

Tumor de células da granulosa do ovário: estudo de casos com utilização da imuno-histoquímica no diagnóstico diferencial

JOSÉ AUGUSTO ASSUMPÇÃO CRESPO RIBEIRO¹, FLORÊNCIO FIGUEIREDO², NELSON AUGUSTO³

Trabalho realizado no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia e no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP).

Resumo

Um estudo retrospectivo de 23 casos de tumor de células da granulosa do ovário foi realizado. Inicialmente foi feito um estudo imuno-histoquímico empregando anticorpos antiantígeno de membrana epitelial e citoceratina. Nenhum tumor com histologia característica mostrou positividade para estes anticorpos, enquanto três com histologia não característica apresentaram reações positivas. Estes tumores foram classificados como tumores epiteliais indiferenciados, pois tanto o prognóstico desfavorável como a baixa taxa de sobrevida indicavam não se tratar de tumor de células da granulosa. Os autores prosseguiram o estudo clínico e anatomopatológico somente com os casos que confirmaram, pela histologia e imuno-histoquímica, ser tumor de células da granulosa. A dor abdominal foi o sintoma mais freqüente e somente 50% apresentaram sintomas ligados à ação estrogênica. Características histológicas não diferiram das já relatadas. Não se evidenciou o tamanho do tumor como fator prognóstico. Dos 12 casos em que foi realizada avaliação do endométrio, o achado de hiperplasia foi o mais comum. O tratamento cirúrgico foi o de escolha como conduta inicial. O tratamento adjuvante ou complementar foi discutido.

Unitermos: neoplasias do ovário; imuno-histoquímica

Introdução

O conhecimento existente a respeito da oncogênese do tumor de células da granulosa do ovário vem de estudos em animais de laboratório. Vários modelos foram empregados na tentativa de induzir a formação deste tumor. O crescimento desta neoplasia em ratos submetidos a irradiação é um exemplo [1]. Nestes experimentos freqüentemente é observada uma seqüência de eventos caracterizada por destruição de ovócitos, aumento dos níveis de gonadotrofinas hipofisárias e proliferação irregular das células da

granulosa [2]. Estes fatos explicariam o aparecimento de tumor de células de granulosa em humanos na perimenopausa, mas não os que ocorrem no menarca ou antes da menarca [2, 3]. Entretanto, este tumor ocorre de forma espontânea [4] ou induzida [5] em algumas espécies de ratos (SWR e SWXJ-9) em fase peripuberal, com ovócitos intactos e níveis normais ou baixos de gonadotrofinas. Tenent et al. [6] observaram que a geração F1 da hibridização destas duas espécies apresentam um percentual maior da formação espontânea deste tumor. Através dos achados morfológicos das lesões pré-neoplásicas, eles tam-

¹Pós-Graduando em Tocoginecologia da FMRP-USP; ²Docente do Departamento de Patologia da FMRP-USP. Pesquisador-Bolsista do CNPq; ³Docente do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP. Endereço do autor para correspondência: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) - Ribeirão Preto - SP - CEP 14049-900.

bém verificaram que a formação inicial do tumor se deve ao distúrbio no desenvolvimento folicular. O que acontece previamente para que ocorram este distúrbio e a proliferação irregular das células da granulosa ainda não foi esclarecido.

Se existem dúvidas quanto à etiologia, há unanimidade entre diversos autores [2, 7, 8] em considerar o tumor de células da granulosa do ovário como uma neoplasia maligna, apesar de seu baixo potencial de malignidade. Fox et al. [9] comentam que 50% das pacientes com tumor de células da granulosa morrem dentro de 20 anos em consequência desta neoplasia, se neste período não falecerem de alguma outra causa.

Em relação à freqüência, o tumor de células da granulosa compreende cinco a 10% de todos os tumores malignos do ovário, bem como aproximadamente 80% dos tumores funcionantes dessa gônada [8, 10].

As características histopatológicas são bem definidas e, na maioria das vezes, o diagnóstico não apresenta dificuldades. Ocasionalmente, o diagnóstico diferencial com adenocarcinoma indiferenciado pode ser complicado [11]. Nesta situação a imuno-histoquímica parece ser um recurso útil, como foi demonstrado por Chadha e Kwast [12], que empregaram os anticorpos antifilamentos intermediários e antígeno de membrana epitelial. Estes autores estudaram 47 casos e somente seis apresentaram uma histologia não muito típica e um prognóstico muito desfavorável, levando ao diagnóstico de adenocarcinomas indiferenciados.

Por serem tumores de baixo potencial de malignidade, o diagnóstico diferencial é importante para a instituição de uma terapêutica adequada. O tratamento de consenso é a anexectomia ou a ooforectomia unilateral para pacientes jovens que tenham tumor restrito ao ovário e desejam manter sua capacidade reprodutiva. Os demais casos são tratados com histerectomia total e anexectomia bilateral [7, 13, 14]. A terapêutica adjuvante ou complementar, que deve ser empregada em algumas situações, permanece em controvérsia. Os critérios para a utilização da radioterapia ou quimioterapia diferem entre os autores [7, 15, 17], e a experiência com terapia hormonal é extremamente limitada.

Verifica-se que o tumor de células da granulosa ainda tem etiologia bastante obscura. Os relatos são infreqüentes devido à baixa incidência e algumas dúvidas permanecem a respeito do tratamento. Logo, o estudo desta neoplasia é importante e sempre oportuno.

Frente a essas observações, o objetivo deste trabalho é fazer um estudo de casos de tumor de células da granulosa do ovário, utilizando reações imuno-histoquímicas com anticorpos antiantígeno de membra-

na epitelial e citoceratina. Desta forma será avaliada a utilidade da imuno-histoquímica no diagnóstico diferencial e será feita a exclusão dos casos que não fazem parte deste grupo de neoplasia, impedindo a distorção dos dados referentes unicamente ao tumor de células da granulosa.

Material e Métodos

Foi feito um estudo retrospectivo com os casos de tumor de células da granulosa do ovário, registrados no Hospital das Clínicas (Departamento de Ginecologia e Obstetrícia e de Patologia) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no período de 1955 a 1990.

Previamente foi feita uma revisão de lâminas de todos os casos, para confirmação do diagnóstico histopatológico e para seleção de tecido tumoral (previamente fixado em formol e incluído em parafina) a ser empregado nas reações imuno-histoquímicas.

O estudo imuno-histoquímico foi realizado empregando-se o método do Complexo Peroxidase-Antiperoxidase (PAP), de Sternberger [18], com algumas modificações anteriormente descritas [19], utilizando anticorpos monoclonais específicos anticitoceratina e antígeno de membrana epitelial. As especificações destes anticorpos encontram-se na Tabela 1. As reações imuno-histoquímicas foram classificadas em positiva ou negativa, conforme a expressão do tumor.

Tabela 1. Anticorpos utilizados no estudo imuno-histoquímico.

Anticorpo monoclonal anti	Anti-soro	Laboratório	Diluição
Citoceratina (Dako-CK1)	Camundongo	Dako Corp. Sta. Barb. CA, EUA	1:400
Antígeno da membrana epitelial	Camundongo	Dako Corp. Sta. Barb. CA, EUA	1:10

Feita a determinação do diagnóstico histopatológico através da revisão de lâminas e/ou do estudo imuno-histoquímico, foi realizado o estudo clínico e anatomopatológico somente destes casos.

No estudo clínico, foram analisados através de dados de prontuário os seguintes aspectos: idade das pacientes, sintomatologia, idade da menarca, *status* menstrual, paridade, achado de exame físico, estadiamento (FIGO), tratamento cirúrgico, tratamento adjuvante ou complementar, e seguimento.

No estudo anatomopatológico, os dados de ma-

croscopia avaliados através dos laudos foram: tamanho do tumor (maior diâmetro), consistência e ovário acometido (direito, esquerdo ou bilateral). Na histologia foi verificado o padrão histológico dos tumores e o grau de diferenciação. Também foram analisadas as alterações histológicas do endométrio, nos casos em que esta informação foi disponível.

Resultados

No levantamento feito encontrou-se um total de 23 casos diagnosticados como tumor de células da granulosa. Durante a revisão de lâminas, constatou-se que 19 casos apresentavam histologia característica de tumor de células da granulosa e quatro apresentavam dúvidas quanto a este diagnóstico.

O estudo imuno-histoquímico foi realizado em 20 casos (três casos não possuíam blocos de parafina). Os 16 casos com histologia característica avaliada pela imuno-histoquímica apresentaram reações negativas. Dos quatro casos com histologia não-característica, três apresentaram reação positiva para o antígeno de membrana epitelial e, destes, dois também foram positivos para a citoceratina (Tabela 2).

Tabela 2. Estudo imuno-histoquímico de 20 casos diagnosticados como tumor de células de granulosa.

Histologia	Nº de casos com reação positiva		
	n	EMA	CK
Característica	16	0	0
Não característica	4	3	2
Total	20	3	2

EMA - antígeno de membrana epitelial
CK - Citoceratina

Procedeu-se o estudo clínico em 20 casos, 16 com histologia característica e imuno-histoquímica indicativa de tumor de células da granulosa, sendo um caso com histologia não-característica, mas com imuno-histoquímica indicativa. Foram incluídos ainda os três casos, nos quais não foi possível realizar o estudo imuno-histoquímico, por apresentarem uma histologia típica de tumor de células da granulosa. Portanto, foram excluídos três dos 23 casos iniciais, que não confirmaram, pela imuno-histoquímica, ser tumor de células da granulosa.

A idade das pacientes variou de 12 a 61 anos, com mediana de 42 anos (Tabela 3). O quadro clínico mais freqüente apresentado por estas pacientes foi a dor abdominal, associada ou não à presença de tumor ou aumento de volume abdominal, em 95% dos casos. Em relação a sintomas ligados à ação hormonal, 35%

tiveram sangramento vaginal, 15% amenorréia e 50% não apresentaram este tipo de sintomatologia (Tabela 4). Um caso foi totalmente assintomático, sendo achado de uma laparotomia por causa não ginecológica. A idade média da menarca foi de 13,2 anos, nenhuma paciente estava na pré-menarca e três eram pós-menopausadas. Das 20 pacientes, 15 tinham um filho (ou mais de um) e cinco eram nuligestas, sendo que, destas, quatro eram solteiras e uma casada, que teve filho após o tratamento. O tumor foi palpável ao exame físico ou ginecológico em 65% dos casos.

Tabela 3. Distribuição segundo a faixa etária no momento do diagnóstico de tumor de células da granulosa.

Faixa etária	n	%
10 - 20	1	5
20 - 30	1	5
30 - 40	6	30
40 - 50	9	45
50 - 60	2	10
60 - 70	1	5
Total	20	100

Tabela 4. Sintomatologia de 20 pacientes com tumor de células da granulosa, relacionados à sua provável fisiopatologia.

Sintomas ligados à compressão de estruturas e/ou tamanho do tumor	n	%
Dor e tumor ou aumento de volume abdominal	10	50
Dor	6	30
Tumor ou aumento de volume abdominal	3	15
Nenhum	1	5
Total	20	100

Sintomas ligados à produção hormonal do tumor	n	%
Sangramento vaginal	7	35
Amenorréia	3	15
Nenhum	10	50
Total	20	100

Quanto aos dados anatomopatológicos verificou-se que o tamanho do tumor variou de 4 a 27 cm, sendo que 50% eram maiores do que 15 cm. A consistência do tumor foi analisada em 12 casos, sendo nove deles císticos com áreas sólidas e três sólidos. O comprometimento dos ovários esquerdo e direito ocorreu respectivamente em 12 e sete casos. Não foi possível

determinar um dos casos devido à disseminação abdominal do tumor.

Na avaliação microscópica, o padrão histológico microfolicular, caracterizado pelos corpúsculos de Call-Exner, foi encontrado em seis casos (Figuras 1A e 1B), o difuso ou sarcomatóide em sete e o misto (dois ou mais padrões associados) também em sete casos. Um dos casos apresentava algumas áreas com células da teca e outro com células de Sertoli. Um outro caso tinha histologia compatível com tumor de células da granulosa do tipo juvenil. Encontrou-se tumor bem diferenciado em oito casos, e moderadamente e pouco diferenciado em cinco e sete casos, respectivamente.

O estudo histológico do endométrio foi realizado em 12 casos, através de material de curetagem uterina ou de peça cirúrgica (Tabela 5).

Os dados de estadiamento, conduta terapêutica e seguimento foram levantados em 14 casos e encontram-se na Tabela 6. Nos seis casos restantes não foi possível a obtenção destas informações.

Discussão

A média de idade das pacientes com tumor de células da granulosa deste estudo foi menor (42 anos)

Tabela 5. Histologia do endométrio de 12 pacientes com tumor de células da granulosa.

Tipo histológico	n	%
Endométrio proliferativo	3	25,0
Hiperplasia simples	3	25,0
Endométrio secretor	2	16,6
Hiperplasia cística	2	16,6
Hiperplasia adenomatosa sem atipias	1	8,3
Hiperplasia adenomatosa com atipias	1	8,3
Adenocarcinoma do endométrio	0	0,0
Total	12	99,8

do que a relatada em outros trabalhos, que a demonstram em torno dos 50 anos [8, 9].

No quadro clínico, o que chamou a atenção foi a maior freqüência dos sintomas ligados à compressão de estruturas vizinhas e ao tamanho do tumor, em relação aos sintomas ligados às características clínicas de efeito estrogênico. Estes sintomas são relatados numa freqüência de 75 a 85% [2]. O sangramento vaginal tem sido, entre eles, o mais freqüente, juntamente com outras irregularidades menstruais [20], confirmado também neste estudo. Nas pacientes em

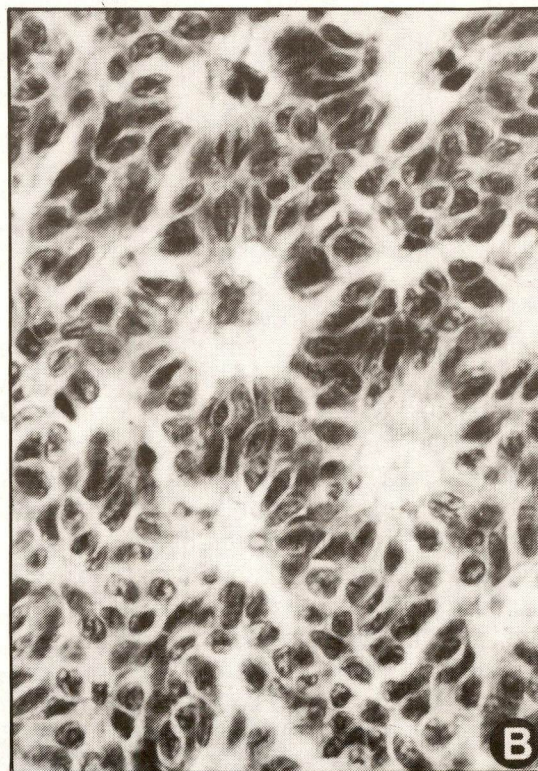


Figura 1A. Tumor de células da granulosa do ovário. Padrão microfolicular (H-E, 150x). **B** - Tumor de células da granulosa do ovário. Corpúsculo de Call-Exner (H-E, 400x).

Tabela 6. Idade, estadiamento, conduta terapêutica e seguimento de 14 pacientes com tumor de células da granulosa.

Idade	Estádio	Cirúrgica	Terapêutica adjuvante ou complementar	Seguimento ¹
33	I	HTA-AB-OM	-	6/SED
46	I	HTA-AB-OM	-	7/SED
37	I	HTA-AB-OM	RT-QT	2/SED
40	I	HTA-AB-OM	-	13,5/SED
44	I	HTA-AB-OM	QT**	6/SED
49	I	HTA-AB-OM	-	0,5/SED
43	I	HTA-AB	-	1/SED
39	I	HTA-AB	-	13/SED
59	I	HTA-AB	-	0,5/SED
39	I	OU	-	22/ÓBITO ²
61	I	AU	-	10/RECIDIVA ³
47	I	AU	-	1/SED
36	I	AU	-	1,5/SED
48	I	LB	QT***	1/ÓBITO

HTA - histerectomia total abdominal; AB - anexectomia bilateral; AU - anexectomia unilateral; OU - ooforectomia unilateral; OM - omentectomia; LB - laparotomia e biópsia; RT - radioterapia; QT - quimioterapia; SED - sem evidência de doença.

1 - tempo de acompanhamento em anos e condições da paciente em seu último retorno; 2 - óbito por outra causa; 3 - metástase hepática, óbito após três anos por outra causa; * - 4.800 rads (pelve); um ciclo de adriamicina e cis-platina; ** - três ciclos de alkeran; *** - três ciclos de 5-fluorouracil.

pré-menarca podem ocorrer ainda sinais de puberdade precoce [9, 20].

A produção de estrogênio por este tumor provavelmente ocorre da mesma forma que o tecido ovariano normal, havendo a síntese pelas células da granulosa a partir da aromatização de androgênicos sintetizados nas células da teca [2, 11]. O estrogênio plasmático mostra-se elevado e tem sido considerado como um marcador tumoral, já que seus níveis caem após o tratamento [17, 21, 22].

A idade da menarca das pacientes tem sido equivalente à população em geral [8]. Com relação à paridade, os achados deste estudo foram concordantes com os de outros autores [23, 24]. Não parece haver uma maior taxa de infertilidade nas pacientes com esta neoplasia, além do que muitas já passaram da idade reprodutiva.

Quanto ao estudo anatomopatológico, verificou-se que 50% dos tumores tiveram um tamanho maior do que 15 cm. Fox et al. [9] encontraram pior prognóstico para estes casos. Este estudo não evidenciou este fato, apesar do tempo de seguimento ter sido pequeno, em virtude das recorrências muito tardias deste tumor. A consistência dos tumores foi sólida ou cística, com áreas sólidas. Há relato de tumor de células da granulosa puramente cístico [20]. Não foi encontrado tumor bilateral. A bilateralidade tem sido relatada numa incidência de dois a 10% [7, 9, 10].

O padrão histológico e o grau de diferenciação encontrados não diferiram dos anteriormente relata-

dos. O padrão histológico não tem sido considerado como um fator prognóstico [7, 9]. Fox [2] comenta que o índice mitótico e as atipias celulares também não estão comprovados como sendo de valor prognóstico, nos casos de tumor restrito ao ovário. Atualmente, a citometria de fluxo pode ser um método de importância para auxiliar na determinação do comportamento biológico deste tumor. Klemi et al. [25] estudaram 23 casos e sugeriram que tumores aneuplóides, com uma porcentagem de células na fase "S" maior do que 6%, apresentam pior prognóstico. Em dois casos os tumores apresentavam áreas constituídas por outras células do cordão sexual, mas como a maior parte do tumor era constituída de células da granulosa, o diagnóstico permaneceu o mesmo, pois normalmente apresentam um comportamento idêntico ao das formas puras [7]. Um caso foi caracterizado como tumor de células da granulosa do tipo juvenil, em paciente de 12 anos. Este tumor foi descrito por Scully [3]. Segundo este autor, as células tumorais apresentam núcleos hiper cromáticos aparentando malignidade, mas na maioria da vezes o comportamento clínico é de um tumor benigno. Aproximadamente 85% dos tumores de células da granulosa que ocorrem antes da puberdade são deste tipo, sendo que somente 5% deles têm comportamento maligno [2].

Na histologia do endométrio, os achados deste estudo coincidem com os da literatura [7, 9, 24], sendo mais freqüente a hiperplasia simples ou a hiperplasia glandular cística. O adenocarcinoma foi en-

contrado em outros estudos [7, 9, 24] numa frequência de 3 a 13%. Neste estudo foi encontrado apenas um caso de hiperplasia adenomatosa com atipias e nenhum adenocarcinoma.

A conduta cirúrgica adotada na maioria das ocorrências foi a mesma de outros serviços [7, 14]. A realização de um estadiamento cirúrgico minucioso é sempre muito importante [13, 14]. Para os casos muito avançados a cirurgia citoredutora parece colaborar com a terapêutica complementar [13, 14]. Para o tumor de células da granulosa do tipo juvenil, o tratamento recomendado é a ooforectomia unilateral, porque as pacientes são jovens, o estágio é inicial e o prognóstico deste tumor ainda mais favorável [26, 27, 28].

A terapêutica adjuvante ou complementar é muito discutida. Neste estudo, em dois casos (estádios I e III) foi utilizada a quimioterapia e, em outro (estádio I), a combinação de radioterapia e quimioterapia. Nos dois casos de estágio I esta terapêutica pode ter sido aplicada porque houve ruptura do tumor, e um deles era um tumor pouco diferenciado, apesar de que, como foi mencionado, estes fatores não têm sido confirmados como de importância no prognóstico.

Schwartz e Smith [15] utilizam a radioterapia abdominal para pacientes no estágio I, em que houve ruptura do tumor, e utilizando-a nos demais estádios

com doença residual menor do que 2 cm.

A quimioterapia tem sido utilizada, mas nos casos avançados geralmente ocorre uma resposta parcial [7, 16]. Esquemas com 5-fluorouracil, actinomicina D e ciclofosfamida [13] ou com cisplatina, adriamicina e ciclofosfamida [16, 17] têm sido empregados. Colombo et al. [29] relataram uma boa resposta com cisplatina, vinblastina e bleomicina (PVB), porém o tempo de seguimento foi curto. Schwartz [14] indica o esquema com 5-fluorouracil, actinomicina D e ciclofosfamida quando o tumor residual é maior do que 2 cm e esquemas alternativos como o PVB ou VAC (vincristina, actinomicina D e ciclofosfamida) para pacientes previamente tratadas.

A efetividade do tratamento hormonal é ainda desconhecida. Martikainen et al. [30] relataram um caso com resposta parcial ao tratamento com análogos do hormônio liberador das gonadotrofinas, após falha de terapêutica cirúrgica e quimioterápica.

O tempo de seguimento das pacientes deste estudo é pequeno, considerando as recidivas tardias do tumor de células da granulosa. Stenwig et al. [7] relataram o aparecimento de recorrências entre 1 e 20 anos, com média de nove anos e sobrevida média após a recorrência de 2,6 anos. Em um caso deste estudo houve recidiva após 10 anos e a paciente faleceu após três anos por outra causa.

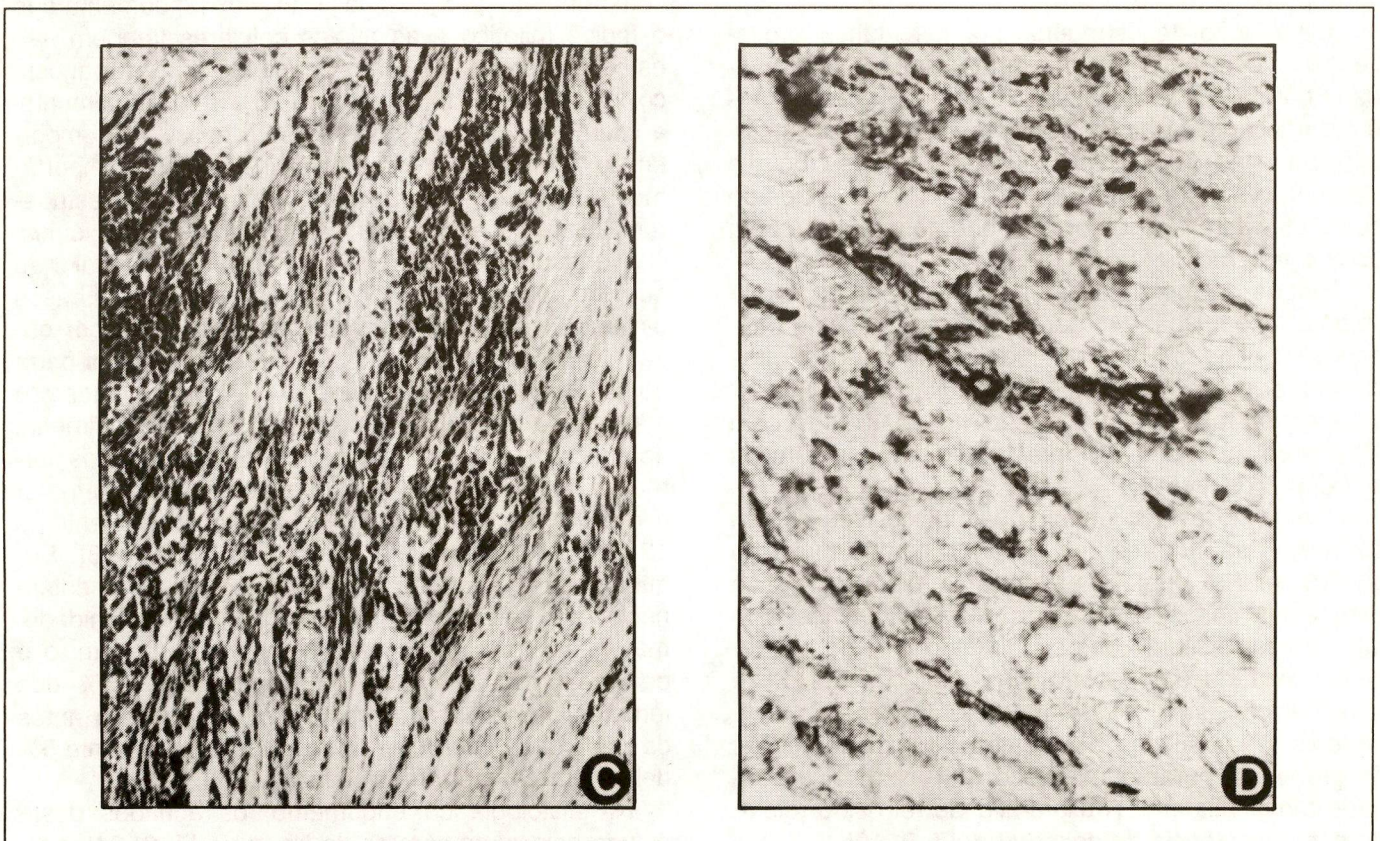


Figura 1C. Adenocarcinoma indiferenciado (H-E, 150x). D - Adenocarcinoma indiferenciado. Reação imuno-histoquímica positiva ao antígeno de membrana epitelial (400x).

Das pacientes com estágio I, não houve óbito pela doença, pelo menos até a sua última revisão. O único caso de estágio III teve óbito pela doença em um ano. O estadiamento é considerado o mais importante fator prognóstico [7, 8, 9, 24]. A taxa de sobrevivência tem sido de 90 a 95% aos cinco anos e de 80 a 90% aos 10 anos ([7, 19]. Bjorkholm e Petterson [8] encontraram, no estágio II, 50 e 32% de sobrevivência, respectivamente aos cinco e 10 anos.

O estudo imuno-histoquímico foi importante para a seleção desta casuística. Verificou-se que o tumor de células da granulosa do ovário não expressa citoqueratina, nem antígeno de membrana epitelial. Aguirre et al. [31] encontraram alguns casos com reação positiva para citoqueratina, porém não confirmado por este estudo e no de Chadha e Kwast [12]. O antígeno de membrana epitelial não foi encontrado neste tumor também em outros estudos [12, 31]. O perfil imuno-histoquímico tem sido o mesmo para o tumor de células da granulosa do tipo juvenil [12]. Nos casos de histologia duvidosa concorda-se com Chadha e Kwast [12] no que diz respeito à utilidade das reações imuno-histoquímicas com estes anticorpos, no diagnóstico diferencial. Dos quatro casos deste estudo com histologia não característica, três apresentaram reações positivas (Figuras 1C e 1D). Estes casos foram reclassificados como neoplasias epiteliais indiferenciadas, já que este diagnóstico foi reforçado pelo mau prognóstico e curta sobrevivência. Estas pacientes faleceram entre seis meses e um ano, diferenciando-se bastante da sobrevivência apresentada para as pacientes com tumor de células da granulosa. Frente a situações como esta, o diagnóstico imuno-histoquímico é importante, em vista de o tratamento a ser instituído apresentar diferença para um ou outro tipo de tumor.

Summary

A retrospective study of 23 cases of granulosa cell tumor of the ovary was made. Initially they were studied immunohistochemically for the presence of epithelial membrane antigen and cytokeratin. No tumor of typical histology showed expression for these antibodies. Three tumors showed positive reactions and were classified as undifferentiated epithelial neoplasia, corresponding to their significantly poorer prognosis and shorter survival when compared with the granulosa cell tumors. Then the clinic and pathological features are analysed only in those cases that confirmed for the histological or immunohistochemical study. Abdominal pain was the most common presenting symptom and only 50% showed symptoms of estrogen stimulation. Histologically they didn't differ from those that have been related. Large tumors probably have no significant influence on prognosis. Of 12 examined endometria the most common findings was endometrial hyperplasia. Surgery was the primary

treatment of choice. Adjuvant or complementary therapy were discussed.

Key words: *ovarian neoplasms; immunohistochemistry*

Referências bibliográficas

1. CLAPP NA. Ovarian tumor types and their incidence in intact mice following whole-body exposure to ionizing radiation. *Rad Res* 1978; 74: 405-414.
2. FOX H. Sex cord-stromal tumours of the ovary. *J Pathol* 1985; 145: 127-148.
3. SCULLY RE. Ovarian tumors: a review. *Am J Pathol* 1977; 87: 686-720.
4. BEAMER WG, HOPPE PC, WHITTEN WK. Spontaneous malignant granulosa cell tumors in ovaries of young SWR mice. *Cancer Res* 1985; 45: 5575-5581.
5. BEAMER WG, SHULTZ KL, TENNENT BG. Induction of ovarian granulosa cell tumors in SWXJ-9 mice with dehydroepiandrosterone. *Cancer Res* 1988; 48: 2788-2792.
6. TENNENT BJ, SHULTZ KL, SUNDBERG JP, BEAMER WG. Ovarian granulosa cell tumorigenesis in SWR-derived F₁ hybrid mice: Preneoplastic follicular abnormality and malignant disease progression. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 625-634.
7. STENWIG JT, HAZEKAMP JT, BEECHAM JB. Granulosa cell tumors of the ovary. A clinicopathology study of 118 cases with long-term follow-up. *Gynecol Oncol* 1979; 7: 136-152.
8. BJORKHOLM E, PETERSON F. Granulosa-cell and theca-cell tumors. The clinical picture and long-term outcome for the Radiumhemmet series. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980; 56: 361-365.
9. FOX H, AGRAWAL K, LANGLEY F. A clinicopathologic study of 92 cases of granulosa cell tumor of the ovary with special reference to the factor influencing prognosis. *Cancer* 1975; 35: 231-241.
10. NORRIS HJ, CHORLTON I. Functioning tumors of the ovary. *Clin Obstet* 1974; 17: 189-228.
11. KURMAN R, GOBELSMANN U, TAYLOR CR. Steroid localization in granulosa-theca tumors of the ovary. *Cancer* 1979; 42: 2377-2384.
12. CHADHA S, KWAST TH. Immunohistochemistry of granulosa cell tumors. The value of tissue specific proteins and tumour markers. *Virchows Arch* 1989; 414: 439-45.
13. SLAYTON RE. Management of germ cell and stromal tumors of the ovary. *Semin Oncol* 1984; 11: 299-313.
14. SCHWARTZ PE. Sex cord-stromal tumors of the ovary. In: Piver MS. *Ovarian Malignancies. Diagnostic and Therapeutic Advances*. New York: Churchill Livingstone, 1987.
15. SCHWARTZ PE, SMITH JP. Treatment of ovarian stromal tumors. *Am J Obstet Gynecol* 1976: 402-409.
16. CAMLIBEL FT, CAPUTO AT. Chemotherapy of granulosa cell tumors. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 115: 763-765.
17. KAYE SB, DAVIER E. Cyclophosphamide, adriamycin, and cisplatin for the treatment of advanced granulosa cell tumor, using serum estradiol as a tumor marker. *Gynecol Oncol* 1986; 24: 261-264.

18. STERNBERGER LA. Immunocytochemistry. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979.
19. CRESPO-RIBEIRO JA, FIGUEIREDO F. Tumores malignos de células germinativas do ovário: expressão de enolase neurônio-específica, alfa-1-antitripsina e alfa-1-antiquimotripsina. Rev Bras Cancerol 1991; 37: 41-44.
20. NORRIS HJ, TAYLOR HB. Prognosis of granulosa-theca tumors of the ovary. Cancer 1968; 21: 255-263.
21. McCORMACK TP, RIDDICK DH. Hormonal function of a granulosa tumor. Obstet Gynecol 1976; (Suppl.) 48: 18-21.
22. LI TC, HILL AS, DUNCAN SB, RADSTONE DJ, PARSON MA, COOKE ID. Granulosa cell tumor of the ovary producing both oestrogen and progesterone. Case report. British J Obstet Gynaecol 1990; 97: 649-652.
23. OHEL G, KANETI H, SHENKER TG. Granulosa cell tumors in Israel: A study of 172 cases. Gynecol Oncol 1983; 15: 278-286.
24. EVANS III AT, GAFFEY TA, MALKASIAN GD, ANNEGERS JF. Clinicopathologic review of 118 granulosa and 82 theca cell tumors. Obstet Gynecol 1980; 55: 231-238.
25. KLEMI PJ, SOENSUU HL, SALMI T. Prognostic value of the flow cytometric DNA content analysis in granulosa cell tumor of the ovary. Cancer 1990; 65: 1189-1193.
26. PYSHER TJ, HITCH DC, KROUS HF. Bilateral juvenile granulosa cell tumors in a 4-month-old dysmorphic infant. A clinical, histologic, and ultrastructural study. Am J Surg Pathol 1981; 5: 789-794.
27. SPAUN E, GLAVIND K. Cystic juvenile granulosa cell tumor of the ovary. Acta Obstet Gynecol Scand 1988; 67: 177-180.
28. BISCOTTI CV, HART WR. Juvenile granulosa cell tumors of the ovary. Arch Pathol Lab Med 1989; 113: 40-44.
29. COLOMBON, SESSA C, LANDONI F, SARTORIE, PECARELLI S, MANGIONI C. Cis-platin, vinblastine, and bleomycin combination chemotherapy in metastatic granulosa cell tumor of the ovary. Obstet Gynecol 1986; 67: 265-268.
30. MARTIKAINEN H, PENTTINEN J, HUHTANIEMI I, KAUPILLA A. Gonadotropin-releasing hormone agonist analog therapy effective in ovarian granulosa cell malignancy. Gynecol Oncol 1989; 35: 406-408.
31. AGUIRRE P, THOR AD, SCULLY RE. Ovarian endometrioid carcinomas resembling sex cord-stromal tumors. An immunohistochemical study. Int J Gynecol Pathol 1989; 8: 364-373.