

# TUMORES DE CELULAS DE LA GRANULOSA: ANALISIS ESTRUCTURAL Y ULTRAESTRUCTURAL

Gladys Martellotto<sup>1</sup>, Silvia Frede<sup>2</sup>, Susana Ortiz<sup>2</sup>, Ernesto Hliba<sup>2</sup>

I Cátedra de Patología, Fac. de Ciencias Médicas,<sup>1</sup>

Cátedra de Patología Humana, Dpto de Bioquímica Clínica, Fac. de Ciencias Químicas<sup>2</sup>  
Hospital Nacional de Clínicas. Universidad Nacional de Córdoba

## Resumen

Estas neoplasias ováricas derivan del componente estromal ovárico, constituyendo alrededor del 5 al 12% del total de los tumores ováricos.

**Objetivo:** Examinar a nivel histopatológico y ultraestructural las características morfológicas de las células neoplásicas y del elemento patognomónico de estos tumores: los Cuerpos de Call Exner

**Material y Métodos:** Los materiales correspondieron a 2 mujeres de 52 y 55 años- La sintomatología era tumoración abdominal la cual iba en aumento.

Los materiales fueron fraccionados para el estudio histopatológico convencional y para el análisis electromicroscópico. Para este último, fueron fijados en Fijador Karnovsky, refijados en osmio e incluidos en Araldita.

**Resultados:** por medio de las diferentes observaciones se determinó en ambos casos la atipia nuclear, núcleos indentados y nucleólos prominentes.. En uno de los casos se detectó la presencia de Cuerpos de Call-Exner, que ultraestructuralmente estaban compuestos por fibrillas arremolinadas y material amorfo, con estructuras electrón densas a su alrededor. Fue llamativo el infiltrado de células plasmáticas alrededor de las células tumorales. Estas neoplasias son de interés debido a su conducta impredecible y a la producción hormonal que puede originar alteraciones en otros sistemas del aparato genital.

**Palabras claves:** tumor de células de la granulosa- análisis estructural

## Abstract

These ovarian neoplasm derive from the ovarian stromal component constituting around the 5 to 12% of all ovarian tumors.

**Objective:** To examine the histopathological and ultrastructural morphologic characteristic of the neoplastic cells and the patognomonic element of these tumors: Call Exner's Bodies

**Materiales and methods:** The materials corresponded to 2 women of 52 and 55 years. The sintomatology was abdominal tumor that went in increase.

The materials were fractioned for the histopathological conventional study and for ultrastructural analysis. For this last one, they were fixed in Karnovsky, refix in osmio and included in Araldita.

**Results:** by means of the different observations it was determined in both cases the nuclear atipia, indentations nuclei and prominent nucleoli. In one of the cases the presence of Bodies of Call-Exner was detected, and ultrastructurally was compound by whirled fibrils and amorphous material, with dense structures electron to its around. It was interest the infiltrated of plasmatic cells around the tumors cells. These neoplasms are of interest due to their impredecible behavior and to the hormonal production that can originate alterations in other organs of the genital apparatus.

**Key words:** granulosa cell tumor - structural analysis



## Introducción

Estas neoplasias ováricas provienen de la estroma ovárica especializada o funcionante. Estadísticamente constituyen entre el 5 y el 12% de los tumores ováricos primarios. (2-3-5-6-7-8-11-12-13-14-15-18)

Se los incluye dentro del grupo de los tumores estromales de los cordones sexuales de la gónada femenina, pero algunos autores no concuerdan denominarlos como provenientes de los "cordones sexuales" ya que la gónada femenina no presenta en su desarrollo embriológico estructuras de estos cordones, los cuales sí están bien definidos en la gónada masculina. (13-18-19) No obstante esta terminología continúa utilizándose.

En general son tumores funcionantes, particularmente las neoplasias de células de la granulosa, las cuales producen principalmente estrógenos por lo que la patología endometrial asociada es frecuente (hiperplasia, carcinoma), aproximadamente en dos tercios de los casos. Raramente producen andrógenos en las formas quísticas o en los ginandroblastomas. (3-5-9-14-16-17)

El patrón histológico es variable pudiendo las células adoptar formas redondas, cuboideas o fusadas, las cuales se disponen en nidos o cordones, láminas o bandas que se anastomosan, a veces formando quistes. (3-5-14-15-16-20)

Se describen dos variantes; **juvenil y adulta.** (5-7-8-11-20) La primera suele presentarse en pacientes menores de 30 años, con formaciones quísticas que simulan folículos en desarrollo y la segunda puede mostrar los característicos cuerpos de Call-Exner pero no folículos. No obstante la edad, pueden presentarse formas juveniles en pacientes mayores de 30 años y viceversa.

Una de las características celulares más llamativas es la indentación de los núcleos (núcleos en "granos de café"). En general poseen nucléolos prominentes de disposición central o periférica, en cercanías de la membrana nuclear (5-14-16-18-19-21)

## Objetivos

Los objetivos de este trabajo fueron: examinar a nivel histopatológico y ultraestructural las características morfológicas de las células neoplásicas y analizar a nivel electromicroscópico los Cuerpos de Call Exner en dos tumores de células de la granulosa.

## Materiales y Métodos

Dos pacientes de 52 y 56 años se presentaron con distensión abdominal de 2 y 3 años de duración respectivamente y diagnóstico de tumor abdominal en ambos.

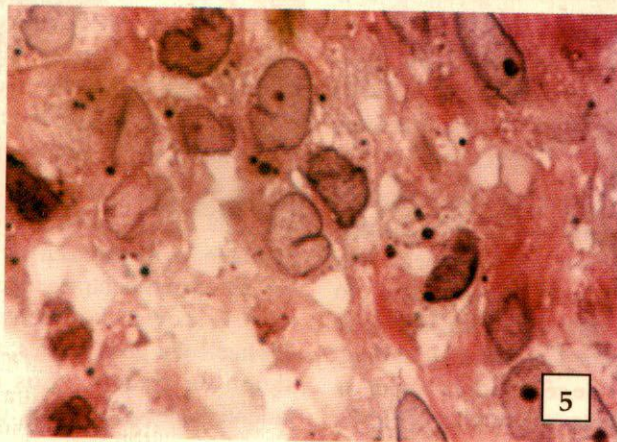
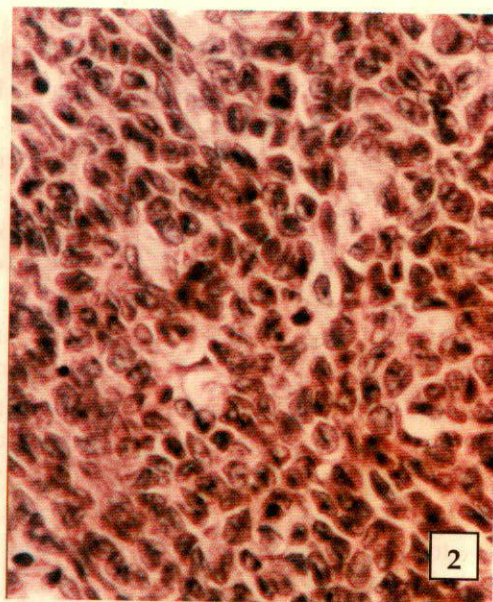
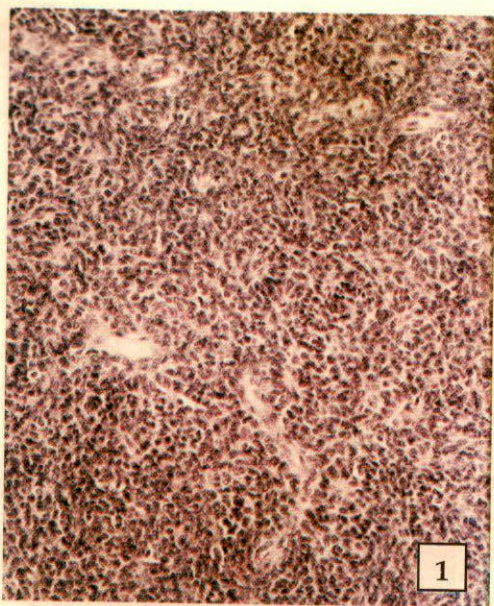
El primer caso correspondió a una paciente que padecía idiocia, por lo que la anamnesis fue indirecta. Se le realizó anexohisterectomía, extirpándose un tumor con metástasis en epiplón.

La segunda paciente fue operada previamente por el tumor abdominal, considerándose al mismo como inoperable, a pesar de lo cual se la sometió nuevamente a cirugía; había sido hysterectomizada 12 años antes por miomatosis. En forma previa al acto quirúrgico se realizó una punción aspiración con aguja fina abdominal de la masa tumoral, observándose células pequeñas y regulares, por lo que se sospechó un linfoma o un carcinoma poco diferenciado. La extirpación quirúrgica no presentó dificultades, obteniéndose una masa tumoral de 30 x 20 x 15 cm, de superficie externa multilobulada, predominantemente sólida, con algunos quistes. En esta paciente no hubo evidencias de metástasis.

En ambos casos el material fue fraccionado en dos partes: una utilizada para el estudio histopatológico convencional y la otra parte destinada al estudio ultraestructural, fijándose los materiales en glutaraldehído-paraformaldehído buffer collidina, refijados luego en Tetróxido de Osmio e incluyéndose los en Araldita.

Para seleccionar áreas para el estudio ultraestructural, se realizaron cortes de aproximadamente una micra de espesor con un Ultramicrotomo Porter Blum MT1, coloreándose las mismas con azul de toluidina y fucsina básica. Las secciones ultrafinas, destinadas al estudio electromicroscópico fueron contrasta-







- Figura 1:** (H.E. 40 X) Aspecto panorámico de uno de los casos de neoplasia de células de la granulosa de crecimiento difuso, sin cuerpos de Call Exner.
- Figura 2:** (H.E. 120 X) Mayor aumento de la figura 1 en la cual se observan las células con núcleos "en granos de café".
- Figura 3:** (Técnica de MOAR Coloración Azul de toluidina y Fucsina básica X400) Elementos neoplásicos con marginación cromatínica, nucléolos prominentes y mitosis aberrantes.
- Figura 4:** (Técnica de MOAR Coloración Azul de toluidina y Fucsina básica X400) Panorámica del tumor donde se observan células con núcleos claros, indentados y elementos estromales.
- Figura 5:** (Técnica de MOAR Coloración Azul de toluidina y Fucsina básica X400). Células neoplásicas con núcleos aberrantes y un infiltrado de células plasmáticas y linfocitos.
- Figura 6:** (X6000) Electromicroscopia del tumor, que muestra el típico núcleo "en grano de café" debido a una profunda indentación del mismo. En esta célula neoplásica se observa, escaso citoplasma y algunas mitocondrias con crestólisis.
- Figura 7:** (X12000) Microscopia Electrónica de una porción de núcleo con nucléolo prominente. En el espacio extracelular, se observan estructuras de aspecto fibrilar, amorfas y algunas electrón densas.
- Figura 8:** (X 20000) A mayor magnificación, se observan estructuras amorfas, las cuales componen el Cuerpo de Call-Exner
- Figura 9:** (X 9000) Microscopia Electrónica del Cuerpo de Call-Exner en el espacio extracelular contactando con células tumorales. Obsérvese la morfología redondeada con fibras arremolinadas.

das con citrato de plomo y acetato de uranilo y observadas en un Microscopio Electrónico Siemens Elmiskopp MT1 a distintas magnificaciones.

### Resultados Histopatológicos

La histopatología en ambos correspondió a una neoplasia de la estroma gonadal/cordones sexuales con células de pequeño y mediano tamaño, dispuestas en forma difusa. (Fig 1)

En el primer caso se observaron cuerpos de Call Exner y el diagnóstico fue de tumor de células de la granulosa variante del adulto.

En la segunda paciente observamos células redondeadas o ligeramente fusadas dispuestas en forma difusa, frecuentemente con núcleos indentados tipos "granos de café", lo cual facilitó el diagnóstico. En este caso no se observaron cuerpos de Call Exner y el diagnóstico fue de tumor de células de la granulosa del tipo adulto, variante sarcomatoide. (Fig 2).

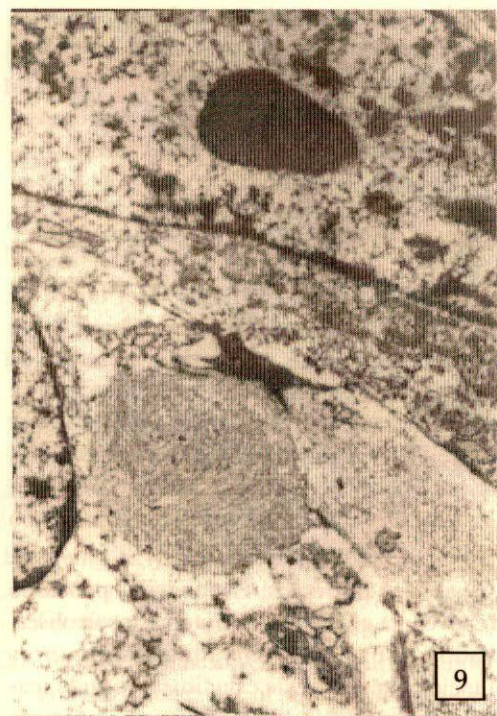
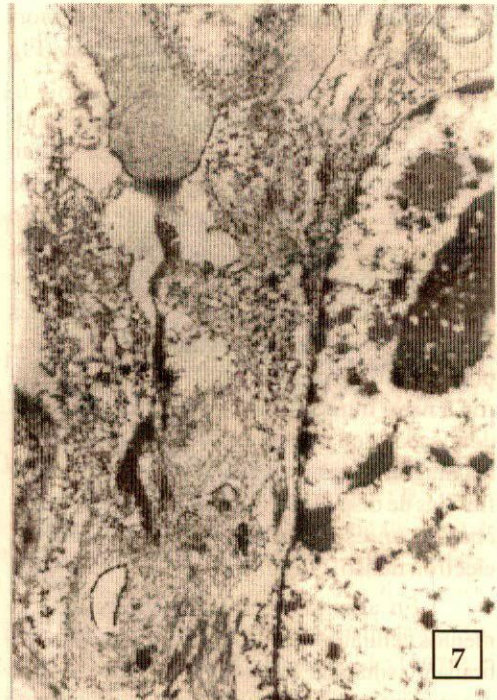
### Resultados Ultraestructurales

Con el objeto de seleccionar áreas para el estudio electromicroscópico, se obtuvieron cortes de aproximadamente una micra de espesor, los cuales fueron coloreados con azul de toluidina y fucsina básica.

En los mismos se observaron los elementos neoplásicos típicos de este tumor, con sus núcleos en "granos de café" con profundas indentaciones y mitosis aberrantes. (Fig 3). Por sectores, además de las células tumorales, se pudieron observar células estromales y un infiltrado inflamatorio a predominio de células plasmáticas y escasos linfocitos. (Fig 4 y 5)

El análisis ultraestructural mostró células pequeñas, con escaso citoplasma y núcleos de tamaño intermedio o grande, cuya cromatina se disponía en grumos electrón-densos, agrupados contra la membrana nuclear interna. Esta organela presentaba además uno o dos nucléolos prominentes, algunos con disposición en madeja. Los núcleos poseían indentaciones profundas, que en ocasiones,







atravesaban todo el diámetro del mismo, otorgándole la típica imagen en grano de café (Fig 6)

El citoplasma presentaba algunas inclusiones y pseudoinclusiones que correspondían a organelas o restos de membrana. En los dos casos, las mitocondrias se observaron tumefactas, con franca crestólisis. Asimismo, se observaron abundantes gotas lipídicas, esparcidas por el citoplasma, muchas de ellas confluían conformando estructuras más amplias. Los Cuerpos de Call-Exner se localizaron a nivel intercelular, como formaciones redondeadas, en ocasiones elongadas. A mayores magnificaciones, estas estructuras poseían fibrillas de disposición arremolinada, entremezcladas con estructuras amorfas, irregulares, electrón denso. (Fig 7-8-9)

En algunos sectores, convergían elementos celulares con proyecciones de la membrana plasmática. En ninguno de los casos se observaron microvellosidades. Los elementos celulares presentaban escasos desmosomas, los cuales se encontraban seccionados en la mayoría de los elementos celulares

La estroma intercelular fue escasa, adoptando una disposición fibrilar.

### Comentario y Discusión

Las células neoplásicas del tumor de células de la granulosa, recuerdan a nivel ultraestructural a las células de la granulosa de los folículos en crecimiento, diferenciándose en la morfología nuclear, la cual presenta indentaciones muy profundas en las células tumorales que le otorgan el aspecto de *grano de café* y además la membrana plasmática no posee especializaciones.

Los nucléolos, en *madeja*, ponen de relieve una gran síntesis proteica, y son observados sobre todo en aquellos tumores funcionantes. En este estudio no se pudo realizar una secuencia de los eventos morfogénicos de los Cuerpos de Call-Exner debido al reducido número de casos.

A nivel ultraestructural se observaron estructuras pseudoglandulares, semejando folículos inmaduros con una sustancia de aspecto amorfo proteináceo con disposición central.

El componente fibrilar presente en los Cuerpos de Call-Exner, probablemente corresponda a glicoproteínas de la matriz extracelular tales como fibronectina, elastina, o moléculas como proteoglicanos. Llamó la atención la cantidad de núcleos desnudos alrededor de estas estructuras. Muchos de ellos, recordaban imágenes de apoptosis. Esto refleja un equilibrio entre crecimiento tumoral y muerte celular programada, por lo cual estas neoplasias son de crecimiento lento. Este hecho dificulta establecer un pronóstico, el cual resulta incierto.

Asimismo fue relevante la gran cantidad de células plasmáticas presentes en los dos tumores. Si bien los linfocitos T son factiblemente mucho más importantes que los anticuerpos en las respuestas inmunitarias antitumorales eficaces, los pacientes que padecen tumores producen anticuerpos contra antígenos tumorales. Estos son los que estimulan las respuestas inmunitarias, las cuales quizá se limiten a moléculas que no se han expresado en los tejidos normales de manera tal que indujeran tolerancia. Aún no existen pruebas de que estas respuestas humorales tengan un papel protector frente a la proliferación tumoral. Solamente *in vitro* se ha demostrado que los anticuerpos destruyen las células tumorales y se atribuye a la activación del complemento, a la citotoxicidad celular debida a macrófagos que expresan el receptor para el Fc, o las células NK. Continúa sin conocerse aún si estos mecanismos de muerte de células neoplásicas son dependientes de Ig y desempeñen algún rol *in vivo*. (1)

Estos tumores, son muy interesantes desde el punto de vista clínico, ya que pueden elaborar hormonas, como estrógenos o andrógenos, las cuales tienen efectos sobre otros órganos del aparato genital. Esta sobrecarga hormonal, puede originar en mujeres prepúberes menarcas precoces. (11) En mujeres adultas los sitios diana más frecuentes de afectación son endometrio (produciendo hiperplasias endometriales, carcinoma endometrial), o mama (originando enfermedad quística).

En general, son escasos los tumores de células de la granulosa-teca que produzcan andrógenos, pero si esto ocurre, se produce masculinización de la paciente, con los consi-



güentes trastornos psicossomáticos de la misma. (2-4-8-9-12-16-18)

La presencia del elemento característico como el Cuerpo de Call Exner facilita el diagnóstico, pero no en todos los casos se encuentra esta estructura, por lo que la clínica, el laboratorio y el análisis histopatológico en forma conjunta, otorgan una mayor precisión diagnóstica de esta neoplasia. ( 2-3-5-7-8-11-12-15)

Agradecemos la colaboración de las Histotecnólogas : Sra. Norma Berrotarán y Sra Estela Molina, por su interés y prolija preparación de los materiales.

### Bibliografía

- 1- Abbas A, Lichman A, Pober H- Inmunología Celular y Molecular. Editorial Interamericana España. II edición. 1996
- 2- Baker TR, Piver M: Etiology, biology and epidemiology of ovarian cancer. *Semin Surg Oncol*:10: 224-228. 1994.
- 3- Blaustein A: Pathology of the female genital tract. Edit. Springer Verlag III Edic. N. York Pág. 505-513. 1977
- 4- Crazmer DW : Factors affecting the association of contraceptive and ovarian-Cancer N. Engl. J. Med 307: 1407-1411. 1982
- 5- Cotran R., Kumar V., Collins T. Patología Estructural y Funcional. VI Edición. Mc Graw Hill España. 2000
- 6- Clement P.; Young R.- Atlas of gynecologic surgical pathology - I edición - Churchill Livingstone- Singapore. Saunders Company. USA- Pág: 364- 392. 2000
- 7- Czernobilsky B., Moll R. Desmosomal plaque associated vimentin filaments in human ovarian granulosa cell tumors and various histologic patterns. *Am.J Pathol* 126: 476-486. 1987
- 8- Fox H Agrawal R: A clinical Pathologic Study of 92 cases of granulosa cell tumor of the ovary with special reference of the factors. *Cancer* 35: 321-241. 1975
- 9- Gafney Eoin F, Majmuder B. Ovarian granulosa cell tumors. Immunohistochemical localization of estradiol and ultrastructure with functional correlations. *Obstet. Gynecol.* 61: 311-319. 1983
- 10-Gompel C.; Silverberg S. Pathology in gynecology and obstetrics. 4ª edición. Pág. 358 -379. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 1994
- 11-Lack E, Perez Atayde A: Granulosa theca cell tumors in premenarchal girls. A clinical pathologic study of ten cases. *Cancer* 48: 1854- 59. 1981
- 12-Piver M. Epidemiology and etiology of ovarian cancer. *Semin.Oncol* 18: 174-177. 1991
- 13-Roboy SJ. Embriology of the female genital tract. In Kurman R.(-ed) Blaustein'Pathology of the Female genital Tract 4<sup>th</sup> ed New York, Springer -Verlag Pág. 3-31. 1994
- 14-Rosai J. Ackerman's surgical pathology. Vol II. 3ª edición. Mosby. New York. 1997
- 15-Russell P, Bannatyne P: Surgical Pathology of the ovaries . Edimburgh Churchill Livings Tome 1989
- 16-Scully R.; Young R.; Clement P. Atlas of tumor pathology. Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube and broad ligament. AFIP Bethesda, Maryland. USA Pág. 169-188. 1998
- 17-Sternberg S. Diagnostic surgical pathology. Vol II . 3ª edición. Raven Press- New York. Pág. 2229- 2233. 1999
- 18-Young Rh, Dudley AG, Scully RE: Granulosa Cell -Sertoli Leydig Cell an unclassified sex cord stromal tumors associated with pregnancy. A Clinicopathological analysis of thienty six case. *Gynecolo Oncol*: 181: 181-205. 1984
- 19-Young RH., Scully R.: Ovarian sex-cord Stromal Tumours. *Recent Progress. Int J Gynaecol Pathol* 1:101. 1982
- 20- Yong RH, Dichesin GR, Sully RE' Juvenile granulosa cell tumor of the ovary. A clinical pathologic analysis of 125 cases. *Am. J. Surg Pathol* 8: 575-596. 1984
- 21-Young R: The ovary. En Sternbergs Diagnostic Surgical Pathology New York Raven Press. 1994