase linfonodal. A ausência do padrão MELF reduz o risco de metástase linfonodal.

Os resultados encontrados são semelhantes a alguns estudos nos quais as taxas de metástase linfonodal no grupo com MELF varia de 48% dentre 101 casos avaliados (ESPINOSA, 2017) a 53,84% dentre 351 casos analisados (PAVLAKIS, 2011). Estes estudos encontraram risco aumentado e estatisticamente significativo de metástase linfonodal na presença do padrão de mioinvasão MELF. Pelletier et al (2017) e Han et al (2014) não encontraram resultados estatisticamente significativos, apesar de detectarem tendência de maior risco. Deve-se destacar que Pelletier et al (2017) e Han et al (2014) utilizaram estudo imuno-histoquímico com citoqueratina nas

amostras linfonodais, o que aumenta a taxa de detecção de metástases, como comentado anteriormente.

Deve-se salientar que a metástase linfonodal associada a MELF pode se apresentar com morfologia muito sutil, podendo ser confundido com histiocitose sinusal ou implantes de células epiteliais não invasivas (PAVLAKIS, 2011; HERTEL; HUETTNER; PFEIFER, 2014; PELLETIER, 2017). Por isso, na presença de MELF deve-se procurar cuidadosamente por metástases linfonodais (HAN, 2014). Essa típica morfologia sutil pode ter contribuído para a baixa taxa de metástase linfonodal através da análise por coloração histológica de rotina (hematoxilina e eosina), além da não utilização de exames auxiliares, como o imuno-histoquímico.

Sabe-se que a invasão vascular está associada a metástase linfonodal (ESPINOSA, 2017), portanto, esta variável pode alterar a relação entre MELF e metástase. Desta forma, buscou-se verificar se a invasão vascular altera a relação existente entre presença de MELF e o risco de ter metástase, como demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 7 – Relação entre diagnóstico de MELF e metástase linfonodal, por presença ou ausência de invasão vascular.

<b>Invasão Vascular</b>		<b>Beta</b>	<b>S.E.</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp(B)</b>
<b>Presente</b>	Diag. final MELF	-19,59	28420,72	0	1	0,99	0,00
	Constant	-1,60	0,77	4,31	1	0,03	0,2
<b>Ausente</b>	Diag. final MELF	3,04	1,30	5,40	1	0,02	21
	Constant	-3,04	1,02	8,84	1	0,00	0,04

De acordo com os resultados acima, dentre os casos com amostragem de linfonodos, quando a invasão vascular está presente, o fato de a paciente ter MELF não é um fator significativo ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) para o desenvolvimento de metástase linfonodal. Por outro lado, quando a invasão vascular está ausente, apresentar diagnóstico final de MELF é um fator de risco ( $p\text{-valor} < 0,05$ ) para o aumento (Beta > 0) da probabilidade da paciente desenvolver uma metástase linfonodal, sendo este risco 21 vezes maior do que numa paciente sem MELF.

A invasão vascular é uma característica histológica reconhecidamente associada ao aumento do risco de metástase linfonodal (FRIMER, 2010; PAVLAKIS, 2011; ESPINOSA, 2017). Esteve presente em 29,6% do total de amostras e em 42,9% (9 em 21) dos casos com padrão MELF. Outros autores encontram taxas de 66,6%

dentre 5 casos positivos para MELF (QUICK, 2012) até 89% de invasão vascular associada aos 25 casos positivos para MELF (HAN, 2014). Há indícios, inclusive, de que a tendência de associação de MELF com invasão vascular provavelmente decorra do fato de ser um fenômeno de transição epitelial-mesenquimal (COLE; QUICK, 2013).

Apesar de alguns autores relacionarem o aumento no risco de metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometriode com padrão MELF à presença concomitante de invasão vascular (PAVLAKIS, 2011; QUICK, 2012), ficou demonstrado nesse estudo que mesmo na ausência, e principalmente na ausência, de invasão vascular o padrão MELF representa fator de risco significativo ( $p=0,02$ ) para ocorrência de metástase linfonodal. Há inclusive, aumento de 21 vezes no risco de metástase linfonodal nos pacientes com MELF. Logo, o achado do presente estudo corrobora o valor prognóstico dessa característica histológica, principalmente nos casos em que não se detecta invasão vascular.

Como pode ser percebido na tabela a seguir, os coeficientes Phi, V de Cramer, Coeficiente de Contingência mostram associação moderada e significativa entre os resultados dos dois patologistas. Além disto, existe uma concordância moderada ( $kappa=0,489$ ) e significativa ( $p\text{-valor}<0,05$ ) entre os resultados dos dois patologistas. Estes resultados confirmam a hipótese de que existe moderada concordância diagnóstica entre os avaliadores.

Tabela 8 - Coeficientes de Associação e Concordância entre os resultados de MELF para os dois patologistas.

	Valor	p-valor
<b>Phi</b>	0,49	0,00
<b>V de Cramer</b>	0,49	0,00
<b>Coef. de contingência</b>	0,44	0,00
<b>Kappa</b>	0,48	0,00
<b>Número de casos válidos</b>	98	

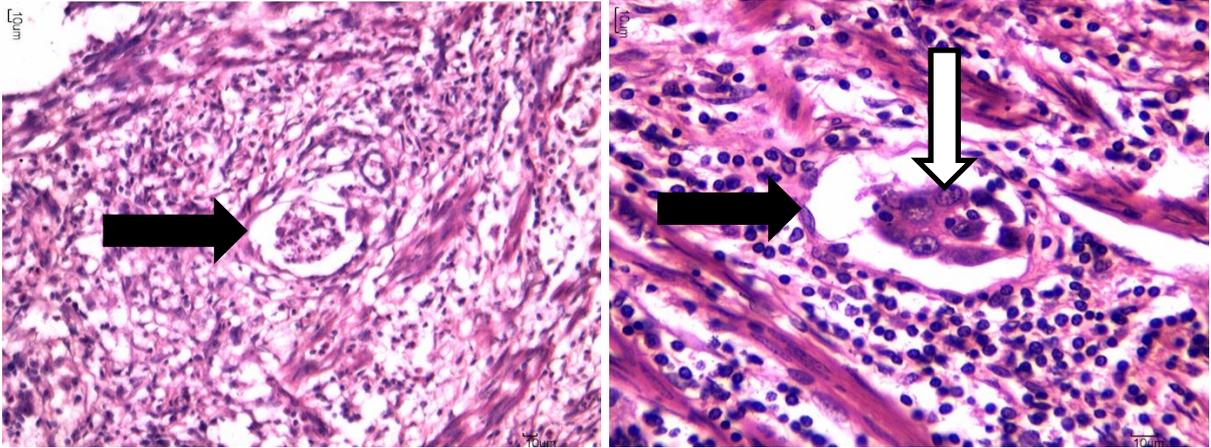
Ocorreu concordância diagnóstica em 80 casos, sendo 14 destes casos positivos para MELF. Sete dos 18 casos discordantes ocorreram pela não identificação dos critérios histológicos por um dos patologistas avaliadores, 9 casos pela inadequação de critérios citológicos, um por artefato de retração e invasão linfática simulando estroma frouxo e um por artefato de autólise, simulando estroma

frouxo. Durante a avaliação conjunta dos dois patologistas, detectou-se que a maioria dos 18 casos discordantes ocorreu pela não identificação dos critérios histológicos ou pela inclusão de casos com inadequação de critérios citológicos (sem citoplasma escamoide).

Essas situações podem ocorrer na prática diária, pois essas glândulas podem se assemelhar a histiócitos (STEWART, 2009; COLE; QUICK, 2013). Além disso, a falta de familiaridade com padrão de mioinvasão pouco convencional como este pode ter resultado em discordância entre os avaliadores, conforme descrevem Selove, Bradford e Lu, 2016, que compararam características histológicas de 260 casos de carcinomas endometriais endometrioides no intraoperatório (exame de congelação) e no exame histológico de rotina (tecido fixado em formol e embebido em parafina, corado em hematoxilina e eosina).

Sabe-se que as alterações estromais e citológicas no MELF podem simular invasão linfovascular (HAN, 2014). De fato, a discordância por artefato de retração e invasão linfática simulando estroma frouxo e por artefato de autólise, também simulando estroma frouxo, ocorreram em 2 casos. O reconhecimento da atipia nas células que revestem as fendas direciona para o diagnóstico desse padrão peculiar (SELOVE; BRADFORD; LIU, 2016). Além disso, o estudo imuno-histoquímico (com CD31, CD34 e D2-40, por exemplo) poderia auxiliar na distinção entre invasão linfovascular e artefato de retração (STEWART, 2009).

A padronização dos critérios histológicos do MELF é imprescindível para garantia da qualidade dos resultados de uma pesquisa e para possível reprodutibilidade diagnóstica em laudos histopatológicos. O achado de concordância moderada e significativa entre os patologistas avaliadores indica que os critérios utilizados são reprodutíveis e que o padrão de mioinvasão MELF pode ser utilizado como fator prognóstico no laudo histopatológico de carcinoma endometrial do tipo endometriode.



Figuras 10 e 11 – Morfologia sutil de glândula com padrão MELF, simulando vaso linfático. À esquerda: estrutura microcística revestida por células planas (seta preta). À direita: vaso linfático (seta preta) com êmbolo tumoral (seta branca).

Fonte: Dados da autora.

Ao avaliar a relação entre MELF e a ocorrência de desfechos desfavoráveis, vê-se, pelos resultados da tabela abaixo, que existe uma tendência (p-valor muito baixo) de relação significativa entre o diagnóstico final de MELF e o aumento (Beta>0) na probabilidade de ocorrência de óbito, recidiva ou combinações destas.

Tabela 9 – Relação entre diagnóstico final de MELF e desfecho desfavorável (óbito ou recidiva).

	Beta	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
<b>Diag. final de MELF</b>	0,99	0,55	3,17	1	0,07	2,70
<b>Constant</b>	-1,68	0,31	28,91	1	0,00	0,18

A presença de MELF tende a aumentar o risco de eventos desfavoráveis (recidiva e óbito) em 2,7 vezes (p=0,075). Porém, outros autores encontraram resultados diferentes, com tendência a maior sobrevida, sem tendência a recorrência ou morte pela doença (PAVLAKIS, 2011; QUICK, 2012). Roma et al (2015) encontraram resultados semelhantes a estes últimos, porém, identificaram maior risco de recorrência vaginal em pacientes com padrão MELF. Segundo esses últimos autores, é possível que células tumorais residuais na parede vaginal após a cirurgia possam desenvolver novo tumor.

Em contrapartida, Kihara et al (2017), analisando 479 pacientes com carcinoma endometriode de baixo grau, não identificaram diferença estatisticamente significativa na sobrevida específica da doença ou na sobrevida livre de recorrência entre os grupos com e sem MELF. Segundo esses autores, a expressão de p16 e p21 nas células do MELF está associado à ativação de vias envolvidas na parada do

crescimento e na senescência celular. Por isso, o padrão MELF não interferiria na evolução da paciente.

Analisando todas as variáveis conjuntamente é possível verificar na tabela abaixo quais contribuem para o aumento ou diminuição da probabilidade de ocorrência de MELF. Apenas a profundidade da invasão miometrial ( $\geq 50\%$ ) foi significativa ( $p\text{-valor} < 0,05$ ) como um fator de risco para o aumento ( $\text{Beta} > 0$ ) da probabilidade do diagnóstico positivo para MELF. Além disso, um indivíduo com invasão em 50% ou mais da espessura miometrial tem 15 vezes mais chances de ter MELF do que um indivíduo com profundidade de invasão  $< 50\%$ .

Tabela 10 – Relação entre características clínico-patológicas e probabilidade de diagnóstico de MELF.

	B	S.E.	Wald	Df	Sig.	Exp(B)
Idade	-0,02	0,03	0,69	1,00	0,40	0,97
Número de Lâminas	0,15	0,20	0,60	1,00	0,43	1,16
Grau Histológico (2)	-0,94	0,69	1,85	1,00	0,17	0,39
Grau Histológico (3)	-1,30	1,24	1,10	1,00	0,29	0,27
Grau Nuclear (2)	-0,03	0,59	0,00	1,00	0,95	0,96
Grau Nuclear (3)	2,09	1,19	3,06	1,00	0,08	8,12
Invasão vascular	0,46	0,60	0,58	1,00	0,44	1,58
Número de linfonodos	-0,05	0,06	0,58	1,00	0,44	0,94
Invasão miometrial ( $\geq 50\%$ )	2,75	1,09	6,39	1,00	0,01	15,78
Constant	-2,26	2,52	0,80	1,00	0,37	0,10

O diagnóstico de MELF é independente ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) da faixa etária. Há tendência de maior incidência de MELF entre as idades de 50 e 70 anos (tabela 11) e nas amostras com 3 a 6 lâminas por caso (tabela 12). Assim como o presente estudo, outros autores não conseguiram demonstrar diferença significativa na idade entre pacientes com e sem MELF (ESPINOSA, 2017; KIHARA, 2017).

Tabela 11 – Diagnóstico MELF e faixas etárias.

		Diag. final de MELF		Total	p-valor	
		Não	Sim			
<b>Faixa Etária</b>	Menos de 50 anos	n	4	2	6	0,64
		%	5,20%	9,50%		
	Entre 50 e 70 anos	n	65	16	81	
		%	84,40%	76,20%	82,70%	
	Mais de 70 anos	n	8	3	11	
		%	10,40%	14,30%	11,20%	
<b>Total</b>	n	77	21	98		
	%	100,00%	100,00%	100,00%		

Tabela 12 – Diagnóstico MELF e número de lâminas.

		Diag. final de MELF		Total	p-valor	
		Não	Sim			
<b>Número de lâminas</b>	Menos de 3	n	8	2	10	0,65
		%	10,40%	9,50%		
	3 a 6	n	63	16	79	
		%	81,80%	76,20%	80,60%	
	Mais de 6	n	6	3	9	
		%	7,80%	14,30%	9,20%	
<b>Total</b>	n	77	21	98		
	%	100,00%	100,00%	100,00%		

Como mostram as tabelas 13 e 14, o diagnóstico de MELF é independente ( $p$ -valor $>0,05$ ) do grau histológico e do grau nuclear. O grau histológico 1 e o grau nuclear 2 estão associados a maior risco de diagnóstico MELF. A maioria dos estudos avaliam o grau histológico, encontrando maior frequência de MELF nos graus histológicos 1 e 2 (STEWART, 2009; STEWART; CROOK, 2010).

Tabela 13 – Diagnóstico MELF e Grau nuclear.

			Diag. final de MELF		Total	p-valor
			Não	Sim		
<b>Grau nuclear</b>	1	n	38	8	46	0,19
		%	49,40%	38,10%	46,90%	
	2	n	34	9	43	
		%	44,20%	42,90%	43,90%	
	3	n	5	4	9	
		%	6,50%	19,00%	9,20%	
<b>Total</b>	n	77	21	98		
	%	100,00%	100,00%	100,00%		

Tabela 14 – Diagnóstico MELF e grau histológico.

			Diag. final de MELF		Total	p-valor
			Não	Sim		
<b>Grau histológico</b>	1	n	46	13	59	0,55
		%	59,70%	61,90%	60,20%	
	2	n	25	5	30	
		%	32,50%	23,80%	30,60%	
	3	n	6	3	9	
		%	7,80%	14,30%	9,20%	
<b>Total</b>	n	77	21	98		
	%	100,00%	100,00%	100,00%		

O diagnóstico de MELF está associado ( $p\text{-valor} < 0,05$ ) à profundidade de invasão miometrial. De todos os pacientes com MELF (21 pacientes), cerca de 95% tem também invasão miometrial maior ou igual a 50%. Por outro lado, os pacientes sem MELF tendem a ter percentuais próximos para invasão menor e maior ou igual a 50%.

Tabela 15 – Diagnóstico MELF e profundidade de invasão miometrial.

		Diag. final de MELF		Total	p-valor	
		Não	Sim			
<b>Invasão Miometrial</b>	<50%	n	33	1	34	0,00
		%	42,90%	4,80%		
	≥50%	n	44	20	64	
		%	57,10%	95,20%	65,30%	
<b>Total</b>	n	77	21	98		
	%	100,00%	100,00%	100,00%		

Quando se comparou os grupos com e sem MELF, identificou-se que a maioria (95,2%) dos diagnósticos de MELF estavam associados a extensão tumoral em 50% ou mais da espessura miometrial ( $p=0,001$ ). Os resultados de outros estudos são conflitantes. Por exemplo, Quick et al (2012), ao avaliar 324 casos de carcinoma endometrial endometriode de baixo grau no Hospital da Mulher, em Boston, estados Unidos, identificaram MELF mais frequentemente associado a profundidade de invasão em até 50% da espessura miometrial. Porém, outro estudo retrospectivo realizado no Centro de Câncer e Saúde da Universidade de Saúde de Orlando, avaliou 293 casos de carcinoma endometrial comparando grupos com e sem MELF, obtiveram resultado semelhante ao do presente trabalho e com resultado estatisticamente significativo (GENNETTE, 2017).

A extensão tumoral em 50% ou mais da espessura miometrial foi a mais comumente encontrada no estudo, ao contrário de outros artigos, que relatam maior frequência de invasão miometrial até 50% no carcinoma endometrial endometriode (KIHARA, 2017; PELLETIER, 2017). Esse achado pode decorrer de, no atual artigo serem consideradas pacientes em diferentes estágios, enquanto, na maioria dos artigos serem incluídas apenas pacientes em estágios iniciais.

Algumas discordâncias entre a presente pesquisa e artigos já publicados com relação ao valor prognóstico de características histológicas do carcinoma endometrial endometriode, como o MELF, indicam necessidade de mais estudos com maior amostragem, preferencialmente prospectivos, para definição do valor prognóstico do MELF. Além disso, novos estudos utilizando imuno-histoquímica poderiam auxiliar na detecção de MELF, de metástases linfonodais e de invasão linfovascular.

### 3 CONCLUSÃO

O padrão de mioinvasão MELF é fator de risco para metástase linfonodal no carcinoma endometrial endometrióide. Além disso, essa característica é mais fortemente associada ao risco de metástase linfonodal na ausência de invasão linfovascular no estroma tumoral. Tais achados indicam a importância de pesquisar tal padrão morfológico em casos de carcinoma endometrial endometrióide.

Os critérios diagnósticos de MELF utilizados são reprodutíveis, podendo esse padrão de mioinvasão ser utilizado como fator prognóstico no laudo histopatológico de carcinoma endometrial do tipo endometrióide.

Existe maior risco de desfechos desfavoráveis (óbito e recidiva) no carcinoma endometrial endometrióide associado a MELF.

A invasão miometrial maior ou igual a 50% associa-se ao aumento estatisticamente significativo no risco de MELF.

Os fatores idade, número de lâminas avaliadas, graus nuclear e histológico, número de linfonodos avaliados e invasão vascular não se relacionam com padrão de mioinvasão MELF.

## REFERÊNCIAS

- ALHILLI, M.; MARIANI M. The role of para-aortic lymphadenectomy in endometrial câncer. **International Journal of Clinical Oncology**, Rochester, v. 18, n. 2, p. 193-199, fev. 2013.
- APPEL, M. et al. Adenocarcinoma de endométrio: epidemiologia, tratamento e sobrevivência de pacientes atendidas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **Clinical and biomedical research**, Porto Alegre, v. 35, n. 1, p. 27-34, nov./dez. 2015.
- BARTOSCH, C et al. Endometrial endometrioid carcinoma metastases show decreased ER-alpha and PR-A expression compared to matched primary tumors. **PLoS One**, Porto, v. 10, n. 8, ago. 2015.
- BUHTOJAROVA, T. et al. Role of Current and Emerging Biomarkers in Resolving Persistent Clinical Dilemmas. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 145, n. 1, p. 8–21, jan. 2016.
- BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. **Estatística Básica**. 4. ed. São Paulo: Ed. Atual Editora, 1987.
- COLE, A.; QUICK, C. Patterns of myoinvasion in endometrial adenocarcinoma: recognition and implications. **Advances in Anatomic Pathology**, Little Rock, v. 20, n. 3, p.141-147, mai. 2014.
- Colombo, N et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**, Milan, v. 27, n.1, p. 16-41, jan 2015.
- CONLON, N. et al. Grading Uterine Endometrioid Carcinoma, A Proposal That Binary Is Best. **American Journal of Surgical Pathology**, New York, v. 38, n.12, p. 1583-87, jan. 2014.
- ESPINOSA, I. et al. Endometrioid Endometrial Carcinomas with MELF-type of Myoinvasion: Role of Immunohistochemistry in the Detection of Occult Lymph Node Metastases and their Clinical Significance. **Human Pathology**, Barcelona, v. 70, n.6, p. 6-13, mai. 2017.
- EUSCHER, E. et al. The Pattern of Myometrial Invasion as a Predictor of Lymph Node Metastasis or Extrauterine Disease in Low-grade Endometrial Carcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, Houston, v. 37, n.11, p 1728-1736, nov. 2013.
- FRIMER, M et al. Micrometastasis of endometrial câncer to sentinela lymph nodes: Is it an artifact of uterine manipulation? **Gynecology Oncology**, New York, v. 119, p. 496-499, 2010.

GENNETTE, S. et al. Endometrial cancer patients with a MELF gland pattern treated with hysterectomy only are at an increased risk of lymph node involvement. **Gynecology Oncology**, Orlando, v. 145, p. 2-220, mai. 2017. Resumo.

GOLDBERG, A. et al. Microcystic, Elongated, and Fragmented Pattern Invasion Endometrioid Carcinoma: Immunohistochemical Profile and Prognostic Implications. **International Journal of Gynecological Pathology**, Baltimore, v. 37, n. 1, p. 44-51, jan. 2017.

GREENACRE, M. J. **Correspondence Analysis in Practice**. 2. ed. Barcelona: Ed. Chapman & Hall/CRC, 2007.

GUN, B. et al. Clinicopathological significance of fascin and CD44v6 expression in endometrioid carcinoma. **Diagnostic pathology**, Koslu, v. 7, n. 80, p. 1-7, jul. 2012.

HAN, G. et al. Histological features associated with occult lymph node metastasis in FIGO clinical stage I, grade I endometrioid carcinoma. **Histopathology**, New York, v. 64, n. 3, p. 389-398, nov. 2014.

HERTEL J.; HUETTNER P.; PFEIFER D. Lymphovascular Space Invasion in Microcystic Elongated and Fragmented (MELF) Pattern Well-differentiated Endometrioid Adenocarcinoma is Associated With a Higher Rate of Lymph Node Metastasis. **International Journal of Gynecological Pathology**, St Louis, n. 33, n. 2, p.127–134, mar. 2014.

HUANG Y. et al. VEGF-c expression in an in vivo model of orthotopic endometrial cancer and retroperitoneal lymph node metastasis. **Reproductive Biology and Endocrinology**, Guangdong, v. 11, n.49, p. 127-134, mai. 2013.

KALLURI R.; WEINBERG, R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. **Journal of Clinical Investigation**, Boston, v. 119, n. 6, p. 1420-1428, jun. 2009.

KIHARA, A et al. Clinicopathologic association and prognostic value of microcystic, elongated, and fragmented (MELF) pattern in endometrial endometrioid carcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, Tokio, v. 4, n. 7, p. 896–905, jul. 2017.

KOMMOSS, F. et al. L1CAM: amending the “low-risk” category in endometrial carcinoma. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, Tübingen, v. 142, n. 2, p. 255-262, set. 2017.

KOSKAS; M.; ROUZIER R.; AMANT, F. Staging for endometrial cancer: the controversy around lymphadenectomy-can this be resolved? **Clinical Obstetrics & Gynaecology**, France, v. 29, n. 6, p. 845-857, mar. 2015.

KURMAN, R.; ELLENSON L. H.; RONNETT B. M. **Blaustein’s Pathology of the Female Genital Tract**. 6. ed. Londres: Ed. Springer, 2011.

MARIANI A. et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: A paradigm shift in surgical staging. **Gynecology Oncology**, Rochester, v. 109, n. 1, p. 11-18, mar. 2008.

MENEZES A. et al. **Manual de Condutas em Ginecologia Oncológica/Hospital A.C.Camargo**. 1. ed. São Paulo: Ed. FAP, 2010.

MIRANTES, C et al. Epithelial-to-mesenchymal transition and stem cells in endometrial cancer. **Human Pathology**, Madrid, v. 44, n. 10, p. 1973-1981, abr. 2013.

MURRAY, S.; YOUNG, R.; SCULLY, R. Unusual epithelial and stromal changes in mioinvasive endometrioid adenocarcinoma: a study of their frequency, associated diagnostic problems, and prognostic significance. **International Journal of Gynecology Pathology**, Baltimore, v. 22, n. 4, p. 324-333, out. 2003.

NEUBAUER, N.; LURAIN, J. The Role of Lymphadenectomy in Surgical Staging of Endometrial Cancer. **International Journal of Surgical Oncology**, Chicago, v. 2011, n. 814649, jul. 2011.

PAVLAKIS K. et al. MELF invasion in endometrial cancer as a risk factor for lymph node metastasis. **Histopathology**, Athens, v. 58, n. 6, p. 966-73, mai. 2011.

PELLETIER, M et al. Microcystic, elongated, and fragmented pattern invasion is mainly associated with isolated tumor cell pattern metastases in International Federation of Gynecology and Obstetrics grade I endometrioid endometrial cancer. **Human Pathology**, Montreal, v. 62, n. 2, p. 33-39, abr. 2017.

QUICK, C. et al. Low-grade, Low-stage Endometrioid Endometrial Adenocarcinoma: A Clinicopathologic Analysis of 324 Cases Focusing on Frequency and Pattern of Myoinvasion. **International Journal of Gynecology Pathology**, Boston, v. 31, n. 4, p. 337-343, jul. 2012.

ROMA, A. et al. Risk factor analysis of recurrence in low-grade endometrial adenocarcinoma. **Human Pathology**, Cleveland, v. 46, n. 10, p. 1529-1538, jun. 2015.

SELOVE, W; BRADFORD, L.; LIU Y. Assessing resident's frozen section skills for endometrial cancer. **International Journal of Gynecology Pathology**, Baltimore, v. 35, n. 5, p. 402-409, set. 2015.

STEWART, C.; CROOK, M.; MANSO, L. Fascin expression. In low-grade uterine endometrioid adenocarcinoma: correlation with microcystic, elongated and fragmented (MELF)-type alteration at the deep invasive margin. **Histopathology**, Perth, v. 59, n. 1, p. 73-80, jun. 2011.

STEWART, C.; CROOK, M. CD147 (EMMPRIN) and matrix metalloproteinase-2 expression in uterine endometrioid adenocarcinoma. **Pathology – Research and Practice**, Perth, v. 206, n. 1, p. 30-36, jan. 2011.

STEWART, C.; CROOK, M.; DOHERTY, D. Micro-anatomical variation in cellular proliferation in endometrial adenocarcinoma, and inverse correlation between Ki67 and cytokeratin 7 expression. **Histopathology**, Perth, v. 51, n. 1, p. 46-54, jul. 2010.

STEWART, C.; CROOK, M. Galectin-3 expression in uterine endometrioid adenocarcinoma: comparasion of staining in conventional tumor glands and in áreas of MELF pattern myometrial invasion. **International Journal of Gynecology Pathology**, Baltimore, v. 29, n. 6, p. 555-561, nov. 2010.

STEWART, C. et al. Cytokeration 19 expression in normal endometrium and low-grade endometrioid adenocarcinoma of the endometrium. **International Journal of Gynecology Pathology**, Baltimore, v. 30, n. 5, p. 484-491, set. 2011.

STEWART, C. et al. KRAS mutation and microsatelliteinstability in andometrial adenocarcinomas showing MELF-type myometrial invasion. **Journal of Clinical Pathology**, Perth, v. 63, n. 7, p. 604-608, jul. 2010.

STEWART, C. et al. MELF pattern invasion in endometrial carcinoma: association with low grade, myoinvasive endometrioid tumors, focal ucinous differentiation and vascular invasion. **Pathology**, Perth, v. 41, n. 5, p. 454-459, ago. 2009.

TAHARA, S. et al. S100A4 accelerates the proliferation and invasion of endometrioid carcinoma and is associated with the "MELF" pattern. **Cancer Sci**, Osaka, v. 107, n. 9, p. 1345-1352, set. 2016.

ZAINO J. Unusual Patterns of Endometrial Carcinoma Including MELF and its Relation to Epithelial Mesenchymal Transition. **International Journal of Gynecology Pathology**, Hershey, v. 33, n. 4, p. 357-364, jul. 2014.

World Health Organization. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. Disponível em <<http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>>. Acesso em 01 nov. 2017.

## APÊNDICE A – Questionário de dados para o patologista 1.

Número no serviço:		Prontuário:	
Idade ao diagnóstico:		Profundidade de mioinvasão:	<50% ( ) >=50%( )
Grau histológico:	G1 ( ) G2 ( ) G3 ( )	Grau nuclear:	G1 ( ) G2 ( ) G3 ( )
Invasão linfovascular:	Sim ( ) Não ( )	Número de lâminas:	
Linfonodos ressecados? Se sim, quantos?	Sim ( ) Não ( )	Tempo de acompanhamento (meses):	
Metástase linfonodal:	Sim ( ) Não ( )	Desfecho:	Seguimento ( ) Recidiva ( ) Óbito ( )
Patologista 1 Marque X na coluna à direita quando presente	1. Microcistos revestidos por células com citoplasma eosinofílico e vagamente escamoide e que formam ocasionalmente tufos intraluminais;		
	2. Estruturas alongadas, com lúmen semelhante a fenda, revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou planas, semelhantes a endotélio;		
	3. Células individuais ou pequeno grupo de células.		
	Reação estromal compacta e celular.		
	Reação estromal edematosa (frouxa e pálida) e/ou mixoide (basofílica).		
	Neutrófilos associados.		
	Eosinófilos associados.		
	Linfócitos associados.		
Conclusão	MELF: Sim ( ) Não ( )		

## APÊNDICE B - Questionário de dados para o patologista 2.

Número no serviço:		
Patologista 2 Marque <b>X</b> na coluna à direita quando presente	1. Microcistos revestidos por células com citoplasma eosinofílico e vagamente escamoide e que formam ocasionalmente tufos intraluminais;	
	2. Estruturas alongadas, com lúmen semelhante a fenda, revestidos por células com citoplasma eosinofílico ou planas, semelhantes a endotélio;	
	3. Células individuais ou pequeno grupo de células.	
	Reação estromal compacta e celular.	
	Reação estromal edematosa (frouxa e pálida) e/ou mixoide (basofílica).	
	Neutrófilos associados.	
	Eosinófilos associados.	
	Linfócitos associados.	
Conclusão	MELF: Sim ( ) Não ( ) Concordância: Sim ( ) Não ( )	