VIVIANE DOS REIS VIEIRA YANCE

**Contribuição das características clínicas, hormonais e
radiológicas para o diagnóstico diferencial dos tumores de
ovário produtores de andrógenos e hipertecose do estroma
ovariano em mulheres na pós-menopausa**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre
em Ciências

Programa de Endocrinologia
Orientadora: Dra. Sorahia Domenice

**São Paulo
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Yance, Viviane dos Reis Vieira

Contribuição das características clínicas, hormonais e radiológicas para o diagnóstico diferencial dos tumores de ovário produtores de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano em mulheres na pós-menopausa / Viviane dos Reis Vieira Yance. -- São Paulo, 2015.

**Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.**

Programa de Endocrinologia.

Orientadora: Sorahia Domenice.

Este estudo foi realizado na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento e no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 da Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Apoio: CNPq: Bolsa de mestrado

Dedicatória

Dedico essa dissertação à minha família que sempre me apoiou, que sempre me deu forças e ânimo para continuar e que sempre acreditou em mim, mesmo nos momentos mais difíceis da minha caminhada.

Em especial dedico esse trabalho:

à minha mãe, mulher guerreira, forte, que me deu o seu exemplo de luta e força, que me ensinou a nunca desistir dos meus sonhos e que me mostrou que não importava qualquer tipo de deficiência que eu tivesse, pois eu havia nascido para vencer e brilhar e que meu esforço venceria todos os obstáculos;

ao meu pai (in memorian), que sempre permaneceu firme no propósito de me fazer feliz e me apoiar

e

ao meu marido, que me dedica seu amor e me completa. Você é fundamental na minha vida.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela família maravilhosa que me acolheu, pelas oportunidades que me proporcionou na minha caminhada, pelos amigos que colocou em meu caminho para me fortalecer e principalmente pela oportunidade de ter nascido.

À minha pequena família, minha mãe Tereza, minhas irmãs Ana e Almerinda e seus respectivos maridos Olympio e Miele e meus sobrinhos Raiane, Lucas, Talita e Luciana, que são o alicerce da minha caminhada, que me dão forças, que me suportam nas horas chatas e que me amam da maneira que sou.

Ao meu marido e companheiro Robin, pelo apoio e paciência e por acreditar que eu posso vencer, não importa qual seja a batalha.

À minha grande família, em especial tia Alice e tio Romano e minhas primas Daniela e Fabiana, que sempre estão prontos para me ajudar seja no que for. Sem sua ajuda e apoio talvez tivesse demorado mais para alcançar meus objetivos.

Aos meus amigos do Hospital Santa Marcelina pelos momentos de alegria, pela troca de conhecimentos, pelo carinho e confiança que depositam em mim. Em especial à minha amiga Dra Michelle P. Rocha pela confiança, pela amizade sincera e por tantas oportunidades que me proporcionou.

Agradeço ao Prof. Dr. José Antonio Miguel Marcondes que me recebeu no Hospital das Clínicas em seu ambulatório com tanto carinho, pela oportunidade, pela amizade e por todo o apoio e ajuda.

Aos amigos Cristiano Barcellos e Wagner S. Dantas, por terem me recebido com carinho e pela amizade sincera.

Às amigas da pós-graduação Thatiana e Aline pela ajuda, ensinamentos e amizade e à Flávia que dividiu comigo tantas aflições e dúvidas, obrigada pela amizade.

À Miriam, Cidinha, Cris e Fran que me ensinaram com paciência as condutas no laboratório e que sempre me ajudaram quando precisei.

À Rosangele, pela amizade e ajuda.

À Nilda, por estar sempre disposta a ajudar, tanto na parte burocrática quanto em qualquer outra coisa que se lhe apresente.

À Cida, secretária da pós-graduação, pela ajuda prestada nos momentos difíceis e decisivos.

À Marilda por sempre estar receptiva aos pedidos de realização de bioimpedância das pacientes, sempre atenciosa.

Ao Dr. Vinicius, por sempre estar pronto para ajudar, com muita paciência, na avaliação da parte estatística do trabalho.

À Dra Sylvia Hayashida, que sempre se colocou a disposição para avaliar os pacientes do ambulatório e que me forneceu informações importantes das pacientes do estudo.

À Profa. Dra Filomena Marino Carvalho, que revisou todo o material anatomopatológico das pacientes do estudo e me ensinou muito de patologia.

Ao Dr. Ronaldo Baroni, que revisou os exames de ressonância de pelve das pacientes do estudo.

Agradeço a todos os funcionários do laboratório e aos médicos do ambulatório de endocrinologia que de alguma forma, direta ou indiretamente me ajudaram e fizeram parte deste aprendizado.

Agradeço a todos os pacientes que direta ou indiretamente me ajudaram a desenvolver esse trabalho.

Agradeço à Profa. Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça e à Profa. Dra Ana Cláudia Latronico por terem me dado a oportunidade de realizar esse sonho.

Ao Hospital Universitário da UFGD por ter me apoiado na conclusão desse projeto e principalmente ao meu chefe e amigo Ricardo do Carmo por ter me ajudado na finalização desse trabalho, me liberando e me substituindo no atendimento aos pacientes

À CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio com a Bolsa de estudo.

Agradeço especialmente à minha orientadora Dra Sorahia Domenice, por toda a dedicação, pelo apoio, por “não deixar a peteca cair”, pela amizade, pelo aprendizado e crescimento, pelo exemplo de vida e principalmente por toda a “emoção” vivida durante esses anos de convivência.

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”

Theodore Roosevelt

Normalização Adotada

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suelly Campos Cardoso, Valeria Vilhena. 3a ed. São Paulo. Divisão de Biblioteca e documentação: 2011.

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

Sumário

Sumário

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Tumores de ovário produtores de andrógenos (TOSA).....	3
1.1.1 Tumores de Sertoli-Leydig.....	7
1.1.2 Tumores de células esteroídicas.....	8
1.1.3 Tecoma.....	9
1.2 Hipertecose do estroma ovariano (HPT).....	10
2 JUSTIFICATIVA.....	13
3 OBJETIVOS.....	15
4 MÉTODOS.....	17
4.1 Pacientes.....	18
4.1.2 Dados clínicos.....	18
4.1.3 Dados Hormonais.....	19
4.1.4 Métodos de dosagem hormonal.....	20
4.1.5 Métodos de imagem.....	20

4.1.6 Revisão do material histopatológico.....	21
4.2 Análise estatística.....	22
5 RESULTADOS.....	24
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÕES.....	61
8 ANEXOS.....	64
9 REFERÊNCIAS.....	83

Listas

Lista de Siglas e Abreviaturas

aGnRH	Análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas
cols	Colegas
DMRT1	<i>Doublesex and mab-3-related transcriptional factor 1 gene</i>
FOXL2	<i>Forkhead Box L2 gene</i>
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HPT	Hipertecose do estroma ovariano
NV	Não visualizado
RM	Ressonância magnética de pelve
RP	Retirado previamente
RSPO1	<i>R-spondin-1 gene</i>
SOP	Síndrome dos ovários policísticos
SOX9	<i>Sry,-box containing 9 gene</i>
TOSA	Tumor de ovário produtor de andrógenos
TOSAs	Tumores de ovário produtores de andrógenos
US	Ultrassom
WHO	World Health Organization
WNT4	<i>Wingless type mmtv integration site family, member 4 gene</i>

Lista de Figuras

Figura 1	Representação esquemática da estrutura ovariana e principais tipos celulares que constituem o ovário	2
Figura 2	Representação da origem celular dos tumores ovarianos. Os tumores ovarianos se originam de três tipos celulares: células do estroma e cordão sexual, células germinativas e células epiteliais. (Adaptado de Gershenson DM, 2012)	4
Figura 3	Exame histológico de peça anatômica produto de ooforectomia - tumor de Sertoli-Leydig. A) Tumor de células de Sertoli-Leydig composto por túbulos em meio a estroma ora fusocelular (como na imagem), ora como células tipo Leydig, luteinizadas, não representada nesta foto (aumento 100X, coloração HE); B) Tumor de células de Sertoli-Leydig composto por túbulos, neste caso menos evidente, em meio a estroma com áreas de luteinização (citoplasma amplo e eosinofílico) (aumento 100X, coloração HE). Fotos gentilmente cedidas pela Profa Filomena Marino Carvalho	8
Figura 4	Exame histológico de peça anatômica produto de ooforectomia - tumor de células esteroídicas. Composto por células grandes, citoplasma amplo e eosinofílico (aumento 400X, coloração HE). Foto gentilmente cedida pela Profa Filomena Marino Carvalho	9
Figura 5	Exame histológico de peças anatômicas produtos de ooforectomia – Hiperplasia do estroma ovariano e Hipertecose do estroma ovariano. A) Hiperplasia estromal caracterizada por intensa celularidade à custa de células alongadas irregularmente distribuídas por estruturas vasculares (aumento 100X, coloração HE); B) Hipertecose estromal caracterizada por hiper celularidade de células estromais que exibem, em vários focos, citoplasma amplo e eosinofílico (aumento 200X, coloração HE). Foto gentilmente cedida pela Profa Filomena Marino Carvalho	11
Figura 6	Representação esquemática dos diagnósticos histológicos originais e após revisão nas mulheres pós-menopausadas do grupo com tumor de ovário produtor de andrógenos	26
Figura 7	Representação esquemática dos diagnósticos histológicos originais e após revisão nas mulheres pós-menopausadas do grupo com hipertecose do estroma ovariano	27

Figura 8	Sinais clínicos de hiperandrogenismo nas mulheres com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano	31
Figura 9	Boxplot dos escores da Escala de Ferriman das pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e com hipertecose do estroma ovariano (HPT) avaliadas no estudo	32
Figura 10	Representação gráfica da distribuição dos valores séricos individuais de Testosterona, Estradiol, LH e FSH dos dois grupos de pacientes: portadoras dos tumores de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e portadoras de hipertecose do estroma ovariano (HPT). Uma sobreposição dos valores hormonais é observada entre os dois grupos de pacientes	33
Figura 11	Boxplot dos níveis séricos mais baixos e mais elevados de testosterona de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e com hipertecose do estroma ovariano (HPT)	34
Figura 12	Gráfico das curvas ROC mostrando os pontos de corte com melhor sensibilidade e especificidade para testosterona, LH e FSH para o diagnóstico diferencial de tumor ovariano produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano	37
Figura 13	Níveis séricos de LH e FSH (média $\pm$ erro padrão) de acordo com o grupo de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e hipertecose do estroma ovariano (HPT) e com o tempo de cirurgia (pré, 6 e 12 meses após)	38
Figura 14	Representação da variação dos níveis séricos de testosterona (T) no tempo basal e pós aGnRH (acetato de leuprolide). Os valores de T apresentaram uma redução maior do que 50% em relação ao valor basal em todas as 15 pacientes que realizaram o teste. TOSA= Tumor de ovário produtor de andrógenos; HPT=Hipertecose do estroma ovariano	40
Figura 15	Representação esquemática do número e tipo de exames de imagem de pelve realizados durante a investigação diagnóstica das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo	41

- Figura 16** RM de pelve mostrando nódulo sólido em ovário direito, correspondente a um tumor de células de Leydig: **A)** Corte coronal em T2; **B)** Corte axial em T1 pré-contraste; **C)** Corte axial em T1 após contraste. O nódulo se mostrou com sinal hiperintenso em T2, iso a hipointenso em T1 com realce após contraste 46
- Figura 17** RM de pelve mostrando nódulo sólido em ovário direito correspondente a tecoma. Apresenta hipossinal no corte axial **(A)** e sagital **(B)** em T2 e realce progressivo do contraste em T1- fase arterial **(C)** e portal **(D)** 47
- Figura 18** Ressonância magnética de pelve mostrando ovários aumentados bilateralmente, correspondentes a hiperplasia estromal. Apresenta hipossinal em T2 **(A)** e em T1, sem realce após contraste **(B)** 47

Lista de Tabelas

Tabela 1	Classificação histológica dos tumores ovarianos do estroma e cordão sexual. (Adaptado de WHO, 2014)	5
Tabela 2	Comparação dos dados clínicos entre os grupos de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano	29
Tabela 3	Características clínicas das pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano	30
Tabela 4	Comparação dos parâmetros hormonais: testosterona, LH, FSH, estradiol, androstenediona, 17 hidroxiprogesterona e sulfato de dehidroepiandrosterona de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano	35
Tabela 5	Valores de limite de corte para os níveis séricos de testosterona, estradiol, LH e FSH sugestivas do diagnóstico de tumor ovariano produtor de andrógenos	36
Tabela 6	Comparação dos níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH) de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano: pré-cirurgia (ooforectomia), 6 e 12 meses após o procedimento cirúrgico	39
Tabela 7	Comparação dos exames de imagem, ultrassom transvaginal e ressonância magnética de pelve, e correlação com o resultado anatomopatológico das pacientes com tumor ovariano produtor de andrógenos	43

Tabela 8	Comparação dos exames de imagem, ultrassom transvaginal e ressonância magnética de pelve, e correlação com o resultado anatomopatológico das pacientes com hipertecose do estroma ovariano	44
Tabela 9	Descrição do tamanho dos ovários em cm ³ no ultrassom de pelve e na ressonância magnética de pelve e comparação entre as mulheres com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano, incluindo apenas as pacientes com resultados compatíveis com o anatomopatológico	49
Tabela 10	Regressão logística simples para cada variável independente nas mulheres portadores de tumor ovariano produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano	50

Resumo

Yance VRV. ***Contribuição das características clínicas, hormonais e radiológicas para o diagnóstico diferencial dos tumores de ovário produtores de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano em mulheres na pós-menopausa*** [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Introdução: Hiperandrogenemia associada a sinais clínicos de virilização na mulher após a menopausa é uma condição rara e pouco estudada. Os tumores ovarianos secretores de andrógenos (TOSA) e a hipertecose do estroma ovariano (HPT) são as etiologias mais frequentes de hiperandrogenismo nesta faixa etária. A diferenciação entre estas duas condições é difícil, pois as manifestações clínicas são semelhantes e caracterizadas por hirsutismo, alopecia androgênica, clitoromegalia, hipertrofia muscular e agravamento da voz. O perfil hormonal das mulheres pós-menopausadas com TOSA e HPT pode não ser um parâmetro ideal para discriminar estas duas condições. Além disso, os estudos de imagem podem não caracterizar com precisão estas lesões ovarianas. Devido às dificuldades, em estabelecer o diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT, a ooforectomia bilateral é a terapêutica indicada para as mulheres menopausadas com diagnóstico de hiperandrogenismo de origem ovariana; embora na HPT o tratamento clínico com análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (aGnRH) possa ser uma opção terapêutica eficaz. **Objetivos:** O nosso objetivo foi avaliar a contribuição das características clínicas, do perfil hormonal e dos exames radiológicos para o diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT em mulheres na pós-menopausa.

Métodos: Trinta e quatro mulheres pós-menopausadas, na faixa etária de 52 a 80 anos de idade, que foram encaminhadas à Unidade de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, entre 1999 e 2013 por hiperandrogenismo clínico e com diagnóstico histológico de TOSA (13 mulheres) e HPT (21 mulheres) foram avaliadas retrospectivamente. Os diagnósticos histológicos foram revisados e confirmados por um único patologista com experiência em patologia ginecológica. Os dados clínicos de hiperandrogenismo, o perfil hormonal (T,

E2, LH, FSH) e as imagens radiológicas pélvicas (Ultrassom transvaginal e Ressonância Magnética, RM) foram obtidos a partir da revisão de prontuários médicos. **Resultados:** Em relação aos dados da história clínica, não houve diferença significativa entre os dois grupos de pacientes para nenhuma das variáveis clínicas analisadas, exceto para o número de gestações, que foi significativamente maior no grupo com TOSA. Os sinais clínicos de hiperandrogenismo, especialmente agravamento da voz ($p < 0,001$) e hipertrofia muscular ($p = 0,01$), foram mais prevalentes no grupo de pacientes com TOSA do que o grupo de HPT. Embora na análise dos parâmetros hormonais, os pacientes do grupo com TOSA tenham apresentado níveis mais elevados de T e E2 e níveis mais baixos de gonadotrofinas ($p < 0,01$ e $p < 0,01$, respectivamente) do que o grupo de pacientes com HPT, uma grande sobreposição nos níveis hormonais foi observada entre os pacientes dos dois grupos. A RM de pelve apresentou uma boa acurácia para diferenciar os TOSAs da HPT em mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo. **Conclusão:** Neste grupo de pacientes, as características que mais contribuíram para o diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT foram o agravamento da voz e a hipertrofia muscular, os níveis séricos de testosterona e gonadotrofinas e a presença de nódulo ovariano na RM de pelve. Embora a associação das características clínicas, hormonais e radiológicas contribua para a elaboração de uma hipótese diagnóstica fundamentada, a análise histopatológica continua a ser o padrão ouro para o diagnóstico diferencial de hiperandrogenismo de origem ovariana em mulheres na pós-menopausa.

Descritores: virilismo; hiperandrogenismo; pós-menopausa; neoplasias ovarianas; tumores do estroma gonadal e dos cordões sexuais; tumor de células de Sertoli-Leydig; tumor de células de Leydig; células estromais; ovário; hiperplasia.

Summary

Yance VRV. ***Contribution of clinical features, hormonal profile and radiological studies in the differential diagnosis of the virilizing ovary tumor and ovarian stromal hyperthecosis of postmenopausal women*** [Dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015

Introduction: The presence of virilizing signs associated to high serum of androgen levels in postmenopausal women is a rare and poorly understood condition. Virilizing ovarian tumors (VOT) and ovarian stromal hyperthecosis (OH) are the most common hyperandrogenism etiologies in the postmenopausal women. The differential diagnosis between the two conditions is often difficult, because they present similar clinical features such as hirsutism, androgenic alopecia, clitoromegaly, muscle hypertrophy and deepening of the voice. The hormonal profile of postmenopausal women with VOT and OH may not be the optimal discriminating factor between these two conditions. Moreover, imaging may not accurately characterize these ovarian lesions. Due to the difficulties in establishing the differential diagnosis between VOT and OH, bilateral oophorectomy is the treatment of choice in postmenopausal women with hyperandrogenism of ovarian origin. However, the treatment with gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) might be an effective therapy in women with OH. **Objectives:** Our aim was to evaluate the contribution of clinical features, hormonal profile and radiological studies in the differential diagnosis between VOT and OH in postmenopausal women. **Methods:** Thirty-four postmenopausal women ranging from 52 to 80 years of age with clinical hyperandrogenism referred to the Endocrinology Unity of Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, between 1999 and 2013, with diagnosis of VOT (13 women) and OH (21 women) were evaluated retrospectively. Histological diagnoses were reviewed and confirmed by a single pathologist with expertise in gynecologic pathology. Clinical hyperandrogenism data, hormonal status (T, E₂, LH, FSH) and the pelvic images (Transvaginal sonography and Magnetic Resonance Image- MRI) findings were obtained from medical records. **Results:** No clinical data evaluated in the study was significantly different between the two groups of

patients. A higher number of pregnancies in the VOT group was observed, which was statistically different from the OH group. The clinical signs of hyperandrogenism, especially deepening of the voice ($p < 0.001$) and muscle hypertrophy ($p = 0.01$), were more prevalent in the VOT's than OH's group. Although, the VOT's group showed higher T and E2 levels and lower gonadotropins levels than the OH's group ($p < 0.01$ and $p < 0.01$, respectively), a great overlap in the hormone levels occur between VOT and OH patients. Pelvic MRI presented a good accuracy to differentiate these two conditions in hyperandrogenic postmenopausal women. **Conclusion:** In this group of patients, the main features to the differential diagnosis between VOT and OH were deepening of the voice and muscle hypertrophy, serum levels of testosterone and gonadotropins and presence of ovarian nodule in the pelvic MRI. Although the association of clinical, hormonal and radiological features contributes to the differential diagnosis between these two conditions, histopathological analysis remains the gold standard for the differential diagnosis of ovarian hyperandrogenism in post menopausal women.

Descriptors: virilism; hyperandrogenism; postmenopause; ovarian neoplasms; sex cord-gonadal stromal tumors; Sertoli-Leydig cell tumor; Leydig cell tumor; stromal cells; ovary; hyperplasia

1. Introdução

Embora a secreção dos esteróides ovarianos, em especial a produção estrogênica, no período da perimenopausa apresente uma progressiva redução (1), a secreção androgênica pelas células estromais do ovário pode permanecer parcialmente preservada na mulher na pós-menopausa (2).

O estroma ovariano é constituído por fibroblastos, células da teca, células de Leydig e células hiliares. (Figura 1) As células da teca, as células de Leydig e as células hiliares tem capacidade esteroidogênica e são responsivas ao estímulo das gonadotrofinas. No período da perimenopausa, os folículos, os vasos sanguíneos e as células intersticiais ovarianas são gradualmente substituídos por estroma modificando a estrutura das regiões cortical e medular do ovário.

Figura 1. Representação esquemática da estrutura ovariana e principais tipos celulares que constituem o ovário.

O aspecto histológico do parênquima estromal ovariano de mulheres pós-menopausadas apresenta um amplo espectro, que varia da atrofia tecidual à presença de hiperplasia estromal (3). A hiperplasia estromal ovariana geralmente é leve a moderada. Entretanto, uma grande variabilidade interindividual na capacidade esteroidogênica dos ovários é observada nesse período e a grande maioria das mulheres não apresentam manifestações clínicas (2, 4-6).

As manifestações clínicas associadas à presença de hiperandrogenemia nas mulheres no período da pós-menopausa são acne, hirsutismo, alopecia androgênica, clitoromegalia, agravamento da voz e hipertrofia muscular.

As principais causas de hiperandrogenismo são síndrome dos ovários policísticos (SOP), hiperplasia adrenal congênita, síndrome de Cushing, os tumores produtores de andrógenos (ovarianos e da suprarrenal) e a hipertecose do estroma ovariano, além do uso de androgênios de origem exógena (7, 8). Os tumores ovarianos produtores de andrógenos (TOSA) e a hipertecose do estroma ovariano (HPT) são as etiologias mais frequentes de hiperandrogenismo nas mulheres na pós-menopausa.

1.1 Tumores de ovário produtores de andrógenos (TOSA)

Os tumores ovarianos se originam de três tipos celulares principais: células epiteliais, células germinativas e células do estroma e cordão sexual e são classificados segundo a Organização Mundial de Saúde com base na sua composição histológica (9). (Figura 2) (Anexo A).

Figura 2. Representação da origem celular dos tumores ovarianos Origem celular dos tumores ovarianos. Os tumores ovarianos se originam de três tipos celulares: células do estroma e cordão sexual, células germinativas e células epiteliais. (Adaptado de Gershenson DM, 2012).

Os tumores de ovário produtores de andrógenos (TOSAs) em sua grande maioria pertencem ao grupo de tumores do estroma e cordão sexual, mais especificamente ao subgrupo dos tumores exclusivamente estromais (Tabela 1). Entretanto, qualquer tumor ovariano que contenha células do estroma luteinizadas pode produzir andrógenos, como por exemplo nos tumores mucinosos e endometrióides. Os tumores exclusivamente do cordão sexual, como os tumores de células da granulosa, geralmente estão associados com a produção de estrógeno e suas manifestações (10).

Os tumores ovarianos do estroma e cordão sexual são um grupo complexo de neoplasias, que compreendem de 5 a 8% das neoplasias ovarianas primárias. Estes tumores se originam de dois tipos celulares: das células do epitélio celômico, que dão origem aos cordões sexuais, e das células derivadas do mesênquima mesonéfrico da crista genital, que dão origem às células do estroma. Os cordões sexuais são constituídos pelas células da granulosa e pelas células de Sertoli e as células estromais

compreendem os fibroblastos, as células da teca, as células de Leydig e as células hiliares. Geralmente os tumores do estroma e cordão sexual possuem mais de um tipo celular em sua constituição (11-13).

Tabela 1. Classificação histológica dos tumores ovarianos do estroma e cordão sexual. (Adaptado de WHO, 2014).

<p>1. <u>Tumores exclusivamente estromais</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - fibroma - tecoma - fibrosarcoma - tumor estromal esclerosante - tumor estromal em anel de sinete - tumor estromal microcístico - tumor de células de Leydig - tumor de células esteroídicas <p>2. <u>Tumores exclusivamente do cordão sexual</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - tumor das células da granulosa - tumor de células de Sertoli - tumor dos cordões sexuais com túbulos anulares <p>3. <u>Tumores mistos do cordão sexual</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - tumor de células de Sertoli-Leydig - tumores do estroma e cordão-sexual sem outra especificação

O processo de tumorigênese ovariana, e em especial, os mecanismos envolvidos no desenvolvimento dos tumores do estroma e cordão sexual permanecem pouco conhecidos. Um possível papel das gonadotrofinas na tumorigênese de alguns tipos de tumores ovarianos tem sido proposto.

Alguns relatos da literatura demonstram a supressão da produção androgênica em pacientes portadores de tumores ovarianos secretores de andrógenos após o uso de análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (aGnRH). Marcondes e cols demonstraram uma redução significativa dos níveis séricos de testosterona [300 e 110 ng/dL, valor basal e após aGnRH respectivamente, Δ testosterona (T pós aGnRH - T basal) > 50%] após aplicação de aGnRH por dois meses em uma paciente com tumor de células de Leydig (14). Uma resposta equivalente no teste de supressão com o análogo de GnRH foi descrito por Pascale e cols em 3 pacientes portadoras de tumor de células da granulosa, tumor de células de Leydig e tumor de células de

Sertoli-Leydig respectivamente e em duas pacientes com diagnóstico de hipertecose do estroma ovariano (15).

Os resultados obtidos utilizando o análogo de GnRH nas pacientes com tumores ovarianos secretores de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano descritas na literatura sugerem que a secreção hormonal nestas duas doenças não é uma condição autônoma, mas que dependem aparentemente de uma estimulação contínua pelas gonadotrofinas.

Corroborando com estas evidências, o estudo de animais geneticamente modificados que produzem níveis suprafisiológicos de hCG mostraram que os ovários submetidos a este regime hormonal apresentam uma intensa luteinização das células somáticas, que levam à formação de luteomas e subsequentemente o desenvolvimento de tumores de células germinativas (teratomas) (16).

Raros defeitos moleculares nos tumores do estroma e cordão sexual têm sido relatados. Alterações na via de sinalização celular foram pesquisadas e raras mutações ativadoras da proteínas G foram identificadas em um grupo de tumores de células de Leydig ovarianos e testiculares (17). A proteína G é considerada um oncogene, uma vez que mutações na sua expressão resultam em anormalidades nas vias de transdução, alterando os fatores que controlam o crescimento celular.

Mutações em diferentes fatores de transcrição envolvidos na organogênese gonadal têm sido sugeridas como potenciais causadores do desenvolvimento desses tumores (18-23). A expressão normal dos genes *FOXL2*, *WNT4* e *RSPO1*, e dos genes *SOX9* e *DMRT1*, respectivamente determinantes da via de desenvolvimento ovariana e da via testicular, são importantes também na manutenção das gônadas no período pós-natal. Uma falha na expressão desses genes no período pós-natal possibilitaria a reprogramação de células gonadais com o aparecimento de células tipicamente masculinas no ovário e células femininas no testículo (18, 24), situações observadas em alguns tipos de tumores gonadais (25, 26)

1.1.1 Tumores de Sertoli-Leydig

Os tumores de Sertoli-Leydig (com diferenciação intermediária e bem diferenciados) e os tumores de células esteroídicas (tumores de células de Leydig e tumores de células esteroídicas sem outra especificação) são os tumores ovarianos secretores de andrógenos mais frequentes.

Apesar de representarem menos de 0,5% de todas as neoplasias ovarianas primárias (11, 27, 28), os tumores de Sertoli-Leydig são os tumores ovarianos endócrinos mais conhecidos pelo quadro clínico clássico de virilização em mulheres jovens (10, 29). A idade média das pacientes portadoras de tumores de Sertoli-Leydig é de 25 anos (29).

As mulheres portadoras de tumor de Sertoli-Leydig apresentam frequentemente níveis séricos elevados de andrógenos (testosterona, androstenediona e deidroepiandrosterona), mas níveis séricos aumentados de estrógenos também podem ser observados nesta condição (13, 30, 31).

Na grande maioria dos casos, esses tumores se apresentam como massas volumosas e unilaterais localizadas na região pélvica. Geralmente, estes tumores são sólidos e lobulados, mas podem ser sólido-císticos ou menos frequentemente císticos (29).

Histologicamente, os tumores de Sertoli-Leydig são classificados em bem diferenciados, moderadamente diferenciados e pouco diferenciados. Nos tumores bem diferenciados as células de Sertoli formam túbulos rodeados por estroma fibroso e as células de Leydig se apresentam dispersas no estroma (Figura 3). Nos tumores de Sertoli-Leydig menos diferenciados, um menor número de células de Leydig é identificado e a capacidade de produção androgênica pelo tumor é menor.

Estes tumores apresentam baixo potencial de malignidade (29), porém, o prognóstico evolutivo das pacientes depende do estágio tumoral ao diagnóstico e das características histopatológicas do tecido tumoral como o grau de diferenciação celular, do índice de mitoses identificado na amostra tumoral e da integridade ou não da cápsula tumoral no momento da cirurgia (29). A presença de elementos heterólogos, mais comumente tecido do epitélio

intestinal ou outras estruturas de tecidos mesenquimais no interior do tumor, também está relacionada a um pior prognóstico evolutivo (10, 32).

Figura 3. Exame histológico de peça anatômica produto de ooforectomia-tumor de Sertoli-Leydig. **A)** Tumor de células de Sertoli-Leydig composto por túbulos em meio a estroma ora fusocelular (como na imagem), ora como células tipo Leydig, luteinizadas, não representada nesta foto (aumento 100X, coloração HE); **B)** Tumor de células de Sertoli-Leydig composto por túbulos, neste caso menos evidente, em meio a estroma com áreas de luteinização (citoplasma amplo e eosinofílico) (aumento 100X, coloração HE). Fotos gentilmente cedidas pela Profa Filomena Marino Carvalho.

1.1.2 Tumores de células esteroídicas

Os tumores de células esteroídicas podem ser subclassificados em tumores de células de Leydig e tumores de células esteroídicas sem outra especificação.

Os tumores de células esteroídicas representam de 0,1 a 0,2% dos tumores ovarianos (33) e acometem mulheres principalmente entre a quinta e sexta décadas de vida. A idade média de acometimento das mulheres com tumores de Leydig é de 63 anos e nos tumores de células esteroídicas sem outra especificação é de 43 anos (10).

As manifestações clínicas mais frequentes dos tumores de células esteroídicas em mulheres pós-menopausadas estão relacionadas com a capacidade secretória androgênica destes tumores. Raros relatos de pacientes

portadoras de tumores de células esteroídicas e síndrome de Cushing são descritos na literatura (34, 35).

Na grande maioria dos casos, os tumores de células esteroídicas são unilaterais (10). Os tumores de células de Leydig tendem a ser pequenos e localizados no hilo ovariano, enquanto os tumores de células esteroídicas sem outra especificação geralmente apresentam-se com maiores dimensões e um maior potencial de malignidade (36).

Os tumores de células esteroídicas, previamente denominados tumores de células lipóidicas ou lipoides, são constituídos por células com citoplasma abundante, com quantidades variadas de lipídeos no seu interior (Figura 4). A identificação de cristalóides de Reinke intracitoplasmáticos é uma característica dos tumores de células de Leydig, a qual os diferencia dos tumores de células esteroídicas sem outra especificação (10, 36).

Figura 4. Exame histológico de peça anatômica produto de ooforectomia - tumor de células esteroídicas – Composto por células grandes, citoplasma amplo e eosinofílico (aumento 400X, coloração HE). Foto gentilmente cedida pela Profa Filomena Marino Carvalho.

1.1.3 Tecoma

Os tecomas constituem um grupo de tumores essencialmente benignos e podem ter a capacidade de secretar estrógenos e menos frequentemente

andrógenos (tecomas luteinizados) (10, 37). Estes tumores são diagnosticados mais frequentemente em mulheres no período pós-menopausa (37).

A manifestação clínica mais frequente dos tecomas em mulheres pós-menopausadas é a ocorrência de sangramento vaginal, que é secundária aos níveis estrogênicos elevados. Sinais de virilização secundários a secreção de andrógenos e a queixa de dor pélvica ou abdominal são menos frequentes.

Os tecomas são tumores tipicamente unilaterais e sólidos, e geralmente não apresentam grandes dimensões, em média 4,9 cm. A presença de luteinização estromal e células com citoplasma rico em lipídeos são identificadas em menos de 40% dos tecomas.

1.2 Hipertecose do estroma ovariano (HPT)

Os primeiros relatos sobre a entidade hipertecose do estroma ovariano datam da década de 1940. Em 1942, Geist e Gaines descreveram pela primeira vez a presença de extensa luteinização das células da teca nos ovários de duas mulheres em idade fértil com quadro clínico de virilização (38).

Em 1943, esse achado histopatológico foi denominado hipertecose por Fraenkel (39). O aspecto histológico da hipertecose do estroma ovariano foi caracterizado por Scully e cols. como a presença de células estromais luteinizadas, espalhadas ou agrupadas em pequenos nódulos em um estroma ovariano tipicamente hiperplasiado (40).

A análise histológica cuidadosa do estroma ovariano de mulheres na pós-menopausa, com manifestações clínicas de hiperandrogenismo, identifica frequentemente a presença de hipertecose (Figura 5). A condição de hiperplasia estromal pura nessas mulheres parece ser muito rara (10).

Figura 5. Exame histológico de peça anatômica produto de ooforectomia – hiperplasia do estroma ovariano e hipertecose do estroma ovariano. **A)** Hiperplasia estromal caracterizada por intensa celularidade à custa de células alongadas irregularmente distribuídas por estruturas vasculares (aumento 100X, coloração HE); **B)** Hipertecose estromal caracterizada por hiper celularidade de células estromais que exibem, em vários focos, citoplasma amplo e eosinofílico (aumento 200X, coloração HE). foto gentilmente cedida pela Profa Filomena Marino Carvalho.

A fisiopatogênese da HPT ainda é desconhecida, mas acredita-se que a estimulação das células do estroma ovariano pelas gonadotrofinas elevadas no período da pós-menopausa, principalmente o hormônio luteinizante (LH), possa estar envolvido nesse processo (1, 41-43).

Vários autores observaram uma redução significativa dos níveis séricos de testosterona após uso de aGnRH em pacientes pós menopausadas portadoras de virilização e com estudo anatomopatológico que confirmaram a presença de HPT ovariana (15, 44) Estes achados indicam um papel da estimulação contínua pelas gonadotrofinas elevadas no processo fisiopatológico da HPT em mulheres menopausadas.

A presença de hiperinsulinemia e resistência insulínica são também sugeridas como fatores envolvidos na fisiopatologia da HPT. Nagamani e colaboradores observaram que mulheres com HPT apresentam um grau significativo de resistência à insulina, não relacionada à obesidade, e sugeriram que a presença de hiperinsulinemia atuaria como um fator estimulatório para a produção de andrógenos ovarianos, possivelmente pela indução de luteinização estromal (45). Estes autores encontraram uma correlação

significativa entre os níveis periféricos de insulina e os níveis séricos de testosterona, androstenediona e dihidrotestosterona coletadas nas veias ovarianas. Assim como Nagamani, outros autores relacionaram a HPT com a presença de resistência a insulina e alteração nos níveis glicêmicos das pacientes (46, 47).

Os sinais e sintomas de hiperandrogenismo mais comumente observados nas mulheres portadoras de HPT são hirsutismo e alopecia androgênica, que geralmente se apresentam com um início insidioso e progressão lenta (8).

Laboratorialmente, as mulheres com HPT apresentam níveis séricos de testosterona aumentados em relação aos valores de referência normal para mulheres pré-menopausadas e os valores dos outros andrógenos, como SDHEA e androstenediona, geralmente estão normais (7).

A HPT é caracterizada por um aumento uniforme do ovário e geralmente pelo comprometimento ovariano bilateral (10, 48). Nas mulheres menopausadas portadoras de HPT, o aumento do volume ovariano para a faixa etária pode ser detectado por exames de imagem como a ultrassonografia pélvica (US) transvaginal e a ressonância magnética (RM) de pelve (48, 49). O uso da tomografia computadorizada (CT) de pelve não tem se mostrado um bom método diagnóstico nesta condição.

O diagnóstico definitivo de HPT, em uma mulher portadora de sinais clínicos de virilização, é estabelecido pelo exame histopatológico do tecido ovariano.

Atualmente, o procedimento de ooforectomia bilateral é o tratamento indicado para as mulheres na peri e pós-menopausa com suspeita desta patologia. Uma opção terapêutica à cirurgia, que vem sendo cada vez mais discutida, principalmente para as mulheres com alto risco cirúrgico ou que se recusam ao tratamento cirúrgico, é o uso dos análogos do hormônio liberador de gonadotrofinas (aGnRH). Estudos mostram que o uso do aGnRH, em mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo de origem ovariana, promove a supressão da secreção de andrógenos pelos ovários e uma melhora significativa do quadro clínico de virilização nessas mulheres (42, 47, 50).

2. Justificativa

As semelhanças na apresentação clínica e no perfil laboratorial das pacientes menopausadas com hiperandrogenismo de origem ovariana por TOSA e HPT tornam este diagnóstico diferencial muito difícil durante o processo de investigação.

Por se tratar de condições raras, poucos estudos avaliando com detalhes este grupo de pacientes são disponíveis, e a maior parte das informações é baseada em relatos de casos.

Os dados disponíveis na literatura referentes a estudos bem delineados e envolvendo casuísticas bem caracterizadas de mulheres na pós-menopausa com hiperandrogenismo são raros. Nenhum estudo avaliando e comparando as características clínicas, o perfil hormonal e estudos de imagem em pacientes na pós-menopausa com diagnóstico histológico confirmado de HPT e TOSA foi encontrado nos bancos de dados do Pubmed/Medline, Scopus, Web of Science e Lilacs.

Com esse estudo, esperamos contribuir para a caracterização de critérios clínicos, laboratoriais e radiológicos úteis na elucidação do diagnóstico diferencial entre as duas principais causas de hiperandrogenismo em mulheres na pós-menopausa, TOSA e HPT, baseando-se na avaliação de uma coorte de pacientes criteriosamente selecionadas. Os dados obtidos neste estudo foram comparados com os dados descritos na escassa literatura disponível.

3. Objetivos

1. Analisar e comparar as manifestações clínicas, o perfil hormonal e os exames de imagem da região pélvica de mulheres na pós-menopausa com diagnóstico histológico de TOSA e HPT
2. Avaliar a contribuição de cada uma dessas características para o diagnóstico diferencial entre estas duas condições.

4. Pacientes e Métodos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP/aprovação nº 12295).

O estudo foi retrospectivo baseado na revisão dos prontuários médicos.

4.1. Pacientes

Para este estudo foram selecionados 34 prontuários de mulheres pós-menopausadas portadoras de hiperandrogenismo clínico de origem ovariana, ooforectomizadas e cujo diagnóstico histológico foi TOSA ou HPT. Nenhuma destas mulheres fez uso de terapia de reposição hormonal. Duas pacientes foram excluídas do estudo, pois tinham diagnóstico histopatológico de teratoma ovariano.

O diagnóstico histopatológico de TOSA foi estabelecido em 13 mulheres e o diagnóstico de HPT em 21 mulheres. A faixa etária das mulheres com TOSA variou de 52 a 77 anos (média de $60,4 \pm 7,8$ anos) e a das mulheres com HPT de 52 a 80 anos (média de $61,2 \pm 8,1$ anos). (Anexo C).

4.1.2 Dados clínicos

Os dados da história clínica e do exame físico utilizados para análise neste estudo foram os obtidos na primeira consulta realizada no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). Estes dados foram coletados seguindo um protocolo descrito no Anexo B.

O grau de hirsutismo das mulheres pós menopausadas foi avaliado utilizando-se a escala de Ferriman e Gallwey modificada (Anexo D). A presença de hirsutismo foi estabelecida com uma pontuação ≥ 8 pontos (51).

A presença de clitoromegalia foi definida pela medida do clitóris ≥ 2 cm no comprimento, utilizando-se uma régua graduada (52).

As características alopecia androgênica, hipertrofia muscular e agravamento da voz foram avaliadas utilizando-se os critérios: presença ou

ausência das características (Anexo D). A alopecia androgênica foi avaliada seguindo a escala de alopecia androgênica de Ludwig (53). A hipertrofia muscular e o agravamento da voz foram considerados presentes quando referidos pela paciente e acordado na avaliação por dois médicos endocrinologistas do ambulatório.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado a partir das medidas de peso e de altura utilizando-se a fórmula: $IMC = \text{Peso (kg)} / (\text{Estatura em metros}^2)$ (54).

4.1.3 Dados hormonais

Na avaliação do perfil hormonal das pacientes selecionadas para o estudo foram considerados os valores da primeira dosagem hormonal realizada no HC-FMUSP, na investigação de hiperandrogenismo.

Os hormônios avaliados no estudo foram: Testosterona total (T), Estradiol (E2), Hormônio Luteinizante (LH), Hormônio Folículo Estimulante (FSH), Sulfato de Dehidroepiandrosterona (SDHEA), Androstenediona e 17-hidroxi-progesterona (17OHP). Apenas as dosagens hormonais realizadas pelo mesmo ensaio metodológico foram incluídas na análise estatística e na comparação de dados (Anexo E).

Para o estudo da variabilidade dos níveis de testosterona entre os dois grupos de pacientes foram consideradas as várias dosagens do hormônio realizadas em diferentes momentos da investigação. Dentre as 34 mulheres avaliadas nesse estudo, 33 tiveram pelo menos duas medidas dos valores de testosterona realizadas no período pré-operatório (exceto a paciente de número 11).

O teste de supressão com análogo de GnRH foi realizado durante a investigação diagnóstica em 15 mulheres, em 2 mulheres portadoras de TOSA e 13 com HPT. O teste foi realizado através da administração de 3.75 mg de acetato de leuprolide (LupronTM depot) via intramuscular a cada 30 dias por 3 meses seguido das dosagens de LH, FSH, E₂ e T após 30 dias da última injeção ou através da administração de 11.25 mg de acetato de leuprolide

(LupronTM depot) via intramuscular dose única seguido das dosagens hormonais após 90 dias da administração da medicação.

Os níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH) das mulheres com TOSA (8 pacientes) e com HPT (13 pacientes), que fizeram seguimento ambulatorial após a realização da ooforectomia, foram avaliados no pós-operatório tardio (6 e 12 meses) e comparados entre os grupos.

Nestas pacientes foram excluídas alterações no nível sérico do marcador tumoral CA 125.

4.1.4 Métodos de dosagem hormonal

As dosagens de T, E2, LH e FSH foram realizadas pelo ensaio imunofluorométrico (IFME). O coeficiente de variação (CV) intra e interensaio foram < 5% e < 6%, respectivamente. A concentração de Androstenediona ($\Delta 4$) foi determinada pelo ensaio de quimioluminescência e o CV intra e interensaio foi < 10.0% para ambos. Os níveis plasmáticos de SDHEA foram dosados pelo ensaio eletroquimioluminométrico ou radioimunoensaio e o CV intra e interensaio foi < 10% e < 5%, respectivamente. A dosagem de 17OHP foi realizada por radioimunoensaio e o CV intra e interensaio foi aproximadamente de 9%.

4.1.5 Métodos de Imagem

Os exames de imagem analisados foram ultrassom de pelve (US) via transvaginal em 32 mulheres (11 com TOSA e 21 com HPT), ressonância magnética (RM) de pelve em 16 mulheres e tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET-CT) em 5 mulheres.

No US e na RM de pelve foram avaliadas as seguintes características ovarianas: volume, assimetria entre os ovários, presença ou ausência de lesões nodulares ou císticas, presença ou ausência de calcificações e vascularização na avaliação com Doppler. O volume ovariano foi considerado aumentado quando era $\geq 4,0\text{cm}^3$ (55, 56) e o endométrio quando > 5mm na avaliação por US e/ou RM (57). A assimetria entre os ovários foi considerada

como sugestiva de tumor quando maior ou igual a duas vezes o tamanho do menor ovário (58).

No PET-CT analisou-se a presença ou ausência de aumento do metabolismo glicolítico nos ovários.

Os exames de RM de pelve foram revisados por um radiologista do HC-FMUSP, Dr. Ronaldo Hueb Baroni, com experiência em imagens pélvicas. Onze imagens (6 de pacientes com TOSA e 5 de pacientes com HPT) estavam disponíveis para revisão.

4.1.6 Revisão do material histopatológico

As lâminas contendo fragmentos do tecido ovariano, corados em hematoxilina eosina (HE), das 34 mulheres selecionadas foram revisadas para confirmação diagnóstica por um único médico patologista com reconhecida experiência em doenças ovarianas, a Profa Dra Filomena Marino Carvalho.

As lâminas referentes a 64 ovários foram analisadas, 23 ovários de mulheres com diagnóstico inicial de TOSA e 41 ovários sem diagnóstico prévio de tumor (Figuras 6 e 7).

Quatro das 36 mulheres realizaram ooforectomia unilateral; duas devido a presença de aderências que impediram a localização do ovário contralateral (pacientes 5 e 8) e duas pacientes por terem realizado previamente ooforectomia unilateral em outros serviços, pacientes 7 e 34, durante tratamento cirúrgico de carcinoma *in situ* de colo uterino e por causa não conhecida, respectivamente. (Anexos F e G) Não foi possível a recuperação desse material para revisão anatomopatológica.

4.2 Análise estatística

Inicialmente efetuou-se a análise descritiva das características clínicas, laboratoriais e radiológicas de todas as participantes da pesquisa. Foram apresentadas tabelas com frequências para as variáveis qualitativas e estimativas das medidas de tendência central e de dispersão para as variáveis quantitativas.

Para verificar a associação entre as variáveis qualitativas entre os 2 grupos do estudo (TOSA e HPT) empregou-se o teste exato de Fisher.

No que diz respeito às variáveis quantitativas, foram conduzidos testes de normalidade de distribuição de probabilidades avaliadas com o uso do teste de Kolmogorov-Smirnov. Nas situações em que os 2 grupos apresentaram distribuição normal, a comparação foi realizada com o teste t-Student. No caso de não normalidade em pelo menos um dos grupos, empregou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Para verificar se houve diferença nos níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH) entre os grupos TOSA e HPT em cada tempo da avaliação (pré-ooforectomia, 6 meses após e 1 ano após a cirurgia) apresentou-se o resumo das medidas obtidas que foram ilustrados através de gráficos de perfis médios com os respectivos erros padrões segundo cada grupo ao longo do tempo. Finalmente, essas medidas foram comparadas entre os dois grupos estudados, TOSA e HPT, e entre cada tempo avaliado, utilizando-se de equações de estimação generalizadas com matriz intercambiável de correlações entre os tempos avaliados com distribuição marginal Normal e função de ligação identidade (59). Essas análises foram seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni (60) para saber entre quais grupos ou tempos avaliados ocorreram as diferenças nas gonadotrofinas.

Para determinar o melhor ponto de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de TOSA foi construída uma curva ROC (receiver operating characteristic) utilizando-se os níveis séricos de T, E₂, LH e FSH.

Para avaliar a contribuição individual das características clínicas e hormonais para o diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT realizou-se uma

regressão logística simples para cada variável independente que apresentou significância estatística na comparação entre os grupos.

Os dados foram inseridos no programa Excel e analisados nos programas estatísticos STATA versão 13.0 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA) e SPSS versão 22.

Neste estudo adotou-se nível de significância de 5%.

Os dados clínicos e hormonais foram apresentados em média $\pm$ DP e mediana (mínimo e máximo).

5 Resultados

A revisão anatomopatológica confirmou a presença de TOSA nas 13 mulheres selecionadas com diagnóstico prévio de tumor e identificou a presença de HPT nas outras 21 mulheres. (Anexos F e G e Figuras 6 e 7)

Todos os tumores eram unilaterais (13 ovários); 8 tumores estavam associados à presença de hipertecose bilateral (pacientes 1, 2, 3, 4, 6, 10, 11 e 12), 2 estavam associados à presença de hipertecose unilateral (no ovário contralateral- paciente 9, e no ovário ipsilateral- paciente 13) e 3 não apresentaram associação com hipertecose (pacientes 5, 7 e 8).

O diagnóstico inicial do tipo histológico do tumor foi modificado após revisão em três mulheres. Um tumor do estroma e cordão sexual, sem subclassificação (paciente 6) foi reclassificado como um tumor de células esteroídicas sem outra especificação, um tecoma luteinizado. (paciente 9) foi reclassificado como um tumor de células esteroídicas sem outra especificação e um fibroma luteinizado (paciente 10) foi classificado como tecoma. (Anexo F, Figura 6)

Três pacientes (28, 31 e 32) no laudo anatomopatológico inicial não tinham diagnóstico estabelecido de TOSA ou HPT (parênquima ovariano com cospos albicans e depleção da reserva folicular, cistos serosos simples e ovários atróficos, respectivamente), porém após revisão do material histológico foi confirmado a presença de HPT bilateral. (Anexo G) Todas as pacientes com diagnóstico anatomopatológico confirmado de HPT apresentavam acometimento ovariano bilateral (Figura 7), com exceção da paciente 34, da qual apenas um ovário estava disponível para estudo (ooforectomia unilateral prévia)

Figura 6. Representação esquemática dos diagnósticos histológicos originais e após revisão nas mulheres pós-menopausadas do grupo com tumor de ovário produtor de andrógenos.

Figura 7. Representação esquemática dos diagnósticos histológicos originais e após revisão nas mulheres pós-menopausadas do grupo com hipertecose do estroma ovariano.

Em relação aos dados da história clínica não houve diferença entre os dois grupos de pacientes em nenhuma das variáveis analisadas (idade de início dos sintomas, idade ao diagnóstico, tempo de evolução, idade de menopausa e regularidade dos ciclos menstruais no período fértil) exceto pelo número de gestações que foi maior no grupo com TOSA ($p= 0,048$). (Tabela 2)

Tabela 2. Comparação dos dados clínicos entre os grupos de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano.

Dados clínicos	Tumor ovariano secretor de andrógenos			Hipertecose do estroma ovariano			<i>P</i>
	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	
Idade ao início dos sintomas (a)	13	55,1 (8,1)	54 (45 - 69)	21	53,7 (11,6)	53 (24 - 75)	0,943*
Idade ao diagnóstico (a)	13	60,4 (7,8)	58 (52 - 77)	21	61,2 (8,1)	59 (52 - 80)	0,943*
Tempo de evolução (a)	13	5,4 (3,5)	4 (0,3 - 10)	21	7,4 (7,5)	4 (1 - 32)	0,630*
Idade de início da menopausa (a)	9	47,8 (3,6)	46 (45 - 55)	19	49,3 (3,7)	50 (40 - 54)	0,151*
Número de gestações	13	4,5 (2,8)	3 (2 - 12)	20	2,7 (2,3)	2 (0 - 7)	0,048*

a-anos;

* teste de Mann-Whitney

Na avaliação dos sinais clínicos de hiperandrogenismo, observou-se que o agravamento da voz e a hipertrofia muscular foram os sinais significativamente mais frequentes no grupo com TOSA ($p<0,001$ e $p=0,010$, respectivamente). (Figura 8) Porém, não houve diferença com significância estatística entre os grupos em relação à presença de alopecia androgênica ($p=0,132$), de clitoromegalia ($p=0,141$) e de hirsutismo ($p>0,999$) (Tabela 3)

Tabela 3. Características clínicas das pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipercose do estroma ovariano.

Características clínicas	TOSA	HPT	p
	n (%)	n (%)	
Alopecia androgênica			0,132*
não	0	5 (23,8)	
sim	13 (100)	16 (76,2)	
Clitoromegalia			0,141*
não	2 (15,4)	8 (42,1)	
sim	11 (84,6)	11 (57,9)	
Agravamento da voz			<0,001*
não	2 (15,4)	19 (90,5)	
sim	11 (84,6)	2 (9,5)	
Hipertrofia muscular			0,010*
não	4 (33,3)	17 (81,0)	
sim	8 (66,7)	4 (19,0)	
Hirsutismo			>0,999*
não	0	1 (4,8)	
sim	13 (100)	20 (95,2)	
	média ($\pm$ dp)	média ($\pm$ dp)	
	mediana (mín - máx)	mediana (mín - máx)	
Escala Ferriman	18,9 ($\pm$ 6,0)	18,1 ($\pm$ 7,3)	0,749**
	20 (10 - 31)	19 (2 - 29)	
IMC (Kg/m²)	30,8 ($\pm$ 5,7)	31,6 ($\pm$ 4,4)	0,653**
	30,3 (22,5 - 41)	31,6 (21,5 - 39,9)	

n= número absoluto; dp= desvio padrão; mín= valor mínimo; máx= valor máximo; IMC= Índice de massa corporal.

* teste exato de Fisher; ** teste t-Student

Figura 8. Sinais clínicos de hiperandrogenismo nas mulheres com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano

A comparação do grau de hirsutismo pelo escore obtido na Escala Ferriman e o IMC também não apresentaram diferença significativa entre os grupos ($p=0,749$ e $p=0,653$, respectivamente), como demonstrado na tabela 3 e figura 9.

Figura 9. *Boxplot* dos escores da Escala de Ferriman das pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e com hipertecose do estroma ovariano (HPT) avaliadas no estudo.

Em relação aos parâmetros laboratoriais, observou-se uma diferença significativa nos níveis dos hormônios: T, E₂, LH e FSH entre os dois grupos de pacientes. (Tabela 4) A média dos níveis séricos de T e E₂ foram significativamente mais altos no grupo com TOSA do que no grupo com HPT ($p < 0.01$). e a média dos níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH), foram significativamente mais baixos nos TOSAs ($p < 0.01$).

Uma sobreposição dos níveis séricos de T foi observada entre os pacientes portadores de TOSA e HPT. O mesmo comportamento foi observado para o E₂, LH e FSH. (Figura 10)

Duas pacientes no grupo com TOSA apresentaram níveis de gonadotrofinas suprimidos (LH ≤ 0.6 IU/L e FSH ≤ 1.0 IU/L).

Figura 10. Representação gráfica da distribuição dos valores séricos individuais de Testosterona, Estradiol, LH e FSH dos dois grupos de pacientes: portadoras dos tumores de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e portadoras de hipertecose do estroma ovariano (HPT). Uma sobreposição dos valores hormonais é observada entre os dois grupos de pacientes.

O estudo da variabilidade dos valores de testosterona das pacientes pertencentes ao grupo de TOSA (12 pacientes) versus pacientes pertencentes ao grupo de HPT (21 pacientes) demonstrou que esses valores eram mais elevados tanto para o menor valor ($p < 0,001$) quanto para o maior valor mensurado ($p < 0,001$) nas mulheres com TOSA. (Anexo H; Figura 11)

Figura 11. *Boxplot* dos níveis séricos mais baixos e mais elevados de testosterona de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e com hipertecose do estroma ovariano (HPT)

Tabela 4. Comparação dos parâmetros hormonais: testosterona, LH, FSH, estradiol, androstenediona, 17 hidroxiprogesterona e sulfato de dehidroepiandrosterona de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano.

Hormônios	Tumor ovariano produtor de andrógenos			Hipertecose do estroma ovariano			
	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	p*
Testosterona (VN < 98 ng/dL)	13	560,1 (± 434,5)	493 (85 - 1780)	21	182,0 (± 89,5)	173 (59 - 348)	<0,001
LH (VN meno >15 UI/L)	13	9,4 (± 9,2)	8,3 (0,1 - 35,7)	21	25,0 (± 11,8)	23,1 (7,6 - 51,6)	<0,001
FSH (VN meno > 31 UI/L)	13	14,4 (± 10,2)	10 (1 - 29,1)	21	45,3 (± 24,8)	40,4 (10,5 - 109,1)	<0,001
Estradiol (VN <25 pg/mL)	13	65,4 (63,7)	45,2 (23,7 - 261,0)	20	25,9 (± 8,7)	25,2 (14,0 - 42,0)	<0,001
Androstenediona (VN meno < 2,9 ng/mL)	13	2,7 (± 2,2)	1,9 (0,7 - 8,3)	19	2,5 (± 1,7)	2,0 (0,7 - 8,3)	0,788
17OHP (VN meno <1,3 ng/mL)	11	3,1 (± 3,9)	1,7 (0,7 - 14,0)	21	1,4 (± 0,9)	1,2 (0,4 - 3,7)	0,146
SDHEA (VN# < 2560 ng/dL)	13	974,5 (± 530,6)	889 (192 - 1862)	21	748,7 (± 447,0)	643 (276 - 2000)	0,222

n= número absoluto; dp= desvio padrão; mín= valor mínimo; max= valor máximo; LH- hormônio luteinizante; FSH- hormônio folículo estimulante; 17OHP- 17 hidroxiprogesterona; SDHEA- sulfato de dehidroepiandrosterona; VN meno- valor de referência normal na pós-menopausa, VN- valor normal mulher em fase folicular; VN# valor de referência para a faixa etária estudada

*teste Mann-Whitney

Os valores de corte com melhor sensibilidade e especificidade para as concentrações séricas hormonais que apresentaram diferença significativa entre os grupos (T, LH e LH) foram estabelecidos com o objetivo de diferenciar o grupo TOSA do grupo com HPT, como mostra a tabela 5 e a figura 12.

Tabela 5. Valores de limite de corte para os níveis séricos de testosterona, estradiol, LH e FSH sugestivas do diagnóstico de tumor ovariano produtor de andrógenos.

	Sensibilidade	95% CI	Especificidade	95% CI
T > 200,0 ng/dL (*)	84,6%	0,54 – 0,98	67,0%	0,43 – 0,85
T > 312,5 ng/dL	76,9%	0.46 - 0.95	90,5%	0.69 – 0.98
LH < 10,8 IU/L	76,9%	0.46 – 0.95	90,5%	0.7 – 0.98
FSH < 22,3 IU/L	77,0%	0.46 - 0.94	85,7%	0.63 – 0.97
T- testosteronal; LH-hormônio luteinizante; FSH- hormônio folículo estimulante; (*) Maroulis, 1981; Markopoulos e colegas, 2014

Figura 12. Gráfico das curvas ROC mostrando os pontos de corte com melhor sensibilidade e especificidade para testosterona, LH e FSH para o diagnóstico diferencial de tumor ovariano produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano.

A análise dos níveis séricos de LH, assim como dos níveis séricos de FSH, no período pós-operatório, medidas 6 e 12 meses após a realização da ooforectomia revelou no grupo de mulheres com TOSA, uma diferença significativa na comparação dos valores pré-operatório e 6 meses após a cirurgia ($p < 0,001$ e $p < 0,004$, respectivamente); porém na comparação dos níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH) entre 6 e 12 meses após o procedimento cirúrgico não houve diferença significativa ($p > 0,999$ para ambos os hormônios). (Figura 13, Tabela 6). No grupo de mulheres com HPT, os níveis séricos das gonadotrofinas não foram estatisticamente diferentes em nenhum dos tempos avaliados.

Figura 13. Níveis séricos de LH e FSH (média $\pm$ erro padrão) de acordo com o grupo de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos (TOSA) e hipertecose do estroma ovariano (HPT) e com o tempo de cirurgia (pré, 6 e 12 meses após).

Tabela 6. Comparação dos níveis séricos das gonadotrofinas (LH e FSH) de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano: pré-cirurgia (ooforectomia), 6 e 12 meses após o procedimento cirúrgico.

Gonadotrofina	Tempo	Tumor ovariano produtor de andrógenos			Hipertecose do estroma ovariano		
		n	média (dp)	mediana (mín - máx)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)
LH (VN* > 15 UI/L)	Pré-cirurgia	8	10,5 (± 11,0)	8,0 (0,6 - 35,7)	13	22,6 (± 10,6)	21,9 (7,6 - 40,4)
	6 meses pós-cirurgia	8	24,6 (± 11,3)	22,2 (9,7 - 46,6)	13	26,3 (± 12,1)	25,6 (7,6 - 52,4)
	12 meses pós-cirurgia	8	29,0 (± 11,4)	25,2 (18,6 - 52,4)	13	25,7 (± 11,0)	24,8 (7,7 - 44,2)
FSH (VN* > 31 UI/L)	Pré-cirurgia	8	16,6 (± 9,9)	15,9 (1,0 - 29,1)	13	40,7 (± 21,0)	38,5 (10,5 - 91,8)
	6 meses pós-cirurgia	8	52,4 (± 25,5)	45,9 (20,6 - 104,0)	13	54,6 (± 29,2)	49,6 (13,5 - 138,7)
	12 meses pós-cirurgia	8	53,7 (± 30,0)	41,3 (31,5 - 124,9)	13	53,1 (± 29,2)	47,7 (14,4 - 133,1)

LH= Hormônio luteinizante; FSH= Hormônio folículo estimulante; n= número absoluto; dp= desvio padrão; mín= valor mínimo; max= valor máximo; * VN- valores normais de referência para mulheres na pós-menopausa.

Quinze mulheres, 2 com TOSA e 13 com HPT, foram submetidas ao teste com aGnRH durante a investigação de hiperandrogenismo e todas apresentaram supressão dos níveis séricos de LH ($<0,6$ UI/L) e uma diminuição maior que 50% nos níveis séricos de T (Figura 14).

Figura 14. Representação da variação dos níveis séricos de testosterona (T) no tempo basal e pós aGnRH (acetato de leuprolide). Os valores de T apresentaram uma redução maior do que 50% em relação ao valor basal em todas as 15 pacientes que realizaram o teste. TOSA= Tumor de ovário produtor de andrógenos; HPT=Hipertecose do estroma ovariano.

Não foi observada diferença significativa entre os grupos nos níveis dos hormônios androstenediona ($p=0,788$), 17OHP ($p=0,146$) e SDHEA ($p=0,222$). Nenhuma alteração nos níveis de SDHEA foi observada nas mulheres com TOSA ou HPT.

A relação de exames radiológicos de pelve realizados por cada grupo de mulheres, com TOSA e HPT, foi relacionada na Figura 15.

Na avaliação retrospectiva dos resultados dos exames de ultrassonografia transvaginal das 11 mulheres portadoras de TOSA avaliadas por esta metodologia de imagem observamos que os ovários destas mulheres foram

identificados bilateralmente em 7 pacientes, unilateralmente em 3 pacientes (uma delas ooforectomizada previamente) e não identificados em uma paciente. Os ovários identificados apresentavam volume aumentado para a faixa etária bilateralmente em 4 mulheres (1, 2, 3 e 9). Nestes 4 casos, a presença de nódulos, cistos complexos ou assimetria entre os ovários não foi identificada. Ovários assimétricos com a presença de nódulo sólido (pacientes 10 e 12) ou cistos complexos (paciente 5) no maior ovário foi observado em 3 mulheres (Anexo I) . Em duas mulheres nas quais foram observados cistos complexos (pacientes 7 e 13) os ovários contra-laterais não foram visualizados.

Figura 15. Representação esquemática do número e tipo de exames de imagem de pelve realizados durante a investigação diagnóstica das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo.

US com doppler foi realizado em apenas 4 das 11 mulheres no grupo com TOSA, e a presença de dois dos cistos complexos (um hipervascularizado e outro hipovascularizado), e de um dos nódulo sólidos (hipervascularizado), já descritos no parágrafo anterior, foi identificada com esta metodologia.

Todas as 5 lesões ovarianas (dois nódulos sólidos e três cistos complexos) identificadas pelo US transvaginal nas 5 mulheres do grupo com

TOSA avaliadas por este método de imagem corresponderam em localização das lesões tumorais identificadas no estudo anatomopatológico (Tabela 7).

No grupo de pacientes com diagnóstico de HPT, o US transvaginal identificou os ovários bilateralmente em 14 mulheres, unilateralmente em 5 (uma delas ooforectomizada previamente) e não identificou nenhum ovário em uma paciente. Os ovários identificados apresentavam volume aumentado para a faixa etária bilateralmente em 3 mulheres (pacientes 17, 18 e 24). Ovários assimétricos com a presença de nódulo sólido unilateral (pacientes 14, 30 e 34), ovários assimétricos com a presença de nódulo sólido bilateral (pacientes 21, 22, 25 e 28) ou ovários assimétricos sem a presença de nódulos ou cistos complexos (paciente 20) foram observados em 8 pacientes do grupo de HPT (Anexo I). Na paciente 28, calcificações periféricas foram descritas nos nódulos ovarianos bilaterais.

O US pélvico com Doppler foi realizado em apenas 5 dos 21 exames das mulheres com HPT, e com esta metodologia foram identificados 5 dos 7 nódulos sólidos, já descritos no parágrafo anterior, dois unilaterais hipovascularizados e três bilaterais e com padrão de vascularização diferente entre os ovários (Anexo I).

Os achados de nódulos no US transvaginal em 8 de 21 mulheres do grupo de HPT avaliadas por esta metodologia de imagem não tiveram confirmação no estudo histológico. (Tabela 8)

Cistos simples bilaterais foram identificados em uma mulher do grupo com HPT (paciente 27) e considerados lesões ovarianas benignas.

Tabela 7. Comparação dos exames de imagem, ultrassom transvaginal e ressonância magnética de pelve, e correlação com o resultado anatomopatológico das pacientes com tumor ovariano produtor de andrógenos.

	Ultrassonografia de pelve		Ressonância Magnético de pelve		Anatomopatológico		
	OD (cm³)	OE (cm³)	OD (cm³)	OE (cm³)	OD (cm³)	OE (cm³)	Tam/tipo
1	5,2	8,3	6,4 (nódulo sólido, 2,0 cm)	4,5	Tu Leydig + HPT	HPT	1.8 cm/ sólido
2	9,0	7,0	8,4 (nódulo sólido, 2,4 cm)	0,8	Tu Leydig + HPT	HPT	NM/ sólido
3	10,0	6,7	-	-	HPT	Tu Leydig + HPT	2.0 cm/ sólido
4*	-	-	-	-	HPT	Tu Leydig + HPT	2.5 cm/ sólido
5	374,0 (Cisto, 9,6 cm com vegetação sólida, hipervasc)	1,4	302,3 (sólido-cística, 3,2 cm)	3,2	Tu Leydig hilar	não localizado	4.0 cm/ cístico
6	NV	↑	-	-	HPT	TU céls esteroídicas SOE + HPT	NM/ sólido
7	RP	31,0 (cisto complexo, 4,3 cm, hipovasc)	-	-	RP	TU céls esteroídicas SOE	5.0 cm/ sólido
8	-	-	0,8	10,1 (nódulo sólido hipervasc, 2,4 cm)	não localizado	TU céls esteroídicas SOE	3.5 cm/ sólido
9	12,0	8,0	9,7	19,6	HPT	TU céls esteroídicas SOE	NM/ sólido
10	16,0 (nódulo sólido, 2,6 cm, hipervasc)	3,0	24,9 (nódulo sólido, 2,6 cm)	10,5	Tecoma + HPT	HPT	2.5 cm/ sólido
11	NV	NV	-	-	Tu Sertoli-Leydig (MD) + HPT	HPT	1.8 cm sólido
12	10,3 (nódulo sólido, 1,6 cm)	1,8	-	-	Tu Sertoli-Leydig (MD) + HPT	HPT	4.5 cm/ sólido
13	22,5 (cisto, com vegetação parietal no interior de 2,2 cm)	NV	30,0	NV	Tu Sertoli-Leydig (MD) + HPT	Normal	4.0 cm/ sólido

OD=Ovário direito; OE=Ovário esquerdo; Tam/tipo= tamanho e tipo histológico do tumor Tu= Tumor; HPT=hipertecose; SOE= Sem outra especificação; NM=não mensurado; NV=não visualizado; RP=retirado previamente. MD=moderadamente diferenciado; * = nenhuma imagem disponível.

Tabela 8. Comparação dos exames de imagem, ultrassom transvaginal e ressonância magnética de pelve, e correlação com o resultado anatomopatológico das pacientes com hipertecose do estroma ovariano.

Ultrassonografia de pelve			Ressonância magnética de		AP	
	OD	OE	OD (cm³)	OE (cm³)	OD	OE
14	6,5 (nódulo sólido, hipovasc, 1,1 cm)	4,2	7,6	11,5 (nódulo sólido, 0,8 cm)	HPT	HPT
15	16,0	NV	19,0 (cistos simples)	19,6 (cistos simples)	HPT	HPT
16	1,2	1,0	-	-	HPT	HPT
17	10,3	9,8	-	-	HPT	HPT
18	7,9	8,6	-	-	HPT	HPT
19	2,4	4,0	-	-	HPT	HPT
20	5,2	10,3	7,4	4,3	HPT	HPT
21	12,4 (nódulo sólido hipovasc, 2,1 cm)	7,2 (nódulo sólido hipervasc, 1,2cm)	-	-	HPT	HPT
22	3,6 (nódulo sólido hipovasc, 1,5 cm)	3,2 (nódulo sólido hipovasc, 1,4 cm)	-	-	HPT	HPT
23	NV	4,5	NM (cisto simples, 1,2 cm)	NV	HPT	HPT
24	15,0	16,0	5,3	8,1	HPT	HPT
25	10,0 (nódulo sólido hipervasc, 3,0 cm)	11,1 (nódulo sólido normovasc, 3,1 cm)	-	-	HPT	HPT
26	1,4	2,5	-	-	HPT	HPT
27	5,3 (múltiplos cistos anecóicos)	3,4 (múltiplos cistos anecóicos)	4,1 (cistos simples)	2,7 (cistos simples)	HPT	HPT
28	11,8 (nódulo hiperecóico com calcificações periféricas)	12,7 (nódulo hiperecóico com calcificações periféricas)	15,9	18,1	HPT	HPT
29	6,1	NV	-	-	HPT	HPT
30	2,7 (nódulo sólido hipovasc)	1,5	-	-	HPT	HPT
31	NV	0,9	-	-	HPT	HPT
32	2,8	NV	NV	NV	HPT	HPT
33	NV	NV	1,1	5,6	HPT	HPT
34	RP	30,4 (nódulo sólido com calcificação periférica)	-	-	RP	HPT

OD=Ovário Direito; OE=Ovário Esquerdo; AP= Anatomopatológico; NV= não visualizado; HPT= Hipertecose; NM=não mensurado; Hipovasc= hipovascularizado; Hipervasc= hipervascularizado; RP= retirado previamente.

Dezesseis pacientes realizaram RM de pelve na investigação pré-operatória, porém apenas 11 imagens estavam disponíveis para a revisão; dos exames revistos seis eram de pacientes pertencentes ao grupo com TOSA e 5 do grupo com HPT. (Anexo J).

O estudo comparativo dos laudos original e revisado das imagens de RM de pelve mostrou diferenças no tamanho e/ou no tipo de lesão ovariana em 2 pacientes com TOSA (pacientes 1 e 2) e em 3 pacientes com HPT (pacientes 14, 15 e 33) (Anexo J). Na revisão das imagens pélvicas foram confirmadas as descrições originais de lesões ovarianas em 5 mulheres, 3 com TOSA (pacientes 5, 9 e 10) e em 2 com HPT (pacientes 20 e 28). Em uma das pacientes com TOSA (paciente 8) os ovários não tinham sido mensurados no laudo original, mas um nódulo sólido unilateral foi identificado e posteriormente confirmado na revisão da imagem.

Os exames revisados de RM de pelve do grupo de pacientes com TOSA evidenciaram a presença de cinco nódulos unilaterais (4 sólidos e 1 sólido-cístico) nas pacientes 1, 2, 8, 10 e 5, respectivamente, e em quatro destes nódulos foi observada a presença de hipervascularização (exceto na paciente 10). Todos os nódulos identificados no exame de RM neste grupo de pacientes foram correspondentes aos tumores ovarianos identificados no exame anatomopatológico.

A RM de pelve não identificou a presença de nódulo em uma mulher com tumor de células esteroídicas sem outra especificação (paciente 9), apesar de ter evidenciado um ovário assimétrico, sugestivo da presença tumoral (volume de $9,7 \text{ cm}^3 \times 19,6 \text{ cm}^3$ - ovário direito e esquerdo, respectivamente).

Nas pacientes com TOSA a presença de assimetria ovariana, sugestiva da existência de lesão tumoral, foi observada em 5 das 7 pacientes cujos exames de RM foram revisados (pacientes 2, 5, 8, 9 e 10).

A caracterização da intensidade do sinal nas sequencias ponderadas em T1 e T2 dos nódulos ovarianos das pacientes com TOSA mostraram que todos os nódulos correspondentes aos tumores no anatomopatológico apresentaram sinal hipointenso nas sequencias ponderadas em T1 com realce após a injeção do meio de contraste. A intensidade do sinal nas sequencias ponderadas em T2 foi variável, 2 nódulos apresentaram hipersinal, dois nódulos hiposinal, um

nódulo sinal iso/hipointenso e um nódulo sinal hiper/hipointenso. (Figuras 16 e 17).

Os exames revisados de RM de pelve mostraram no grupo de pacientes com HPT o parênquima ovariano com sinal hipointenso nas sequencias ponderadas em T2 e T1, sem realce após a injeção do meio de contraste. (Figura 18)

A presença de um nódulo sólido de 0,8 cm com sinal hipointenso nas sequencias ponderadas em T2 e T1 e com realce progressivo após a injeção do meio de contraste foi identificado em uma paciente (paciente 14) com HPT assim como a presença de um ovário assimétrico na paciente 33. Estas características ovarianas, sugestivas da presença de tumores ovarianos no exame de RM de pelve, não foram confirmadas no estudo anatomopatológico dessas pacientes com HPT.

Não foram identificadas calcificações ovarianas por este método em nenhuma das pacientes. Cistos simples bilaterais, considerados lesões ovarianas benignas, foram identificados em uma mulher do grupo com HPT (paciente 15).

Figura 16. RM de pelve mostrando nódulo sólido em ovário direito, correspondente a um tumor de células de Leydig: **A)** Corte coronal em T2; **B)** Corte axial em T1 pré-contraste; **C)** Corte axial em T1 após contraste. O nódulo se mostrou com sinal hiperintenso em T2, iso a hipointenso em T1 com realce após contraste.

Figura 17. RM de pelve mostrando nódulo sólido em ovário direito correspondente a tecoma. Apresenta hipossinal no corte axial **(A)** e sagital **(B)** em T2 e realce progressivo do contraste em T1- fase arterial **(C)** e portal **(D)**.

Figura 18. Ressonância magnética de pelve mostrando ovários aumentados bilateralmente, correspondentes a hiperplasia estromal. Apresenta hipossinal em T2 **(A)** e em T1, sem realce após contraste **(B)**.

Considerando-se como critérios indicativos do diagnóstico de tumor ovariano a identificação na RM pélvica de nódulos sólidos ou de cisto complexo a sensibilidade, especificidade e acurácia desse método de imagem no diagnóstico de TOSA foram 83%, 80% e 82%, respectivamente. Com a inclusão do critério presença de ovário assimétrico (conforme Cohen, HL e cols: uma diferença entre os volumes ≥ 2 vezes o menor volume ovariano) (58), além da presença de nódulos e/ou cistos complexos, a sensibilidade alcançada pelo método de RM de pelve no diagnóstico de TOSA neste grupo de mulheres estudadas foi de 100%, a especificidade 60% e a acurácia de 82%.

A média dos volumes dos ovários mensurados pelo US transvaginal das pacientes portadoras de TOSA e de HPT foi significativamente maior do que os volumes ovarianos normais para as mulheres menopausadas estabelecidos na literatura (Tabela 9). A presença de algumas lesões ovarianas císticas de grandes dimensões interferiu nos resultados do cálculo dos valores médios do volume ovariano dessas pacientes e, portanto calculou-se a mediana do tamanho dos ovários em cm³. (Tabela 9) Considerando apenas as pacientes com resultados confirmados pelo anatomopatológico a mediana do volume dos ovários foi de 19,3 cm³ para ovário direito (OD) e de 2,4 cm³ para ovário esquerdo (OE) no US de pelve e de 8,4 cm³ para OD e de 4,5 cm³ para OE na RM de pelve nas pacientes com TOSA. Nas pacientes com HPT, a mediana do tamanho ovariano foi de 5,2 cm³ e 4,3 cm³ para OD e OE no US de pelve, respectivamente e de 4,6 cm³ e 6,9 cm³ para OD e OE na RM de pelve, respectivamente, conforme demonstrado na tabela 8. Diferença significativa foi observada no tamanho do OD entre os grupos com TOSA e HPT.

PET/CT foi realizado por 5 pacientes, uma com TOSA e quatro com HPT; alterações do metabolismo glicolítico na região ovariana foi observada em apenas uma paciente portadora de tumor ovariano (tumor de células de Leydig). Em nenhuma paciente com diagnóstico de HPT sinais de hipermetabolismo focal ovariano foi visualizado.

Tabela 9. Descrição do tamanho dos ovários em cm³ no ultrassom de pelve e na ressonância magnética de pelve e comparação entre as mulheres com tumor de ovário produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano, incluindo apenas as pacientes com resultados compatíveis com o anatomopatológico.

Tipo de exame radiológico	Tumor de ovário produtor de andrógenos			Hipertecose do estroma ovariano			<i>p</i> *
	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	
US ovário direito	4	105,7 (± 178,9)	19,3 (10,3 - 374,0)	10	5,8 (± 4,4)	5,2 (1,2 - 15,0)	0,009
US ovário esquerdo	4	9,3 (± 14,5)	2,4 (1,4 - 31,0)	10	6,1 (± 4,9)	4,3 (0,9 - 16,0)	0,671
RM ovário direito	5	68,6 (± 131,0)	8,4 (0,8 - 302,3)	5	8,9 (± 8,0)	4,6 (1,1 - 19,0)	0,464
RM ovário esquerdo	5	5,8 (± 4,3)	4,5 (0,8 - 10,5)	5	10,6 (± 7,7)	6,9 (2,7 - 19,6)	0,347

US= ultrassom transvaginal; RM=ressonância magnética; dp=desvio padrão; mín=mínimo; máx= máximo

* Teste de Mann-Whitney

Baseado na análise do cálculo do risco que cada característica clínica, hormonal e radiológica individualmente analisada atribui para a presença de TOSA observamos que as mulheres que possuíam agravamento da voz e hipertrofia muscular, apresentaram 52 vezes e 8,5 vezes, respectivamente, mais risco de ter o diagnóstico de TOSA do que de HPT. Da mesma forma, pacientes com níveis séricos de testosterona > 312,5 ng/dL, de LH < 10,8 UI/L e de FSH < 22,5 UI/L, tinham um risco de 31,7; 31,7 e 20 vezes, respectivamente, maior de ter TOSA do que HPT. A presença de nódulo ovariano unilateral na RM de pelve em mulheres com hiperandrogenismo na pós-menopausa representou um risco 42 vezes maior de ter tumor ovariano. (Tabela 10).

Tabela 10. Regressão logística simples para cada variável independente nas mulheres portadores de tumor ovariano produtor de andrógenos e hipercose do estroma ovariano

Variáveis independentes	OR	IC	<i>p</i>
Agravamento da voz	52,2	6,4 – 424,9	< 0,001
Hipertrofia muscular	8,5	1,7 – 42,9	0,01
Testosterona > 312,5 ng/dL	31,7	4,5 – 221,7	< 0,001
LH < 10,8 UI/L	31,7	4,5 – 221,7	< 0,01
FSH < 22,3 UI/L	20	3,4 – 118,3	< 0,01
Nódulo ovariano unilateral na RM de pelve	42	2,1 – 826,3	0,01
OR= Odds ratio; IC= intervalo de confiança; <i>p</i> = nível descritivo do teste; RM= ressonância de pelve			

6 Discussão

Mulheres na pós-menopausa podem apresentar manifestações clínicas de virilização secundariamente a doenças ovarianas benignas e neoplásicas. O surgimento insidioso de hirsutismo, associado ou não a outros sinais de virilização, que evoluem com uma progressão lenta dos sinais de hiperandrogenismo tem sido descrito como característico da presença de doença ovariana não tumoral (8). Nas pacientes portadoras de TOSA, o quadro clínico, embora semelhante, é descrito como de surgimento súbito, com evolução de comportamento progressivo e com sinais de virilização mais importantes (8). Na nossa coorte de pacientes com TOSA e HPT observamos que a forma de apresentação das manifestações clínicas, de maneira súbita ou insidiosa, não foi um critério que permitiu a diferenciação entre as duas condições e o tempo de evolução da doença entre os dois grupos de pacientes não foi significativamente diferente.

Sarfati e cols estudaram 22 mulheres na pós-menopausa com hiperandrogenismo secundário a doenças tumorais e não tumorais de origens diversas. Neste estudo, o tempo de evolução e a progressão dos sinais clínicos não se revelou um fator contribuinte para o diagnóstico diferencial entre os dois grupos de doenças (49). Diferentemente da nossa casuística, o grupo de pacientes estudados por Sarfati apresentava uma enorme heterogeneidade de diagnósticos etiológicos, que consistiam em síndrome de Cushing, HPT, cistos ovarianos, mulheres com histologia ovariana normal e mulheres com resolução espontânea do quadro clínico no grupo de doenças não tumorais, e tumores de suprarrenal e tumores ovarianos no grupo de doenças tumorais. Essa heterogeneidade de etiologias limitou o impacto dos resultados encontrados no referido estudo.

Assim como Sarfati, nosso estudo mostrou que em mulheres pós-menopausadas em investigação de hiperandrogenismo nenhum dado da história clínica (idade de início dos sintomas, idade ao diagnóstico, tempo de evolução, idade de menopausa e regularidade dos ciclos menstruais no período reprodutivo) foi significativamente diferente entre os grupos de pacientes portadoras de doença tumoral e não-tumoral de origem ovariana, exceto pelo número de gestações, que foi maior no grupo com tumor. Um maior número de paridade tem sido relacionado com diminuição de risco de

neoplasias ovarianas, principalmente de risco de tumores epiteliais (61, 62). No entanto, não há estudos sobre essa relação de paridade e TOSA e HPT.

A presença de regularidade menstrual e fertilidade preservada no período da menacme na história clínica das mulheres pós-menopausadas com diagnóstico de TOSA ou HPT é um dado pouco discutido na literatura, provavelmente pela escassez de estudos com mulheres nessa faixa etária portadoras de hiperandrogenismo. Essa informação depõe contra a hipótese de que a HPT na pós-menopausa possa ser uma forma severa de SOP, como proposto por Rothman e colegas (7), já que esta última se caracteriza por irregularidade menstrual e dificuldade para engravidar.

Os sinais clínicos de hiperandrogenismo na mulher na pós-menopausa como acne, hirsutismo, alopecia androgênica, clitoromegalia, agravamento da voz e hipertrofia muscular são considerados pouco específicos no diagnóstico diferencial das doenças ovarianas tumorais e não tumorais hiperandrogênicas (8, 49), pois o desenvolvimento dessas características clínicas pode ser influenciado por vários fatores. Os níveis dos andrógenos circulantes, o tempo de exposição ao excesso hormonal e a responsividade tecidual à ação dos andrógenos, que constitui uma característica individual, são fatores que podem interferir na expressão clínica do hiperandrogenismo.

Dos sinais clínicos de hiperandrogenismo, o hirsutismo foi identificado em 97% (33/34) das mulheres avaliadas neste estudo. Na maioria das pacientes o hirsutismo foi o motivo do encaminhamento para investigação, e se apresentou com diferentes graus de gravidade independentemente da etiologia. Contrariamente, acne foi o sinal clínico menos frequente neste grupo de pacientes. A voz grave e a hipertrofia muscular, cujos critérios de avaliação são menos objetivos, foram os sinais de hiperandrogenismo significativamente mais prevalentes no grupo de pacientes com TOSA ($p < 0,001$ e $p = 0,01$, respectivamente). A utilização de ferramentas diagnósticas que permitam uma avaliação objetiva dessas características clínicas poderá agregar credibilidade aos sinais clínicos. Neste sentido, a utilização da análise de bioimpedância elétrica, um método diagnóstico simples, não invasivo e de fácil reprodutibilidade poderá permitir uma avaliação da composição corporal das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo de forma mais objetiva e

informativa. Esta avaliação está sendo realizada de rotina no Ambulatório de Endocrinologia do HC-FMUSP nas novas pacientes em investigação por hiperandrogenismo.

Sabe-se que a obesidade pode piorar as manifestações clínicas hiperandrogênicas na SOP (63). Rothman e cols propuseram o estado de hiperandrogenismo induzido por obesidade, sugerindo um papel do excesso de atividade da enzima aromatase e 5 alfa-redutase no tecido adiposo (7). No nosso grupo de pacientes, o IMC não foi diferente entre os grupos e, portanto não foi um critério no diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT.

Nas mulheres pós-menopausadas com quadro clínico de hiperandrogenismo as dosagens séricas hormonais são fundamentais para a confirmação da presença de hiperandrogenemia e para o diagnóstico da origem etiológica da doença, seja ovariana ou extra ovariana. Entretanto, as concentrações séricas hormonais apresentam um valor limitado no diagnóstico diferencial das doenças ovarianas tumorais e não tumorais produtoras de andrógenos (64, 65). A sobreposição dos valores da testosterona sérica nas pacientes com hiperandrogenismo portadoras de doença tumoral e não tumoral foi descrita em diferentes estudos (49, 66).

Além disso, vários métodos de dosagem da testosterona foram utilizados nos estudos disponíveis, o que pode gerar variações nos valores de normalidade para cada método e, portanto dificuldade de comparação dos resultados obtidos nos estudos de diferentes casuísticas.

Apesar disso, vários autores utilizam o nível de testosterona sérica superior a 200 ng/dL como um valor indicativo da presença de doença tumoral em mulheres com hiperandrogenismo, independente da faixa etária (7, 8). O nível de testosterona sérica superior a 200 ng/dL como um marcador tumoral em mulheres com hiperandrogenismo foi sugerido no estudo de Maroulis e cols. publicado em 1981, no qual o autor faz uma revisão de publicações da literatura da época (1966 a 1979) sobre hirsutismo e hiperandrogenemia em mulheres de diferentes faixas etárias e portadoras de diagnósticos etiológicos diversos (67).

A análise hormonal das pacientes pós-menopausadas com hiperandrogenismo realizada por Sarfati e cols estabeleceu um limite de corte

dos valores de testosterona sérica igual a 140 mg/dL, como um forte critério orientador para o diagnóstico diferencial dos grupos de mulheres portadoras de doença tumoral versus mulheres portadoras de doenças não tumorais (49).

A comparação dos níveis de testosterona sérica dos grupos com TOSA e HPT avaliados neste estudo mostrou que os níveis de testosterona foram significativamente mais elevados nas pacientes com TOSA ($p<0,001$), resultado semelhante aos descritos na literatura (8, 49). O valor de 312,5 ng/dL foi o limite crítico de testosterona sugestivo do diagnóstico de TOSA nas 34 pacientes avaliadas neste estudo, com uma sensibilidade de 76,9%, especificidade de 90,5% e acurácia de 85,3%. A utilização na nossa coorte de pacientes do valor de corte convencional da literatura, nível sérico de testosterona de 200 ng/dL, apresentou uma sensibilidade de 84,6%, mas uma especificidade de 66,7% e uma acurácia de 73,5% para o critério indicativo do diagnóstico de TOSA.

O estudo do perfil hormonal revelou na avaliação individual das pacientes uma grande flutuação nos níveis basais de testosterona e gonadotrofinas na comparação dos valores de amostras coletadas em diferentes momentos da investigação, assim como uma grande variação dos valores de testosterona e gonadotrofinas entre as pacientes de um mesmo grupo (TOSA ou HPT). Esses achados explicam a presença de uma grande sobreposição dos valores hormonais entre os grupos de TOSA e HPT, o que limita a importância dos valores de corte da testosterona e gonadotrofinas séricas como um critério indicativo do diagnóstico de doença tumoral em mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo.

A média dos níveis séricos do estrógeno foi significativamente maior no grupo com TOSA ($p<0,001$), provavelmente devido à maior conversão de testosterona a estradiol nos tecidos periféricos.

Os valores das gonadotrofinas séricas LH e FSH apresentaram-se significativamente diminuídos no grupo de pacientes com TOSA ($p<0,001$) em relação aos valores das pacientes com HPT. Porém, embora os valores das gonadotrofinas tenham apresentado uma variabilidade, na maioria das pacientes com doença tumoral e algumas com HPT, os valores de LH e FSH estão diminuídos em relação aos valores esperados para a faixa etária. A

presença dos níveis de gonadotrofinas mais baixos nos TOSAs está relacionada aos níveis mais altos de testosterona circulante e na sua maior conversão para estradiol, estabelecendo o mecanismo de retrocontrole negativo no eixo hipotálamo-hipofisário.

Duas pacientes do grupo com tumor (pacientes 1 e 3) apresentaram níveis de gonadotrofinas suprimidos ($LH \leq 0,6$ UI/L e $FSH = 1$). Esta supressão não parece estar relacionada à presença de níveis mais elevados de testosterona ou de estradiol circulantes. Uma maior sensibilidade ao estrógeno das células presentes no eixo hipotálamo-hipofisário poderiam explicar um mecanismo de retrocontrole negativo mesmo com níveis séricos circulantes mais baixos desse hormônio.

Embora apenas duas pacientes com diagnóstico de TOSA tenham realizado o teste de supressão com o análogo de GnRH (acetato de leuprolide), os níveis séricos de testosterona destas pacientes após a aplicação análogo tiveram uma redução em relação aos valores de testosterona basal semelhante aos observados nas pacientes com HPT. Estes resultados confirmam os dados descritos na literatura da ineficiência do teste de supressão com o análogo de GnRH no diagnóstico diferencial de hiperandrogenismo de origem ovariana (tumor x doença não tumoral) (14, 15, 47, 68) e indicam fortemente a participação dos níveis séricos elevados das gonadotrofinas no mecanismo etiopatogênico dessas duas condições.

A avaliação dos valores de gonadotrofinas séricas no período pós-operatório tardio de 21 pacientes deste estudo revelou uma significativa elevação dos níveis séricos de LH e FSH nos primeiros seis meses após a ooforectomia nas mulheres do grupo com TOSA, diferente do que foi observado no grupo de mulheres com HPT. Essa achado reforça a existência de um efeito supressor no eixo hipotálamo-hipofisário pela presença de níveis mais elevados de testosterona no grupo de mulheres com TOSA.

Na avaliação das pacientes menopausadas com hiperandrogenismo, os métodos de imagem são instrumentos fundamentais na investigação do diagnóstico etiológico de doença ovariana. O US pélvico é habitualmente o primeiro exame radiológico realizado em uma mulher com sinais de hiperandrogenismo, por ser uma técnica não onerosa, de fácil realização e sem

riscos para a paciente. Porém, por ser uma técnica cujos resultados são diretamente dependentes do examinador, a qualidade dos resultados sofre a interferência da expertise do mesmo. Além disso, os ovários nas mulheres pós-menopausadas são menos ecogênicos, menores, apresentam menor quantidade de folículos e vasos sanguíneos do que os ovários no menacme, estas características dificultam a sua visualização no US de pelve, tanto por via abdominal, quanto por via transvaginal (57, 69). Informações obtidas com este método de imagem como o tamanho dos ovários, as características do parênquima ovariano, presença ou ausência de nódulos, cistos e calcificações poderiam auxiliar no diagnóstico dessas pacientes (48, 70).

Por termos realizado um estudo retrospectivo, os dados dos exames ultrassonográficos foram coletados dos laudos de US transvaginal realizados pelas pacientes em diferentes serviços (externos e no Instituto de Radiologia do HC-FMUSP) com aparelhos diversos e por diferentes examinadores, que tinham experiências profissionais variáveis. Por se tratar de um exame dinâmico sem condição de ser revisto, os resultados do US transvaginal foram analisados dentro do contexto das limitações já descritas.

Neste grupo de pacientes menopausadas com hiperandrogenismo de origem ovariana o US transvaginal identificou a presença do ovário direito e do ovário esquerdo em 83,4% e 80% das pacientes respectivamente, e bilateralmente em 70.% das pacientes; um índice superior ao relatado por Sharma A e cols que foi de 66,8% para o ovário direito e de 65,5% para o ovário esquerdo em um estudo que incluiu 202. 638 mulheres menopausadas (69).

Os critérios radiológicos convencionais estabelecem que a identificação de uma assimetria significativa entre os volumes dos ovários ou a presença de um nódulo em um dos ovários pode indicar a presença de um tumor ovariano, enquanto o aumento bilateral do volume ovariano é característico da presença de HPT. No entanto, nos casos relatados na literatura já foram demonstradas a presença de HPT unilateral, assim como a presença de TOSAs bilaterais (71-73). A ausência de nódulos ou cistos não exclui a presença de pequenos TOSAs, assim como a presença de nódulo ovariano pode não significar a presença de tumor, situações identificadas em várias das nossas pacientes.

O tamanho normal dos ovários no período da pós-menopausa não está bem estabelecido, porém a maioria dos estudos ultrassonográficos refere como padrão de normalidade uma variação do volume ovariano de 1,2 a 5,8 cm³ para mulheres na faixa etária correspondente à pós-menopausa (57, 74). A média e a mediana dos volumes dos ovários mensurados pelo US transvaginal das pacientes do nosso estudo foi significativamente maior do que os volumes ovarianos normais para a mulheres menopausadas estabelecidos na literatura. Estes resultados provavelmente se devem à presença das lesões ovarianas, tumores ou hipertecose, que aumentam as dimensões do órgão.

No grupo de pacientes avaliadas neste estudo, US transvaginal mostrou um índice de acurácia na detecção de lesões tumorais, representadas por nódulos sólidos ou cistos complexos, de apenas 50%. Assim, o US pélvico mostrou um valor limitado no diagnóstico diferencial das pacientes menopausadas com hiperandrogenismo de origem ovariana, não identificando os nódulos ovarianos com dimensões menores do que 2,5cm. Usualmente os TOSA se apresentam como lesões sólidas de pequenas dimensões.

Embora poucos estudos tenham avaliado a acurácia dos diferentes métodos radiológicos no diagnóstico diferencial de doenças ovarianas tumorais e não tumorais causadoras de hiperandrogenismo, a RM de pelve tem sido considerado o exame com melhor acurácia no diagnóstico diferencial entre essas duas condições (49). Neste estudo, a RM apresentou uma acurácia de 81,8% no diagnóstico etiológico das pacientes com hiperandrogenismo de origem ovariana, localizando o tumor ovariano em 83% pacientes com TOSA e descartando a presença de nódulos ou cistos complexos em 80% das mulheres com HPT.

Na revisão das imagens de RM de pelve, uma caracterização sistemática da intensidade do sinal nas sequencias ponderadas em T1 e T2 foram realizadas e mostraram um perfil diferente para as lesões tumorais e a HPT, que pode ser utilizado como um critério diferencial adicional. Todos os nódulos ovarianos, que correspondiam a TOSA no anatomopatológico, apresentaram sinal hipointenso nas sequencias ponderadas em T1 com realce após a injeção do meio de contraste, enquanto as alterações arquiteturais do

parênquima dos ovários com HPT apresentaram predomínio de sinal hipointenso em T2 e T1, sem realce após injeção de contraste.

Embora a RM de pelve forneça informações valiosas para o diagnóstico diferencial de TOSA e HPT em mulheres pós-menopausadas, algumas falhas na identificação das lesões ovarianas podem ocorrer induzindo a erros no diagnóstico (75-77). Em nosso grupo de pacientes, o laudo original da RM de pelve descreveu a presença um nódulo sólido com as características de um tumor (paciente 14), que foi confirmado na revisão do exame em uma das pacientes com HPT, porém sem lesão tumoral identificada no estudo anatomopatológico.

A utilização do PET-CT tem possibilitado a localização precisa de lesões neoplásicas e a diferenciação entre lesões benignas e malignas de forma não invasiva. Alguns relatos de pacientes portadoras de hiperandrogenismo nas quais a realização do PET-CT possibilitou a localização ovariana da lesão tumoral foram descritos na literatura. Nestes casos descritos, os exames de imagem não identificaram as lesões ovarianas tumorais (75, 76). O exame de PET-CT foi realizado em apenas uma paciente com TOSA e em cinco pacientes com HPT da nossa casuística, e um alto metabolismo glicolítico ovariano foi identificado apenas na paciente portadora de TOSA; nenhuma alteração nas pacientes com HPT foi observada. Embora o número de pacientes avaliadas seja pequeno, o PET-CT parece ser um exame promissor no diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT. Porém, seu alto custo e as dificuldades de acesso para sua realização são fatores limitantes na sua indicação como método de investigação no diagnóstico diferencial de TOSA e HPT.

A revisão do material histológico das 34 pacientes por um único médico patologista, com grande experiência em histologia ovariana, possibilitou a aquisição de um grande número de informações, que não eram disponíveis nos laudos da análise histopatológica original realizada por diferentes patologistas e sem o escopo de pesquisa médica. Modificações em alguns dos diagnósticos originais ocorreram, tanto em relação à subclassificação dos tumores, quanto à identificação da presença de hipertecose no material previamente considerado

normal. Esse fato reforça mais uma vez, a importância da expertise do examinador que realiza o estudo anatomopatológico.

A revisão minuciosa do material histológico mostrou que a maioria dos ovários com tumor apresentava concomitantemente hipertecose, seja no mesmo ovário (69,2 %) seja no ovário contralateral (90 %). Tumores ovarianos produtores de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano têm sua origem a partir de células do estroma ovariano, as quais podem manter a capacidade de secreção androgênica no período da menopausa. Especula-se se essas duas condições representam um espectro ou estágios diferentes da mesma entidade patológica. A coexistência de TOSA e HPT nas mesmas pacientes reforça a hipótese de um mecanismo patogênico comum para estas duas condições. Além disso, justifica as semelhanças nas características clínicas e hormonais entre as pacientes portadoras de TOSA e HPT e a grande dificuldade no diagnóstico diferencial destas condições antes do procedimento cirúrgico.

A compreensão dos possíveis mecanismos genéticos envolvidos na etiologia dessas doenças raras poderá contribuir para esclarecer diversas questões ainda não respondidas em relação à origem e evolução destas doenças, além de permitir novas estratégias diagnósticas e perspectivas terapêuticas.

7 Conclusões

- 1 Não houve diferença nos dados da historia clínica entre os grupos de mulheres com TOSA e HPT;
- 2 Os sinais clínicos de hiperandrogenismo foram mais prevalentes nas mulheres com TOSA do que nas mulheres com HPT. O agravamento da voz e a hipertrofia muscular foram estatisticamente mais frequentes no grupo de mulheres com TOSA, porém a avaliação desses sinais clínicos, por ser subjetiva, pode apresentar grande variabilidade interobservador;
- 3 A média dos valores de testosterona sérica foi significativamente maior no grupo com TOSA em relação ao grupo com HPT e a média dos valores das gonadotrofinas séricas foi significativamente menor no grupo com TOSA em relação ao grupo com HPT;
- 4 Uma grande sobreposição dos valores de testosterona, assim como de gonadotrofinas foi observada entre os dois grupos de pacientes, o que dificulta o uso desse critério isoladamente no diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT,
- 5 Ao contrário da ultrassonografia transvaginal, a ressonância magnética de pelve apresentou boa sensibilidade, especificidade e acurácia no diagnóstico dos TOSA e da HPT,
- 6 Na ressonância magnética de pelve a imagem característica do TOSA foi um nódulo sólido com sinal hipointenso em T1 e com realce após contraste e a imagem característica da HPT foi o sinal hipointenso em T2 e T1 sem realce após contraste;
- 7 As características que mais contribuíram para o diagnóstico diferencial entre TOSA e HPT foram o agravamento da voz e a hipertrofia muscular, os níveis séricos de testosterona e gonadotrofinas e a presença de nódulo ovariano na RM de pelve.

- 8 Embora a associação das características clínicas, hormonais e radiológicas contribua para a elaboração de uma hipótese diagnóstica fundamentada, a análise histológica continua a ser o padrão ouro para o diagnóstico diferencial de hiperandrogenismo de origem ovariana em mulheres na pós-menopausa.

8.1 Anexo A. Classificação dos tumores ovarianos, WHO 2014

Tumores epiteliais	Tumores de Brenner
Tumores Serosos	Benigno
Benigno	Tumor de Brenner
Cistoadenoma seroso	Boderline
Adenofibroma seroso	Tumor de Brenner borderline / Tumor de Brenner proliferativo atípico
Papiloma seroso plano	Maligno
Boderline	Tumor de Brenner maligno
Tumor borderline seroso/ Tumor seroso proliferativo atípico	Tumores Seromucinosos
Tumor borderline seroso / variante micropapilífero / Carcinoma seroso de baixo grau não invasivo	Benigno
Maligno	Cistoadenoma seromucinoso
Carcinoma seroso de baixo grau	Adenofibroma seromucinoso
Carcinoma seroso de alto grau	Boderline
Tumores Mucinosos	Tumor borderline seromucinoso / Tumor seromucinoso proliferativo atípico
Benigno	Maligno
Cistoadenoma mucinoso	Carcinoma Seromucinoso
Adenofibroma mucinoso	Carcinomas Indiferenciados
Boderline	Tumores Mesenquimais
Tumor borderline mucinoso / Tumor mucinoso proliferativo atípico	Sarcoma do estroma endometrial de baixo grau
Maligno	Sarcoma do estroma endometrial de alto grau
Carcinoma mucinoso	Tumores Mistos Epiteliais e Mesenquimais
Tumores Endometrióides	Adenossarcoma
Benigno	Carcinossarcoma
Cisto endometrióide	Tumores do Estroma e Cordão Sexual
Cistoadenoma endometrióide	Tumores Estromais Puros
Adenofibroma endometrióide	Fibroma
Boderline	Fibroma celular
Tumor borderline endometrióide / Tumor endometrióide proliferativo atípico	Tecoma
Maligno	Tecoma luteinizado associado com peritonite esclerosante
Carcinoma endometrióide	Fibrosarcoma
Tumor de Células Claras	Tumor estromal esclerosante
Benigno	Tumor estromal em anel de sinete
Cistoadenoma de células claras	Tumor estromal microcístico
Adenofibroma de células claras	Tumor de células de Leydig
Boderline	Tumor de células esteroídicas
Tumor borderline de células claras /Tumor de células claras proliferativo atípico	Tumor de células esteroídicas maligno
Maligno	
Carcinoma de células claras	

ANEXO A (Continuação)

Tumores do Cordão Sexual Puros	Miscelânea de Tumores
Tumor de células da granulosa do adulto	Tumores rete do ovário
Tumor de células da granulosa juvenil	Adenoma do rete ovário
Tumor de células de Sertoli	Adenocarcinoma do rete ovário
Tumor do cordão sexual com túbulos anulares	Tumor de Wolff
Tumores Mistos do Estroma e Cordão Sexual	Carcinoma de pequenas células, tipo hipercalcêmico
Tumores de células de Sertoli-Leydig	Carcinoma de pequenas células, tipo pulmonar
Bem diferenciados	Tumor de Wilms
Moderadamente diferenciados com elementos heterólogos	Paraganglioma
Pouco diferenciados com elementos heterólogos	Neoplasia sólida pseudopapilífera
Retiformes com elementos heterólogos	Tumores Mesoteliais
Tumores do estroma e cordão sexual, SOE	Tumor adenomatóide
Tumores de Células Germinativas	Mesotelioma
Disgerminoma	Tumores de Tecidos Moles
Tumor do saco vitelino	Mixoma
Carcinoma embrionário	Outros
Coriocarcinoma não-gestacional	Lesões Tumoraís-símile
Teratoma maduro	Cisto folicular
Teratoma imaturo	Cisto do corpo lúteo
Tumor de células germinativas misto	Grande cisto folicular solitário luteinizado
Teratoma monodérmico e tumor tipo somático associados a cisto dermóide	Hiperreação luteínica
Struma ovarii, benigno	Luteoma gestacional
Struma ovarii, maligno	Hiperplasia estromal
Carcinóide	Hipertecose estromal
Carcinóide do struma	Fibromatose
Carcinóide mucinoso	Edema massivo
Tumores do tipo neuroectodérmico	Hiperplasia de células de Leydig
Tumores sebáceos	Outros
Adenoma sebáceo	Tumores Linfóides e Mielóides
Carcinoma sebáceo	Linfomas
Outros teratomas raros monodérmicos	Plasmocitoma
Carcinomas	Neoplasias mielóides
Carcinoma de células escamosas	Tumores Secundários
Outros	
Tumores do Estroma e Cordão Sexual e Células Germinativas	
Gonadoblastoma, incluindo gonadoblastoma com tumor de células germinativas maligno	
Tumor misto de células germinativas e do estroma e cordão sexual, não classificado	

8.1 ANEXO B

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS DE PACIENTES COM HIPERANDROGENISMO NA PÓS-MENOPAUSA

Dados clínicos

Nome:

RGHC:

Idade: Data de nascimento:

Comorbidades:

Medicações em uso:

Idade de início dos sintomas:

Idade da menarca:

Idade da menopausa:

Terapia de reposição hormonal prévia: ☐ sim ☐ não

Ciclos menstruais no período fértil: ☐ regulares ☐ irregulares

G____P____A____

Tabagismo: ☐ sim ☐ não

Exame físico da primeira consulta-

PA:

Altura: Peso: IMC:

Acantose nigricans: ☐ sim ☐ não

Hirsutismo- Escore de Ferriman:

Alopecia: ☐ sim ☐ não

Clitoromegalia: ☐ sim: _____cm ☐ não

Hipertrofia muscular: ☐ sim ☐ não

Alteração da voz: ☐ sim ☐ não

Acne: ☐ sim ☐ não

Aumento da libido: ☐ sim ☐ não

Cirurgia-**Data:****Tipo de cirurgia:****Achados cirurgicos:****Anatomopatológico:****Exames de sangue**

Exame/ data	basal	6 m após cirurgia	12 m após cirurgia
Testosterona total (ng/dL)			
E ₂ (pg/mL)			
LH (IU/L)			
FSH (IU/L)			
SDHEA (ng/mL)			
17OHP (ng/mL)			
Androstenediona (ng/mL)			
CA 125			
Glicemia (mg/dL)			
HbA1C (%)			
Colesterol total (mg/dL)			
HDL (mg/dL)			
LDL (mg/dL)			
Triglicérides (mg/dL)			
TSH			

► Análogo de GnRH – data:

	basal	3 meses após
Testosterona total (ng/dL)		
LH (IU/L)		
FSH (IU/L)		
SDHEA (ng/mL)		
E ₂ (pg/mL)		

Exames de imagem**► USG transvaginal – Data:**

Útero (cm³):

Endométrio (mm):

OD (cm³):

OE (cm³):

Características:

► Tomografia de adrenais: data:**► RM pelve- data:**

Útero (cm³):

Endométrio (mm):

OD (cm³):

OE (cm³):

Características:

► PET-CT- data:

8.3 Anexo C. Dados da história clínica das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo

N	Idade de início dos sintomas (a)	Idade ao diagnóstico (a)	Tempo de evolução (a)	Idade de menarca (a)	Número de gestações	Características dos ciclos menstruais no período fértil	Número de abortos	Idade de início da menopausa (a)
1	50	58	8	11	2	Regulares	0	50
2	48	58	10	14	2	Regulares	2	45
3	57	62	8	13	7	Regulares	1	51
4	45	53	8	ND	3	Regulares	1	40 (histerectomia por mioma)
5	61	65	4	11	6	Regulares	0	45
6	54	56	2	13	3	Regulares	0	33 (FOP)
7	54	57	3	11	3	Regulares	0	38 (histerectomia + ooforectomia a D por carcinoma de colo uterino)
8	65	65	0,33	13	6	Regulares	1	43 (histerectomia por mioma)
9	67	77	10	14	12	Regulares	0	55
10	51	52	1	14	2	Regulares	1	45
11	45	56	9	11	5	Regulares	1	48
12	69	73	4	ND	5	Regulares	0	46
13	50	53	3	13	3	Regulares	0	45

Continua

continuação anexo C

N	Idade de início dos sintomas (a)	Idade ao diagnóstico (a)	Tempo de evolução (a)	Idade de menarca (a)	Número de gestações	Características dos ciclos menstruais no período fértil	Número de abortos	Idade de início da menopausa (a)
14	52	55	3	14	7	Regulares	2	52
15	53	55	2	12	1	Regulares	0	52
16	59	70	11	14	5	Regulares	3	50
17	50	52	2	16	2	Regulares	0	49
18	58	62	2	13	2	Regulares	0	50
19	40	55	15	11	3	Regulares	0	40
20	55	70	15	11	6	Regulares	1	50
21	50	54	4	15	0	Regulares	0	31 (histerectomia por mioma)
22	50	52	2	14	1	Regulares	0	41
23	58	61	3	ND	ND	Regulares	ND	45 (histerectomia por mioma)
24	50	56	6	14	5	Regulares	1	49
25	51	56	5	12	2	Regulares	0	46
26	66	67	1	14	3	Regulares	1	51
27	72	74	2	11	2	Regulares	0	54
28	24	56	32	15	0	Regulares	0	51
29	64	68	4	12	7	Regulares	1	53
30	75	80	5	14	0	Regulares	0	49
31	55	59	4	14	3	Regulares	0	48
32	59	69	10	13	4	Regulares	0	53
33	52	62	10	14	1	Regulares	0	48
34	34	52	18	11	0	Regulares	0	50

N=paciente; (a)= anos; FOP= Falência ovariana prematura; ND=não descrito;

8.4 Anexo D. Dados do exame físico das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo e diagnóstico de tumor secretor de andrógenos (TOSA) e hipertecose do estroma ovariano (HPT).

N	Altura (cm)	Peso (Kg)	IMC (Kg/m²)	Escala de Ferriman	Acne	Alopecia Androgênica	Clitoromegalia	Agravamento da Voz	Hipertrofia Muscular
1	153	96,0	41,0	15	Presente	presente	presente	presente	ausente
2	164	60,5	22,5	23	Ausente	presente	presente	presente	presente
3	149	65,3	29,4	18	Ausente	presente	presente	presente	presente
4	164	78,9	29,5	23	Ausente	presente	presente	presente	presente
5	154	80,1	33,8	14	Ausente	presente	presente	presente	presente
6	151	69,0	30,2	20	Ausente	presente	presente	presente	presente
7	144	65,4	31,5	22	Ausente	presente	presente	presente	ausente
8	167	105,0	37,6	11	Ausente	presente	presente	presente	ausente
9	155	77,9	32,4	31	Ausente	presente	presente	presente	presente
10	152	58,0	25,1	20	Ausente	presente	ausente	ausente	ausente
11	155	64,0	26,6	14	Ausente	presente	ausente	ausente	presente
12	155	55,8	23,2	10	Ausente	presente	presente	presente	presente
13	155	89,3	37,2	25	ND	presente	presente	presente	ND

continua

continuação anexo D

N	Altura (cm)	Peso (Kg)	IMC (Kg/m ²)	Escala de Ferriman	Acne	Alopecia Androgênica	Clitoromegalia	Agravamento da Voz	Hipertrofia Muscular
14	158	88,6	35,5	22	Ausente	presente	ausente	ausente	ausente
15	159	78,9	31,2	29	Ausente	presente	ausente	ausente	ausente
16	161	71,9	27,7	10	Ausente	ausente	presente	ausente	ausente
17	157	71,9	29,5	21	Presente	presente	ausente	ausente	ausente
18	154	83,7	35,8	20	Ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
19	160	64,2	25,1	27	Ausente	presente	ausente	ausente	ausente
20	152	82,5	35,7	21	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
21	152	49,55	21,4	28	Ausente	ausente	presente	ausente	presente
22	164	86,0	32,2	12	Ausente	presente	presente	ausente	presente
23	154	67,6	28,5	14	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
24	157	73,1	29,7	19	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
25	153	66,9	28,6	8	Ausente	presente	ausente	ausente	ausente
26	163	71,4	26,9	21	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
27	153	73,9	31,6	2	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
28	170	103,8	35,9	15	Ausente	presente	presente	presente	presente
29	164	80,6	29,9	11	Ausente	ausente	presente	ausente	ausente
30	155	95,8	39,9	26	Ausente	presente	presente	ausente	ausente
31	150	81,1	36,04	18	Ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
32	151	75,0	32,9	14	Ausente	presente	ND	ausente	ausente
33	155	86,0	35,8	28	Ausente	presente	ND	presente	presente
34	150	75,9	33,6	15	Presente	presente	ausente	ausente	ausente

N- Paciente; (a)= anos; ND- Não Descrito

8.5 Anexo E. Dados hormonais das mulheres pós-menopausadas com hiperandrogenismo e diagnóstico de tumor secretor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano.

N	Testosterona (ng/dL) VN <98	LH (UI/L) VN meno > 15	FSH (UI/L) VN meno > 31	Estradiol (pg/mL) VN meno <25
1.	656	0,1	1,0	42,0
2.	493	14,2	29,1	42,0
3.	317	0,6	1,0	44,2
4.	1780	9,0	9,5	261,0
5.	448	8,8	19,4	31,0
6.	583	4,8	10,0	47,0
7.	436	2,9	22,3	56,0
8.	244	16,6	29,1	44,0
9.	996	8,3	8,3	91,0
10.	85	35,7	28,7	23,7
11.	166	10,2	12,4	ND
12.	582	7,1	10,0	46,1
13.	495	4,5	6,0	57,0

continua

continuação anexo E

N	Testosterona (ng/dL) VN <98	LH (UI/L) VN meno > 15	FSH (UI/L) VN meno > 31	Estradiol (pg/mL) VN meno <25
14.	213	19,4	32,2	42,0
15.	340	9,2	10,5	38,0
16.	193	21,9	40,4	17,0
17.	302	23,8	32,4	30,4
18.	160	23,1	49,2	29,0
19.	163	40,3	91,8	40,0
20.	185	21,5	37,8	33,0
21.	101	51,6	109,1	28,0
22.	115	24,1	41,3	15,0
23.	308	23,2	46,1	23,3
24.	179	18,1	38,5	16,3
25.	173	28,3	54,1	ND
26.	251	11,4	22,4	35,0
27.	80	42,9	70,0	22,4
28.	75	23,1	18,3	14,0
29.	237	34,5	51,9	22,3
30.	348	13,3	29,1	15,0
31.	101	40,7	60,6	27,0
32.	59	7,6	14,9	20,0
33.	68	33,6	71,6	21,0
34.	170	13,8	30,1	29,0

N= paciente; LH- hormônio luteinizante; FSH- hormônio folículo estimulante; VN meno- valor de referência normal na pós-menopausa, VN- valor normal mulher em fase folicular;

8.6 Anexo F. Apresentação dos diagnósticos anatomopatológicos originais e após revisão do grupo de pacientes portadoras de tumor de ovário produtor de andrógenos.

Laudo anatomopatológico		
	original	após revisão
1	OD - Tu Leydig OE - Cistos de inclusão epitelial	OD - Tu Leydig + hipertecose OE – Hipertecose
2	OD - Tu Leydig OE - HPL estromal	OD - Tu Leydig + hipertecose OE – Hipertecose
3	OD - HPL estromal nodular e difusa OE - Tu Leydig	OD - Hipertecose OE - Tu leydig + hipertecose
4	OD - HPL estromal OE - Tu Leydig + HPL estromal	OD - Hipertecose OE - Tu Leydig + hipertecose
5	OD - Tu Leydig hilar OE - Não identificado na cirurgia	OD - Tu Leydig hilar OE - Não identificado na cirurgia
6	OD - HPL estromal OE - Tu cordões sexuais + estroma difusamente luteinizado	OD- Hipertecose OE- Tu céls esteroídicas SOE + hipertecose
7	OD - Ooforectomia aos 38 anos OE - Tu céls esteroídicas SOE	OD - Ooforectomia aos 38 anos OE - Tu céls esteroídicas SOE
8	OD - Não identificado na cirurgia OE - Tu céls esteroídicas SOE	OD - Não identificado na cirurgia OE - Tu céls esteroídicas SOE
9	OD - Atrófico com corpo albicans OE - Tecoma luteinizado	OD - Hipertecose OE - Tu de céls esteroídicas SOE
10	OD - Fibroma luteinizado OE - HPL estromal + HPL céls Leydig	OD - Tecoma + hipertecose OE – Hipertecose
11	OD - Tu Sertoli-Leydig MD OE – Atrófico	OD - Tu Sertoli-Leydig MD + hipertecose OE – Hipertecose
12	OD - Tu Sertoli-Leydig MD OE - HPL de céls Leydig	OD - Tu Sertoli-Leydig MD + hipertecose OE – Hipertecose
13	OD - Tu Sertoli-Leydig MD OE – Atrófico	OD - Tu Sertoli-Leydig MD + hipertecose OE - Atrófico, sem hiperplasia estromal

OD= Ovário direito; OE= Ovário esquerdo; Tu= Tumor; HPL= Hiperplasia; SOE: Sem outra especificação; Céls: Células; MD: Moderadamente diferenciado; Bilat: Bilateral

8.7 Anexo G. Apresentação dos diagnósticos anatomopatológicos originais e após revisão do grupo de pacientes portadoras hipertecose do estroma ovariano

Laudo anatomopatológico	
inicial	após revisão
14 HPL estromal bilateral	Hipertecose bilateral
15 HPL estromal bilateral, forma nodular com luteinização estromal.	Hipertecose bilateral
16 Hipertecose estromal bilateral	Hipertecose bilateral
17 HPL estromal de cortical ovariana com focos de luteinização bilateral	Hipertecose bilateral
18 HPL estromal bilateral	Hipertecose bilateral
19 HPL estromal difusa bilateral com células luteinizadas	Hipertecose bilateral
20 HPL estromal difusa bilateral	Hipertecose bilateral
21 HPL estromal bilateral	Hipertecose bilateral
22 HPL estromal bilateral, forma difusa e nodular	Hipertecose bilateral
23 HPL estromal bilateral, forma difusa e nodular	Hipertecose bilateral
24 HPL estromal bilateral, forma difusa e nodular	Hipertecose bilateral
25 HPL estromal bilateral (áreas micronodulares)	Hipertecose bilateral
26 OD - HPL estromal, cisto de inclusão epitelial OE – Hipertecose	Hipertecose bilateral
27 OD - cistos serosos+HPL estromal OE - cistos simples serosos	Hipertecose bilateral
28 Parênquima ovariano com corpos albicans e depleção da reserva folicular	Hipertecose bilateral
29 HPL de células de Leydig bilateral	Hipertecose bilateral
30 HPL estromal bilateral difusa e nodular	Hipertecose bilateral
31 Cistos serosos simples bilateralmente	Hipertecose bilateral
32 Ovários atróficos bilateralmente	Hipertecose bilateral
33 OD - Atrófico OE - HPL de células de Leydig	Hipertecose bilateral
34 OD - Ooforectomia aos 35 anos OE - HPL estromal difusa e nodular	OD - Ooforectomia aos 35 a OE- Hipertecose

OD= Ovário direito; OE= Ovário esquerdo;HPL= Hiperplasia

8.8 Anexo H. Comparação dos níveis séricos mais baixos e mais elevados de testosterona de pacientes com tumor de ovário produtor de andrógenos e com hipertecose do estroma ovariano

Tumor ovariano produtor de andrógenos				Hipertecose do estroma ovariano			<i>p</i>
Testosterona (VN < 98 ng/dL)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	n	média (dp)	mediana (mín - máx)	
menor	12	507,5 (427,4)	451,5 (59 - 1762)	21	124,1 (67,7)	102 (50 - 251)	<0,001
maior	12	694,8 (563,4)	544,5 (112 - 2234)	21	215,1 (108,5)	185 (80 - 503)	<0,001

n= número absoluto; dp= desvio padrão; mín= valor mínimo; max= valor máximo; VN- valor normal mulher em fase folicular;

*teste Mann-Whitney

8.9 Anexo I. Resultado dos exames de ultrassom transvaginal nas mulheres pós-menopausadas com tumor de ovário produtor de andrógeno e hipertecose do estroma ovariano

	OD (cm³)	OE (cm³)	Útero (cm³)	Endométrio (mm)	Miomas	Doppler
1	5,2	8,3	398,3	2,0	não	não
2	9,0	7,0	166,0	2,0	sim	sim
3	10,0	6,7	122,0	ND	não	não
4	-					
5	374,0 (Cisto, 9,6 cm com vegetação sólida, hipervasc)	1,4	57,0	3,0	não	sim
6	NV	↑	300,0	ND	ND	não
7	RP	31,0 (cisto complexo, 4,3 cm, hipovasc)	ND	ND	ND	sim
8	-					
9	12,0	8,0	152,4	18,0	ND	não
10	16 (nódulo sólido, 2,6 cm, hipervasc)	3,0	57,0	9,7	não	sim
11	NV	NV	93,0	5,0	ND	não
12	10,3 (nódulo sólido, hiperecoico, 1,6 cm)	1,8	ND	14,0	ND	não
13	22,5 (cisto, com vegetação parietal no interior de 2,2 cm)	NV	ND	4,0	ND	não
14	6,5 (nódulo sólido, 1,1 cm, hipovasc)	4,2	98,4	6,0	ND	sim
15	16,0	NV	333,0	NV	ND	não
16	1,2	1,0	84,0	3,0	sim	não
17	10,3	9,8	147,0	4,3	sim	não
18	7,9	8,6	58,99	9,0	não	não
19	2,4	4,0	100,0	2,1	sim	não
20	5,2	10,3	62,0	4,0	sim	não
21*	12,4 (nódulo sólido, 2,1 cm, hipovasc)	7,2 (nódulo sólido, 1,2cm, hipervasc)	NV	ND	ND	sim
22	3,6 (nódulo sólido, 1,5 cm, hipovasc)	3,2 (nódulo sólido, 1,4 cm, hipovasc)	46,0	11,0	sim	sim
23	NV	4,5	NV	ND	ND	não
24	15,0	16,0	42,0	6,0	não	não
25	10 (nódulo sólido, 3,0 cm, hipervasc)	11,1 (nódulo sólido, 3,1 cm, normovasc)	40,0	1,9	sim	sim
26	1,4	2,5	66,0	9,0	não	não
27	5,3 (múltiplos cistos anecóicos)	3,4 (múltiplos cistos anecóicos)	134,0	ND	ND	não
28	11,8 (nódulo hiperecoico com calcificações periféricas)	12,7 (nódulo hiperecoico com calcificações periféricas)	30,1	2,0	sim	não
29	6,1	NV	179,0	19,0	ND	não
30	2,7 (nódulo sólido, hipovasc)	1,5	31,0	3,0	ND	sim
31	NV	0,9	45,0	7,0	ND	não
32	2,8	NV	96,0	3,1	ND	não
33	NV	NV	ND	ND	sim	não
34	RP	30,4 (nódulo sólido com calcificação periférica)	32,5	1,0	não	não

NV= não vizibilizado; ND= não descrito no prontuário; OD=ovário direito; OE=ovário esquerdo; RP=retirado previamente; hipervasc= hipervascularizado; hipovasc= hipovascularizado; normovasc= vascularização normal; - = exame não realizado; *=via abdominal.

8.10 Anexo J. Comparação dos resultados dos exames de ressonância magnética de pelve originais e após revisão por um único radiologista das mulheres pós-menopausadas com tumor ovariano produtor de andrógenos e hipertecose do estroma ovariano

RM pélvica laudada por diferentes radiologistas						RM pélvica laudada por um único radiologista				
	OD (cm³)	OE (cm³)	T1	T2	RC	OD (cm³)	OE (cm³)	T1	T2	RC
1	6,4 (nódulo sólido hipervasc, 1,9 cm)	4,5	ND	ND	ND	6,4 (nódulo sólido hipervasc, 2,0 cm)	4,5	↓	↑	↑↑
2	8,1 (nódulo sólido hipervasc, 2,9 cm)	0,8	ND	ND	ND	8,4 (nódulo sólido hipervasc, 2,4 cm)	0,8	↓	↑	↑↑
5	308,5 (cisto, 9,0 cm e nódulo sólido hipervasc, 3,2 cm)	NM (sem alt)	ND	ND	ND	302,3 (sólido-cística, hipervasc, 3,2 cm)	3,2	↓	=↓	↑↑
8	NM	NM (nódulo sólido, 2,5 cm)	ND	ND	ND	0,8	10,1 (nódulo sólido hipervasc, 2,4 cm)	↓	focos de ↑/↓	↑↑
9	0,7	12,2	↓	↑	↑↑	9,7	19,6	↓	↓	↓↓
10	16,0 (nódulo sólido, 2,7 cm)	8,2	ND	↓	↑↑	24,9 (nódulo sólido, 2,6 cm)	10,5	↓	↓	↑↑
13	30,0 (aumento sólido ovariano, com rotura da camada cortical)	NV	ND	ND	ND	imagem NDR				
14	7,6	11,5 (nódulo sólido, 0,8 cm)	↓	↓	↑↑	7,6	11,5 (nódulo sólido, 0,8 cm)	↓	↓	↑↑
15	17,9 (cistos simples)	16 (cistos simples)	ND	ND	ND	19,0 (cistos simples)	19,6 (cistos simples)	↓	↓	↓↓
20	5,6	2,1	ND	↓	ND	7,4	4,3	↓	↓	↓↓
23	cisto, 1,2cm	NV	ND	ND	ND	imagem NDR				
24	5,3	8,1	ND	ND	ND	imagem NDR				
27	4,1 (cistos simples)	2,7 (cistos simples)	ND	ND	ND	imagem NDR				
28	3,0	3,0	ND	↓	ND	15,9	18,1	↓	↓	↓↓
32	NV	NV	ND	ND	ND	imagem NDR				
33	1,1	5,6	ND	ND	ND	1,1	5,6	↓	↓	↓↓

RM: Ressonância magnética; OD: Ovário Direito; OE: ovário esquerdo; RC: realce após contraste; ND: não descrito; NM: não mensurado; NV: não visualizado; NRD: não disponível para revisão; hipervasc: hipervascularizado; sem alt: sem alterações; ↓: hipossinal; ↑: hipersinal; ↑↑: com realce após contraste; ↓↓: sem realce após contraste; =↓: iso/hipossinal.

9 Referências Bibliográficas

1. Adashi E. The climacteric ovary as a functional gonadotropin-driven androgen-producing gland. *Fertil Steril*. 1994;62(1):20-7.
2. Rinaudo P, Strauss JF 3rd. Endocrine function of the postmenopausal ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33(4):661-74.
3. Clement PB. Anatomy and Histology of the Ovary. In: Kurman RJ, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Tract*. 5 ed. Baltimore-USA: Springer-Verlag New York, LLC;2002.p. 649-69.
4. Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA, Hofeditz C. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev*. 1985 Summer; 6(3):371-99.
5. Couzinet B, Meduri G, Lecce MG, Young J, Brailly S, Loosfelt H, et al. The postmenopausal ovary is not a major androgen-producing gland. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001Oct;86(10):5060-6.
6. Jose M, Puche C, Cabero A, Cabero L, Meseguer A. Expression of P450c17 messenger ribonucleic acid in postmenopausal human ovary tissues. *Fertil Steril*. 1999 Mar;71(3):528-35.
7. Rothman MS, Wierman ME. How should postmenopausal androgen excess be evaluated?. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Aug;75(2):160-4.
8. Markopoulos MC, Kassi E, Alexandraki KI, Mastorakos G, Kaltsas G. Management of Endocrine Disease: Hyperandrogenism after menopause. *Eur J Endocrinol*. 2014 Feb;172(2):79-91.
9. Organização Mundial de Saúde. Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Lyon: WHO; 2014.
10. Oliva E, Young RH. Endocrine pathology of the ovary : in tribute to Robert E Scully, MD. *Endocr Pathol*. 2014 Mar;25(1):102-19.
11. Outwater EK, Wagner BJ, Mannion C, McLarney JK, Kim B. Sex cord-stromal and steroid cell tumors of the ovary. *Radiographics*. 1998 Nov-Dec;18(6):1523-46.
12. Zhang M, Cheung MK, Shin JY, Kapp DS, Husain A, Teng NN, et al. Prognostic factors responsible for survival in sex cord stromal tumors of the ovary - an analysis of 376 women. *Gynecol Oncol*. 2007 Feb;104(2):396-400.
13. Di Giacinto P, Chioma L, Vancieri G, Guccione L, Cicerone E, Ulisse S, et al. Virilizing leydig-sertoli cell ovarian tumor associated with endometrioid carcinoma of the endometrium in a postmenopausal patient: case report and general considerations. *Clin Med Insights Case Rep*. 2012;5:149-53.

14. Marcondes JA, Nery M, Mendonca BB, Hayashida SA, Halbe HW, Carvalho FM, et al. A virilizing Leydig cell tumor of the ovary associated with stromal hyperplasia under gonadotropin control. *J Endocrinol Invest*. 1997 Dec;20(11):685-9.
15. Pascale MM, Pugeat M, Roberts M, Rousset H, Dechaud H, Dutrieux-Berger N, et al. Androgen suppressive effect of GnRH agonist in ovarian hyperthecosis and virilizing tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994 Nov; 41(5):571-6.
16. Huhtaniemi I, Rulli S, Ahtiainen P, Poutanen M. Multiple sites of tumorigenesis in transgenic mice overproducing hCG. *Mol Cell Endocrinol*. 2005 Apr 29;234(1-2):117-26.
17. Fragoso MC, Latronico AC, Carvalho FM, Zerbini MC, Marcondes JA. Activating mutation of the stimulatory G protein (gsp) as a putative cause of ovarian and testicular human stromal Leydig cell tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Jun;83(6):2074-8.
18. Uhlenhaut NH, Jakob S, Anlag K, Eisenberger T, Sekido R, Kress J, et al. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell* 2009 Dec 11;139(6):1130-42.
19. Verdin H, De Baere E. FOXL2 impairment in human disease. *Horm Res Paediatr*. 2012;77(1): 2-11.
20. Biason-Lauber A, Konrad D, Navratil F, Schoenle EJ. A WNT4 mutation associated with Mullerian-duct regression and virilization in a 46,XX woman. *N Engl J Med*. 2004 Aug 19;351(8):792-8.
21. Auguste A, Chassot AA, Gregoire EP, Renault L, Pannetier M, Treier M, et al. Loss of R-spondin1 and Foxl2 amplifies female-to-male sex reversal in XX mice. *Sex Dev*. 2011;5(6):304-17.
22. Boyer A, Goff AK, Boerboom D. WNT signaling in ovarian follicle biology and tumorigenesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2009 Jan;21(1):25-32.
23. Shah SP, Kobel M, Senz J, Morin RD, Clarke BA. Mutation of FOXL2 in granulosa-cell tumors of the ovary. *N Engl J Med*. 2009 Jun 25;360(26):2719-29.
24. Ottolenghi C, Pelosi E, Tran J, Colombino M, Douglass E, Nedorezov T, et al. Loss of Wnt4 and Foxl2 leads to female-to-male sex reversal extending to germ cells. *Hum Mol Genet*. 2007 Dec 1;16(23):2795-804.
25. Kalfa N, Fellous M, Boizet-Bonhoure B, Patte C, Duvillard P, Pienkowski C, et al. Aberrant expression of ovary determining gene FOXL2 in the testis and juvenile granulosa cell tumor in children. *J Urol*. 2008 Oct;180(4 Suppl):1810-3.
26. Looijenga LH, Hersmus R, Gillis AJ, Pfundt R, Stoop HJ, van Gurp RJ, et al. Genomic and expression profiling of human spermatocytic seminomas: primary

spermatocyte as tumorigenic precursor and DMRT1 as candidate chromosome 9 gene. *Cancer Res.* 2006 Jan 1;66(1):290-302.

27. Overview of sex cord-stromal tumors of the ovary [database on the Internet]. UpToDate. 2012 [cited 01-06-2014]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-sex-cord-stromal-tumors-of-the-ovary>
28. Papanastasopoulos P, Repanti M, Damaskou V, Bravou V, Papadaki H. Investigating differentiation mechanisms of the constituent cells of sex cord-stromal tumours of the ovary. *Virchows Arch.* 2008 Nov;453(5):465-71.
29. Young RH, Scully RE. Ovarian Sertoli-Leydig cell tumors. A clinicopathological analysis of 207 cases. *Am J Surg Pathol.* 1985 Aug;9(8):543-69.
30. Wenham RM, Berchuck, A. The molecular biology of Sertoli-Leydig cell tumors of the ovary. *CME Journal of Gynecologic Oncology.* 2002;7(2):121-5.
31. Gui T, Cao D, Shen K, Yang J, Zhang Y, Yu Q, et al. A clinicopathological analysis of 40 cases of ovarian Sertoli-Leydig cell tumors. *Gynecol Oncol.* 2012 Nov;127(2):384-9.
32. Sex cord-stromal tumors of the ovary: Sertoli-stromal cell tumors [database on the Internet]. Up To Date. 2014 [cited 22-04-2014]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/sex-cord-stromal-tumors-of-the-ovary-sertoli-stromal-cell-tumors>
33. Young RHS, R.E. Sex cord-stromal steroid cell and other ovarian tumors. In: RJ K, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Tract*. Baltimore, USA: Springer-Verlag, New York; 1994.
34. Yuan M, Qiu M, Zhu M. Symptomatic Cushing syndrome and hyperandrogenemia revealing steroid cell ovarian neoplasm with late intra-abdominal metastasis. *BMC Endocr Disord.* 2014;14:12.
35. Sawathiparnich P, Sitthinamsuwan P, Sanpakit K, Laohapensang M, Chuangsuwanich T. Cushing's syndrome caused by an ACTH-producing ovarian steroid cell tumor, NOS, in a prepubertal girl. *Endocrine.* 2009 Apr;35(2):132-5.
36. Hayes MC, Scully RE. Ovarian steroid cell tumors (not otherwise specified). A clinicopathological analysis of 63 cases. *Am J Surg Pathol.* 1987 Nov;11(11):835-45.
37. Burandt E, Young RH. Thecoma of the ovary: a report of 70 cases emphasizing aspects of its histopathology different from those often portrayed and its differential diagnosis. *Am J Surg Pathol.* 2014 Aug;38(8):1023-32.

38. Geist SH GJ. Diffuse luteinization of the ovaries associated with masculinization syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1942;43:975-83.
39. Fraenkel L. Thecoma and Hyperthecosis of the Ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 1943;3(10):557-9.
40. Scully RE, editor. Tumor-like lesions: stromal hyperthecosis. 3 ed: Armed Forces Institute of Pathology: Washington DC; 1996.
41. Nagamani M, Osuampke C, Kelter ME. Increased bioactive luteinizing hormone levels and bio/immuno ratio in women with hyperthecosis of the ovaries: possible role of hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 May;84(5):1685-9.
42. Krug E, Berga SL. Postmenopausal hyperthecosis: functional dysregulation of androgenesis in climacteric ovary. *Obstet Gynecol.* 2002 May;99(5 Pt 2):893-7.
43. Nakano R, Shima K, Yamoto M, Kobayashi M, Nishimori K, Hiraoka J. Binding sites for gonadotropins in human postmenopausal ovaries. *Obstet Gynecol.* 1989 Feb;73(2):196-200.
44. Koroscil TM, Harter SB, Ouweleen J, Blauer KL. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist in the evaluation of postmenopausal virilization due to ovarian hyperthecosis. A case report. *J Reprod Med.* 1996 Apr;41(4):259-62.
45. Nagamani M, Van Dinh T, Kelter ME. Hyperinsulinemia in hyperthecosis of the ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1986 Feb;154(2):384-9.
46. Vaikkakara S, Al-Ozairi E, Lim E, Advani A, Ball SG, James RA, et al. The investigation and management of severe hyperandrogenism pre- and postmenopause: non-tumor disease is strongly associated with metabolic syndrome and typically responds to insulin-sensitization with metformin. *Gynecol Endocrinol.* 2008 Feb;24(2):87-92.
47. Barth JH, Jenkins M, Belchetz PE. Ovarian hyperthecosis, diabetes and hirsuties in post-menopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997 Feb;46(2):123-8.
48. Rousset P, Gompel A, Christin-Maitre S, Pugeat M, Hugol D, Ghossain MA, et al. Ovarian hyperthecosis on grayscale and color Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Oct;32(5):694-9.
49. Sarfati J, Bachelot A, Coussieu C, Meduri G, Touraine P. Impact of clinical, hormonal, radiological, and immunohistochemical studies on the diagnosis of postmenopausal hyperandrogenism. *Eur J Endocrinol.* 2011 Nov;165(5):779-88.
50. Volvaard ES, van Beek AP, Verburg FA, Roos A, Land JA. Gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in postmenopausal women with

hyperandrogenism of ovarian origin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 May;96(5):1197-201.

51. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Aug 1;140(7):815-30.
52. Horejsi J. Acquired clitoral enlargement. Diagnosis and treatment. *Ann N Y Acad Sci.* 1997 Jun 17;816:369-72.
53. Ludwig E. Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *Br J Dermatol.* 1977 Sep;97(3):247-54.
54. Organização Mundial de Saúde. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva: WHO; 2000.
55. Giacobbe M, Mendes Pinto-Neto A, Simoes Costa-Paiva LH, Martinez EZ. The usefulness of ovarian volume, antral follicle count and age as predictors of menopausal status. *Climacteric.* 2004 Sep;7(3):255-60.
56. Merz E, Miric-Tesanic D, Bahlmann F, Weber G, Wellek S. Sonographic size of uterus and ovaries in pre- and postmenopausal women. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996 Jan;7(1):38-42.
57. Langer JE, Oliver ER, Lev-Toaff AS, Coleman BG. Imaging of the female pelvis through the life cycle. *Radiographics.* 2012 Oct;32(6):1575-97.
58. Cohen HL, Tice HM, Mandel FS. Ovarian volumes measured by US: bigger than we think. *Radiology.* 1990 Oct;177(1):189-92.
59. McCullagh; P, Nelder J. Generalized Linear Models: Chapman and Hall; 1989.
59. Neter J, Kutner M, Wasserman W, Nachtsheim C. Applied Linear Statistical Models. 4 ed. Statistics ISI, editor: McGraw-Hill/Irwin; 1996.
60. Neter J, Kutner M, Wasserman W, Nachtsheim C. Applied Linear Statistical Models. 4 ed ed. Statistics ISI, editor: McGraw-Hill/Irwin; 1996.
61. Harris R, Whittemore AS, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. III. Epithelial tumors of low malignant potential in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol.* 1992 Nov 15;136(10):1204-11.
62. Gnagy S, Ming EE, Devesa SS, Hartge P, Whittemore AS. Declining ovarian cancer rates in U.S. women in relation to parity and oral contraceptive use. *Epidemiology.* 2000 Mar;11(2):102-5.
63. Dumesic DA, Oberfield SE, Stener-Victorin E, Marshall JC, Legro RS. Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and

Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocr Rev.* 2015 Oct;36(5):487-525.

64. Friedman CI, Schmidt GE, Kim MH, Powell J. Serum testosterone concentrations in the evaluation of androgen-producing tumors. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Sep 1;153(1):44-9.
65. Boots LR, Potter S, Potter D, Azziz R. Measurement of total serum testosterone levels using commercially available kits: high degree of between-kit variability. *Fertil Steril.* 1998 Feb;69(2):286-92.
66. Azziz R, Sanchez LA, Knochenhauer ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC, et al. Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Feb;89(2):453-62.
67. Maroulis GB. Evaluation of hirsutism and hyperandrogenemia. *Fertil Steril.* 1981 Sep;36(3):273-305.
68. Marcondes JA, Curi DD, Matsuzaki CN, Barcellos CR, Rocha MP, Hayashida SA, et al. Ovarian hyperthecosis in the context of an adrenal incidentaloma in a postmenopausal woman. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008 Oct;52(7):1184-8.
69. Sharma A, Burnell M, Gentry-Maharaj A, Campbell S, Menon U. Factors affecting visualization of postmenopausal ovaries: descriptive study from the multicenter United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013 Oct;42(4):472-7.
70. Outwater EK, Marchetto B, Wagner BJ. Virilizing tumors of the ovary: imaging features. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000 May;15(5):365-71.
71. Brown DL, Henrichsen TL, Clayton AC, Hudson SB, Coddington CC, 3rd, Vella A. Ovarian stromal hyperthecosis: sonographic features and histologic associations. *J Ultrasound Med.* 2009 May;28(5):587-93.
72. Stacher E, Pristauz G, Scholz HS, Moinfar F. Bilateral ovarian well-differentiated Sertoli-Leydig cell tumors with heterologous elements associated with unilateral serous cystadenoma--a case report. *Int J Gynecol Pathol.* 2010 Sep;29(5):419-22.
73. Cabrera-Cantu F, Urrutia-Osorio M, Valdez-Arellano F, Rivadeneyra-Espinoza L, Papaqui A, Soto-Vega E. Sertoli-Leydig cell tumor in a 12-year-old girl: a review article and case report. *Arch Gynecol Obstet.* 2014 Oct;290(4):791-6.
74. Kurjak A, Kupesic S, Simunic V. Ultrasonic assessment of the peri- and postmenopausal ovary. *Maturitas* 2002 Apr 25;41(4):245-54.

75. Prassopoulos V, Laspas F, Vlachou F, Efthimiadou R, Gogou L, Andreou J. Leydig cell tumour of the ovary localised with positron emission tomography/computed tomography. *Gynecol Endocrinol*. 2011 Oct;27(10):837-9.
76. Faria AM, Perez RV, Marcondes JA, Freire DS, Blasbalg R, Soares J, Jr., et al. A premenopausal woman with virilization secondary to an ovarian Leydig cell tumor. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Apr;7(4):240-5.
77. Paragliola RM, Torino F, Senes P, Castellino L, Salutari V, Pontecorvi A, et al. "Occult" ovarian Leydig cell tumor: when laboratory tells more than imaging. *Endocrine*. 2013 Jun;46(2):351-4.