

# Original

## Ploidía del componente teratomatoso maduro primario o metastásico de tumores testiculares no seminomatosos de células germinales

S. Almenar-Medina\*, A. Ruiz\*\*, C. Illueca-Ballester\*, J. Herrero\*, E. Solsona-Narbón\*\*\*, F. Pérez-Mínguez y A. Llombart-Bosch\*\*

\*Servicio de Anatomía Patológica, Instituto Valenciano de Oncología (IVO);

\*\*Departamento de Patología, Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia;

\*\*\*Servicio de Urología, Instituto Valenciano de Oncología (IVO).

### SUMMARY

The DNA content of mature teratomatous structures (primary, metastatic or both) of seven nonseminomatous testicular germ cell tumors of the testis were measured with static cytophotometry. In six of these lesions at least a diploid stem cell was observed. We analyzed the probable reason for the disagreement between these results and those previously reported. **Rev Esp Patol 1998; 31(4): 409-415.**

**Key words:** Testis - Nonseminomatous testicular germ cell tumor - Ploidy

### RESUMEN

Estudiamos con citofotometría estática la ploidía de lesiones teratomatosas maduras (localizadas en el tumor primario, en las metástasis retroperitoneales o en ambos) de siete tumores no seminomatosos de células germinales de origen testicular. Obtenemos como hallazgo característico la presencia de, al menos, una población diploide al medir estructuras histológicas maduras presentes en seis de tales neoplasias. Analizamos el posible origen de la aparente contradicción entre nuestros resultados y los previamente publicados. **Rev Esp Patol 1998; 31(4): 409-415.**

**Palabras clave:** Testículo - Neoplasia testicular no seminomatosa de células germinales - Ploidía

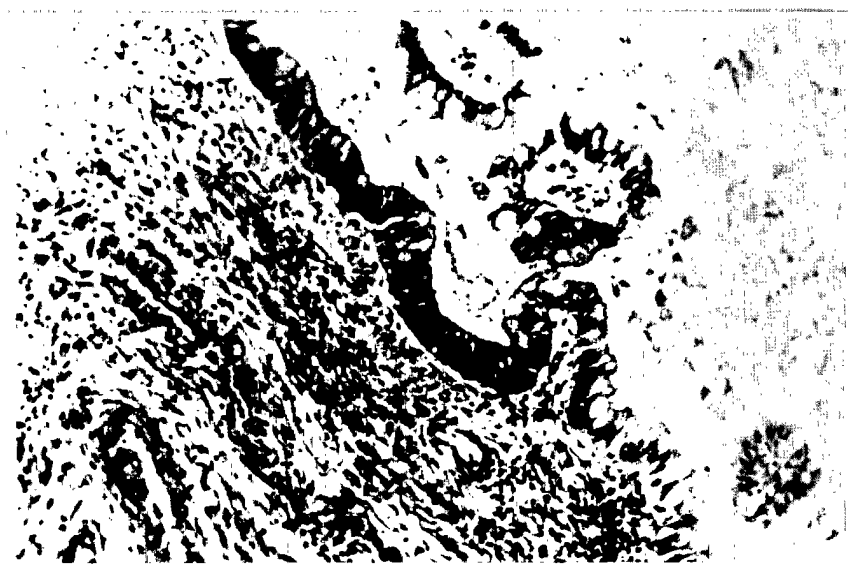
### INTRODUCCIÓN

Se considera que los tumores de células germinales del testículo se desarrollan según una serie de pasos consecutivos (1-4). La lesión inicial sería cierta forma de dis-

plasia gonocitaria que, por un proceso de anormal poliploidización, daría origen al carcinoma *in situ* (neoplasia intratubular de células germinales) (3, 5). En las fases más incipientes del carcinoma *in situ* (como el que se desarrolla en los síndromes de anormal diferenciación

**Tabla 1.**

Caso 1. Metástasis retroperitoneales por carcinoma embrionario (reseado y diagnosticado en otro centro) tratadas con poliquimioterapia que incluye cisplatino.	Medición 1	Quistes tapizados por epitelio enteral con displasia grado 2: triploide (ID: 1,465)
	Medición 2	Estructuras mesenquimales con displasia grado 3: triploide (ID: 1,5)
	Medición 3	Quistes tapizados por epitelio columnar histológicamente normal: peridiploide (ID: 1,16)
Caso 2. Teratoma testicular maduro con metástasis retroperitoneales (no se ha tratado con poliquimioterapia).	Medición 1	Cartílago maduro con displasia grado 3 en el tumor testicular: triploide (ID: 1,58)
	Medición 2	Cartílago maduro no displásico en adenopatía retroperitoneal: diploide (ID: 1)
Caso 3. Teratocarcinoma testicular.	Medición 1	Formaciones quísticas enterales con displasia grado 2 acompañadas por epitelio malpighiano con displasia grado 1: peritetraploide (ID: 1,87)
	Medición 2 (control)	Estructuras carcinomatosas embrionarias: existen dos poblaciones aneuploides (ID: 3,3 y 4,7)
Caso 4. Metástasis retroperitoneales por carcinoma embrionario (reseado y diagnosticado en otro centro) tratadas con poliquimioterapia que incluye cisplatino.	Medición única	Quistes tapizados por epitelio prismático pseudoestratificado con células caliciformes. Ausencia de displasia: diploide (ID: 1)
Caso 5. Metástasis retroperitoneales de tumor del saco vitelino (reseado y diagnosticado en otro centro) tratadas con poliquimioterapia que incluye cisplatino.	Medición única	Criptas intestinales maduras con displasia grado 1: población celular peritetraploide (ID: 1,86) (42% de las células); población celular diploide (ID: 1) (17% de las células)
Caso 6. Metástasis retroperitoneal por teratocarcinoma tratado con poliquimioterapia que incluye cisplatino.	Medición única	Quistes tapizados por epitelio columnar prismático sin displasia: diploide (DI: 1)
Caso 7. Teratocarcinoma testicular.	Medición 1	Quistes tapizados por epitelio malpighiano sin displasia: diploide (DI: 1)
	Medición 2 (control)	Estructura carcinomatosas embrionarias: aneuploide (DI: 1,68)



**Figura 1.** Adenopatía retroperitoneal del caso 4. Se aprecia parte de una formación quística con pequeñas proyecciones vellositarias que están tapizadas por un epitelio prismático pseudoestratificado con células caliciformes. No se aprecian signos de displasia (original, HE x10).

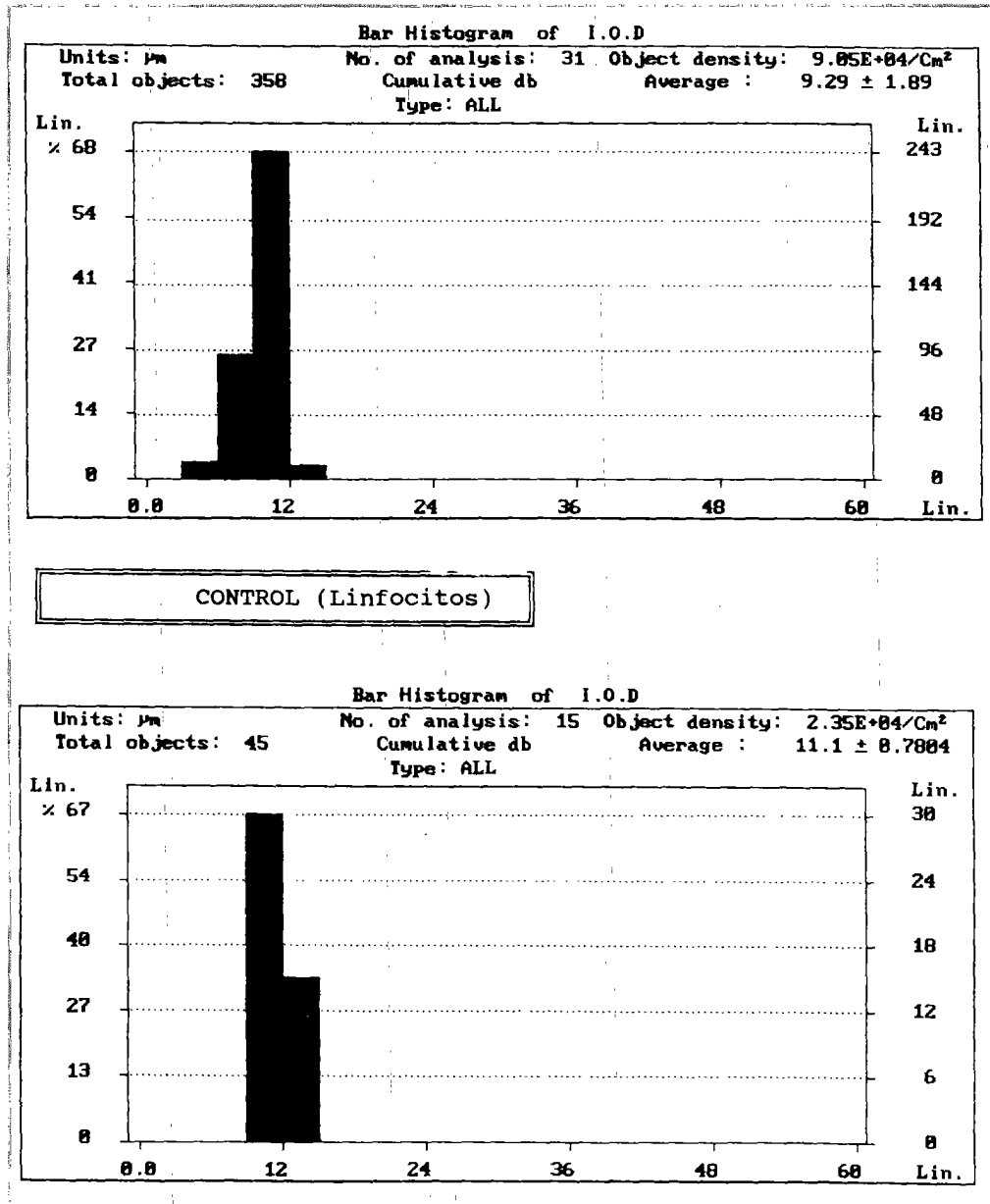


Figura 2. Histograma correspondiente al caso 4. Se aprecia un pico diploide sin existir un compartimento proliferativo apreciable.

gonadal) pueden encontrarse dos poblaciones celulares con cantidades de DNA en el rango peritraploide y diploide, sin constatar la presencia del isocromosoma 12 (5). Conforme progresa esta neoplasia intratubular hacia estadios preinvasivos tendría lugar una pérdida de material cromosómico (portador de genes relacionados con la supresión del crecimiento neoplásico) con presencia de una población hipertriploide y, en algunos casos, el isocromosoma 12. Estos carcinomas *in situ*, que suelen observarse en contigüidad a una neoplasia germinal invaso-

ra, presentan unas características microespectrofotométricas y citogenéticas similares a las del seminoma (invasor) (2, 6, 7).

El seminoma sería el estadio intermedio común a partir del cual (y también por pérdida de material cromosómico) se originarían las diferentes formas de tumores no seminomatosos que mostrarían una población celular hipotriploide (1, 2) y, eventualmente, el isocromosoma 12 (8).

El análisis alelotípico demuestra la existencia de pérdidas alélicas en estos tumores que estarían relacionadas



**Figura 3.** Adenopatía retroperitoneal del caso 1. Se aprecia parte del revestimiento de una cripta enteral tapizada por un epitelio que muestra aumento de su espesor, desorden, contornos nucleares irregulares y una cuenta mitótica que oscila entre tres y cuatro mitosis por diez campos a gran aumento. Se considera como una estructura teratoide con displasia de grado 2 (original, HE  $\times 40$ ).

con la progresión neoplásica en el sentido anteriormente comentado (9).

Por otra parte, en el seno de una misma neoplasia se ha comprobado la existencia de cariotipos similares en poblaciones celulares con significado histológico y comportamiento biológico diferentes. Concretamente, se ha encontrado el mismo cariotipo en el componente teratomatoso maduro e inmaduro de implantes metastásicos de un tumor no seminomatoso (10). Similar situación se ha descrito con los componentes teratoide maduro y coriocarcinomatoso de un mismo tumor (11). Este singular hallazgo implica que los procesos de diferenciación no dependen exclusivamente de la constitución genética sino también de factores epigenéticos.

Finalmente, se ha podido comprobar en numerosos casos con afectación metastásica retroperitoneal que un mismo paciente presenta un cariotipo similar en las estructuras carcinomatosas testiculares y en las estructuras teratomatosas maduras retroperitoneales (12) logrado tras el efecto inductor de la poliquimioterapia a base de cis-platino (13).

Comunicamos unos hallazgos preliminares acerca de la ploidía del componente teratomatoso maduro del tumor primario o de la metástasis retroperitoneal (o ambos) en siete muestras de tumores no seminomatosos de células germinales utilizando la citofotometría estática.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han seleccionado siete tumores no seminomatosos de células germinales en que se aprecian, entre otras cosas, estructuras histológicas teratoides maduras (con o sin displasia asociada) localizadas en el tumor primario, en las metástasis retroperitoneales o en ambos (Tabla 1). Dichas lesiones han sido catalogadas de acuerdo con la clasificación de la OMS (14), y el grado de la displasia se ha evaluado siguiendo los criterios de Davey y cols. (15) (aun cuando estos autores los emplean exclusivamente para las lesiones metastásicas retroperitoneales). Muy brevemente, la gradación es como sigue:

- Grado 0: aspecto citológico normal sin detectarse actividad mitótica.
- Grado 1: débil aumento del tamaño nuclear y de la superposición celular con focal estratificación de los epitelios de tipo columnar. Hay menos de una mitosis por diez campos a gran aumento en tejidos mesenquimales y menos de tres mitosis por diez campos a gran aumento para los epitelios.
- Grado 2: moderado aumento del tamaño nuclear con grumos de cromatina y repliegues de la membrana nuclear. Superposición celular y estratificación epitelial moderadas. Se cuentan de una a dos mitosis por diez campos a gran aumento en estructuras mesenquimales y de tres a cinco mitosis en las epiteliales.
- Grado 3: marcado aumento del tamaño nuclear con notables anormalidades cromatínicas y repliegues de la membrana nuclear. Hay más de dos mitosis por diez campos a gran aumento si se trata de estructuras me-

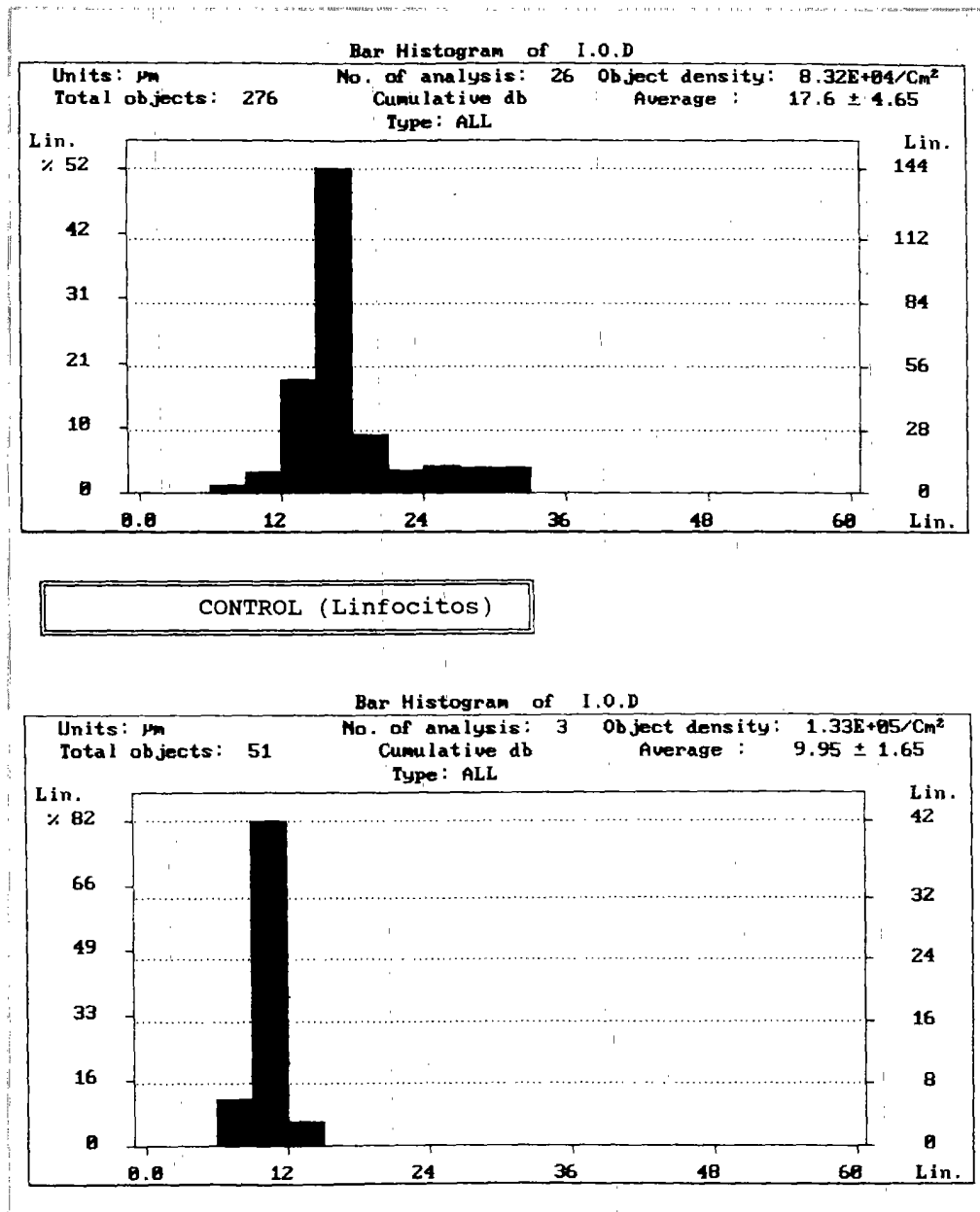


Figura 4. Histograma correspondiente al caso 1. Se aprecia un pico triploide (compárese con el control) con una apreciable fracción proliferativa.

senquimales, y más de cinco mitosis por diez campos a gran aumento en los epitelios.

El material biopsico fue fijado en formaldehído tamponado y procesado según la técnica histológica habitual, efectuándose cortes de  $7 \mu\text{m}$  que se tiñeron con HE y Feulgen.

Se ha utilizado el Sistema de Análisis de Imagen CUE-2 (Olympus, Tokyo, Japón) para la determinación

de la cantidad de DNA. El analizador de imagen consta de un ordenador con procesador de imagen, una cámara CCD y un monitor de vídeo unidos a un microscopio Olympus modelo BH-2 con un filtro de interferencia a  $436 \text{ nm}$  para proporcionar contraste. En cada caso se han medido al menos 250 núcleos. Para obtener el estándar interno se han medido al menos 30 linfocitos de la misma preparación.

## RESULTADOS

Los resultados, que se recogen en la Tabla 1, ponen de manifiesto que en todos los casos, excepto en el 3, se aprecian estructuras teratomatosas maduras sin displasia con una cantidad de DNA en el rango diploide (Figs. 1 y 2). Además, las poblaciones celulares diploides constituyen el único elemento representativo en los casos 4, 6 y 7.

En el material procedente de los casos 1, 2, 3 y 5 se aprecian lesiones teratomatosas maduras con displasia (Fig. 3) que tienen una cantidad de DNA triploide (Fig. 4) o peritraploide.

Conviene resaltar que todas las lesiones anteriormente descritas aparecen en el contexto de carcinomas de células germinales, bien se trate de procesos primarios o metastásicos tratados o no con poliquimioterapia.

## DISCUSIÓN

Es de destacar que este estudio preliminar con una casuística relativamente pequeña (7 casos) manifieste la presencia de estructuras teratomatosas maduras diploides en la mayor parte de los tumores.

Se admite que la moderna quimioterapia (16) o ciertos fenómenos de inducción espontánea propician cambios epigenéticos que determinarían la maduración histológica (13), manteniéndose, sin embargo, un cariotipo y una ploidía propios de la lesión carcinomatosa (12, 17).

La aparente contradicción entre nuestros resultados y los previamente comunicados (10-12, 17) podría derivar, aunque no es probable, de la técnica de la citometría estática empleada.

La citometría de flujo, como es sabido, obtiene por un canal similar tanto el estándar interno (linfocitos) como las lesiones diploides. Además, los estudios citogenéticos se efectúan sobre tejidos con capacidad de crecimiento en ciertos medios de cultivo (17). Es probable que las lesiones teratomatosas maduras diploides presenten escasa capacidad proliferativa (como en el histograma de la Fig. 2), con la subsiguiente dificultad para ser cultivadas y, por ello, para producir cariotipos.

Ambos argumentos favorecen la utilización de la citofotometría estática en la valoración de estas estructuras neoplásicas.

La presencia de triploidía o peritraploidía en el componente teratomatoso maduro y displásico se apro-

xima en cierta medida (aunque no del todo) a lo publicado con anterioridad (10-12). Puede decirse que estas lesiones presentan histogramas (como el de la Fig. 4) con una mayor fracción de crecimiento. Sus células se multiplicarían con mayor facilidad (pudiendo ser cariotipadas) y podrían ser las predecesoras de lesiones aneuploides. El síndrome del teratoma en crecimiento (*growing teratoma syndrome*) (18) que se desarrolla en el territorio retroperitoneal debe tener algún tipo de relación con estas poblaciones celulares. Debido a este potencial de crecimiento (con la posibilidad de una reexpresión del fenotipo maligno carcinomatoso o sarcomatoso) es aconsejable un planteamiento quirúrgico exérecico del territorio retroperitoneal (19).

## BIBLIOGRAFÍA

- Oosterhuis JW, Castedo SMMJ, de Jong B y cols. *Ploidy of primary germ cell tumors of the testis: Pathogenetic and clinical relevance* Lab Invest 1989; 60: 14-21.
- De Jong B, Oosterhuis, JW, Castedo SMMJ, Vos AM, Te Meerman G. *Pathogenesis of adult testicular germ cell tumors: A cytogenetic model*. Cancer Genet Cytogenet 1990; 48: 143-167.
- Damjanov I. *Pathobiology of human germ cell neoplasia*. Recent Results Cancer Res 1991; 123: 1-19.
- Fossa SD, Nesland JM, Waehre H, Amellem O, Pettersen EO. *DNA ploidy in the primary tumor from patients with nonseminomatous testicular germ cell tumors clinical stage I*. Cancer 1991; 67: 1874-1871.
- Vorechovsky I, Mazanek K. *Cytogenetic investigation of gonadal carcinomas in situ in syndromes of abnormal sexual differentiation*. Recent Results Cancer Res 1991; 123: 45-49.
- El-Naggar AK, Ro JY, McLemore D, Ayala AG, Batsakis JG. *DNA ploidy in testicular germ cell neoplasms*. Am J Surg Pathol 1992; 16: 611-618.
- Ulbricht T. *Germ cell neoplasms of the testis*. Am J Surg Pathol 1993; 17: 1075-1091.
- Navarro S, Noguera R, Peydró-Olaya A, Llombart-Bosch A. *Bipolar (neural and myoblastic) phenotype in cell lines derived from human germ cell tumours of the testis*. Virchows Arch 1997; 430: 291-300.
- Murty VVVS, Bosl GJ, Houldsworth J y cols. *Allelic loss and somatic differentiation in human male germ cell tumors*. Oncogene 1994; 9: 2245-2251.
- De Graaff WE, de Jong B, Oosterhuis JW y cols. *Cytogenetic analysis of the mature and immature teratoma components of a metastatic testicular nonseminomatous germ cell tumor*. Cancer Genet Cytogenet 1991; 57: 59-68.
- De Graaff WE, Oosterhuis JW, de Jong B y cols. *Cytogenetic analysis of the mature teratoma and the choriocarcinoma component of a testicular mixed nonseminomatous germ cell tumor*. Cancer Genet Cytogenet 1992; 61: 67-73.
- Van Echten J, van der Vloedt WS, van de Pol y cols. *Comparison of the chromosomal pattern of primary testicular nonseminomas and*

- residual mature teratomas after chemotherapy.* Cancer Genet Cytogenet 1997; 99: 59-67.
13. Oosterhuis JW, Suurmeyer AJH, Sleyfer DT, Schraffordt Koops H, Oldhoff J, Fleuren G. *Effects of multiple-drug chemotherapy (cis-diammine-dichloroplatinum, bleomycin, and vinblastine) on the maturation of retroperitoneal lymph node metastases of nonseminomatous germ cell tumors of the testis: No evidence for de novo induction of differentiation.* Cancer 1983; 51: 408-416.
  14. Mostofi FK, Sobin LH. *Histological typing of testis tumours.* En: International Histological Classification of Tumours, No. 16. World Health Organization, Geneva 1977.
  15. Davey DD, Ulbright TM, Loehrer PJ, Einhorn LH, Donohue JP, Williams SD. *The significance of atypia within teratomatous metastases after chemotherapy for malignant germ cell tumors.* Cancer 1987; 59: 533-539.
  16. Einhorn L. *Treatment of testicular cancer: A new and improved model.* J Clin Oncol 1990; 8: 1777-1781.
  17. Oosterhuis JW, de Jong B, Cornelisse CJ y cols. *Karyotyping and DNA flow cytometry of mature residual teratoma after intensive chemotherapy of disseminated nonseminomatous germ cell tumor of the testis: A report of two cases.* Cancer Genet Cytogenet 1986; 22: 149-157.
  18. Logothetis CJ, Samuels ML, Trindade A, Johnson DE. *The growing teratoma syndrome.* Cancer 1982; 50: 1629-1635.
  19. Sonneveld DJA, Sleijfer DT, Schraffordt Koops H, Keemers-Gels ME, Moenaar WM, Hoekstra H. *Mature teratoma identified after postchemotherapy surgery in patients with disseminated nonseminomatous testicular germ cell tumors: A plea for an aggressive surgical approach.* Cancer 1998; 82: 1343-1351.

