



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS
ESPECIALIDADES

REVISIÓN HISTOGENÉTICA DE LOS
TUMORES TESTICULARES
GERMINALES

TESIS DOCTORAL

Francisco Gutiérrez Tejero

Granada, 2007



DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA
Universidad de Granada

D. FRANCISCO NOGALES FERNÁNDEZ, CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta D. FRANCISCO GUTIÉRREZ TEJERO sobre el tema *Revisión histogenética de los tumores testiculares germinales*, ha sido realizada bajo su dirección, y que revisada la misma, la encuentra conforme para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Granada, enero 2007.

Fdo. Francisco Nogales Fernández



DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS ESPECIALIDADES
Universidad de Granada

D. ARMANDO ZULUAGA GÓMEZ, CATEDRÁTICO DE UROLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta D. FRANCISCO GUTIÉRREZ TEJERO sobre el tema *Revisión histogenética de los tumores testiculares germinales*, ha sido realizada bajo su dirección, y que revisada la misma, la encuentra conforme para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Granada, enero 2007.

Fdo. Armando Zuluaga Gómez



DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS ESPECIALIDADES

Universidad de Granada

D. JOSE LUIS MARTÍNEZ TORRES, PROFESOR DEL DEPARTAMENTO DE
CIRUGÍA Y SUS ESPECIALIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta D. FRANCISCO GUTIÉRREZ TEJERO sobre el tema *Revisión histogenética de los tumores testiculares germinales*, ha sido realizada bajo su dirección, y que revisada la misma, la encuentra conforme para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Granada, enero 2007.

Fdo. Jose Luis Martínez Torres

AGRADECIMIENTOS

Muchas personas han contribuido, de una u otra forma, a que esta Tesis Doctoral sea hoy una realidad. Quiero desde estas líneas expresar mi profunda gratitud a todos ellos.

Al profesor D. Francisco Nogales Fernández, por su dedicación y enseñanzas en el campo de la Anatomía Patológica. Ha sido un privilegio el poder disfrutar de su trato, tanto humano como profesional, durante las muchas horas empleadas en la planificación y realización de este trabajo.

Tengo que agradecer al profesor D. Armando Zuluaga Gómez el enorme interés y apoyo demostrado por este trabajo desde sus comienzos.

Al Doctor D. Jose Luis Martínez Torres, por sus sabios consejos en la elaboración de este trabajo.

A Julio, patólogo de gran valía humana y profesional, un pilar imprescindible sobre el que se apoya esta tesis doctoral.

Al profesor D. Pablo Lardelli Claret por su dedicación y enorme paciencia en la elaboración de este trabajo.

A todos los urólogos del Hospital Clínico de Granada y del Hospital Médico Quirúrgico de Jaén.

A los Doctores Ramírez y Luque, patólogos del Hospital Médico Quirúrgico de Jaén.

Al personal técnico del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Granada, por su desinteresada ayuda en la realización de las técnicas empleadas.
Al Sr.Garrido por su inestimable colaboración.

A la Fundación Hospital Clínico por favorecer en el ámbito del Hospital San Cecilio de Granada la realización de trabajos de investigación.

A Carmen y Alejandro

ÍNDICE DE ABREVIATURAS:

AFIP: Instituto de las Fuerzas Armadas de Patología . Washington, D.C.

AFP: Alfafetoproteína.

AJCC: Comité americano sobre el cáncer.

CGH: Hibridación genómica comparada.

EAU: Asociación europea de urología.

EMA: Antígeno epitelial de membrana.

FISH: Hibridación in situ fluorescente.

HCG: Gonadotropina coriónica humana.

IGCCCG: Grupo internacional del cáncer de células germinales.

LDH: Lactato deshidrogenasa.

LDRP: Linfadenectomía retroperitoneal.

MIR: Médico interno residente.

mRNA: Acido ribonucleico mensajero.

NICG-i: Neoplasia intratubular de células germinales indiferenciada.

OMS: Organización mundial de la salud.

PAS: Acido periódico de Schiff.

PET: Tomografía por emisión de positrones

QT: Quimioterapia.

RT: Radioterapia.

RM: Resonancia magnética.

SCG: factor de crecimiento tirosinquinasa.

TC: Tomografía computarizada.

TGG β : Factor de crecimiento transformante β .

UICC: Unión internacional contra el cáncer.

β hCG: Cadena β de la gonadotropina coriónica humana.

Índice	PAG.
I. INTRODUCCIÓN.	1
1. TESTÍCULO.	
1.1. Embriología.	2
1.2. Anatomía.	6
2. TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINALES.	
2.1. Concepto.	11
2.2. Epidemiología.	11
2.2.1. Incidencia.	11
2.2.2. Etiopatogenia.	12
2.3. Patrones de diseminación y evolución natural.	17
2.4. Diagnóstico.	18
2.4.1. Clínica.	18
2.4.2. Exploración física.	19
2.4.3. Pruebas de imagen.	20
2.4.4. Marcadores séricos.	24
2.5. Estadiaje.	28
2.6. Tratamiento.	33
3. HISTOGÉNESIS DE LOS TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINALES.	
3.1 Histogénesis clásica.	39
3.2 Histogénesis actual.	43
3.3. Tipos histológicos.	49
4. BIOLOGÍA MOLECULAR.	75

<u>Índice</u>	<u>PAG.</u>
II. JUSTIFICACIÓN.	79
III. OBJETIVOS.	82
IV. MÉTODOS.	84
V. RESULTADOS.	93
VI. DISCUSIÓN.	123
VII. CONCLUSIONES.	136
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	138

I. Introducción.

1. TESTÍCULO.

1.1. EMBRIOLOGÍA.

El sexo genético de un embrión se establece en la fecundación según el tipo de espermatozoide que haya fecundado al óvulo (X para mujeres e Y para varones). Inicialmente los sistemas genitales incipientes en ambos sexos son similares y es lo que se conoce como periodo indiferenciado del desarrollo sexual. Las características morfológicas sexuales de hombres y mujeres no iniciarán su desarrollo hasta la séptima semana¹.

GÓNADA INDIFERENCIADA.

Esbozo somático de la gónada.

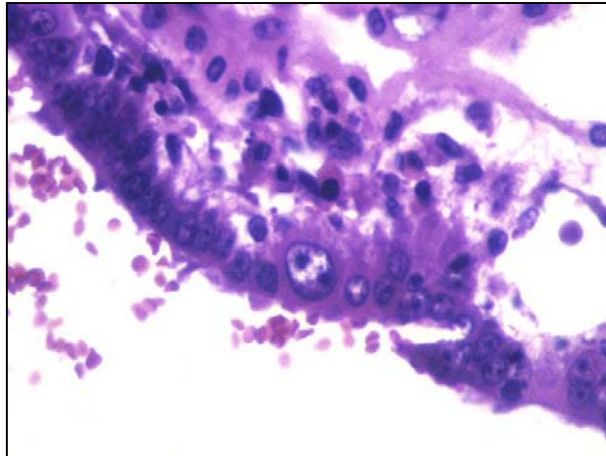
Las gónadas se desarrollan a partir de dos grupos celulares de naturaleza y origen diferentes. Por una parte, células somáticas destinadas a proporcionar el componente nutricional y secretor de hormonas de la gónada como también el tejido de sostén, y por otra parte, las células germinales formadas en el exterior del esbozo somático².

Durante la quinta semana, aparece la primera manifestación de desarrollo gonadal como una zona engrosada de epitelio celómico sobre el lado medial del mesonefros, es la denominada cresta gonadal. Posteriormente se desarrollarán unos cordones epiteliales digitiformes, denominados cordones sexuales primarios, que constituirán la gónada indiferenciada. Esta gónada estará compuesta por una corteza externa y una médula interna, de tal forma, que si el complemento cromosómico es XX, la corteza en condiciones normales se diferenciará a ovario y la médula involucionará. En embriones con un complemento cromosómico sexual XY, la médula se diferenciará a testículo y la corteza es la que involuciona.

Células germinales primordiales.

Al principio de la cuarta semana se aprecian unas células esféricas y voluminosas entre las células endodérmicas del saco vitelino. Son células grandes, en comparación con la mayoría de las células somáticas, de alrededor de 12 a 20 μm de diámetro, y se caracterizan por poseer unos núcleos vesiculares con membranas nucleares bien definidas. Son las llamadas células germinales primordiales o gonocitos (figura 1), las cuales iniciarán una migración por el mesenterio dorsal del intestino posterior hasta las crestas gonadales³.

Figura 1. Célula germinal primordial. Embrión 21 días. Gentileza Dr. F. Nogales.



Dicha migración va a verse facilitada por la acción de un factor quimiotáctico de la familia $\text{TGF}\beta$ (factor de crecimiento transformante- β), el cual atrae a las células germinales al mismo tiempo que estimula su proliferación². En la sexta semana las células germinales primordiales van a llegar al esbozo gonadal, penetrando en el mesénquima subyacente y desarrollándose en este momento los cordones sexuales primitivos en presencia de elementos mesonéfricos.

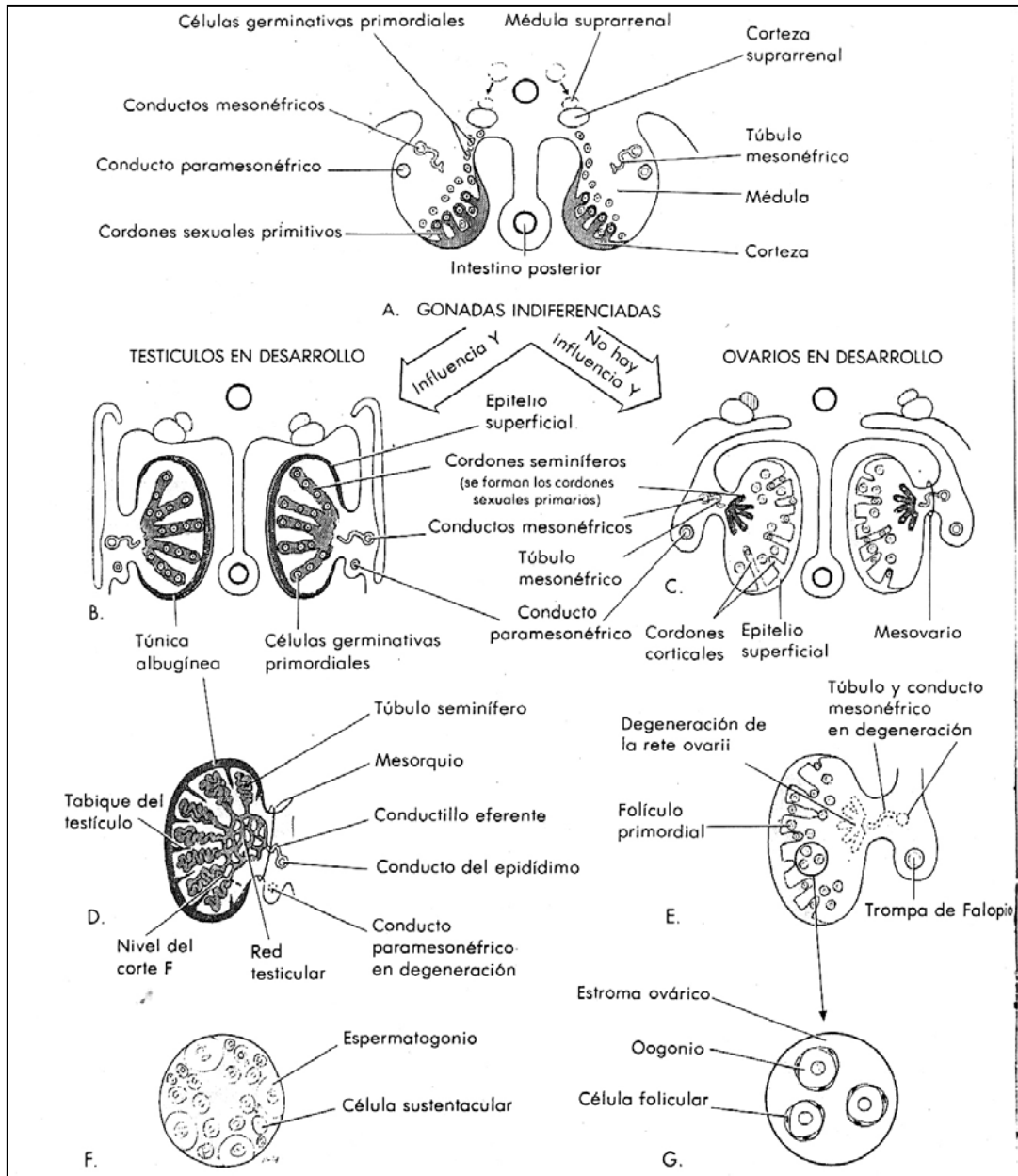
DESARROLLO TESTICULAR (figura 2)¹.

Como se ha comentado anteriormente, es durante la séptima semana cuando las gónadas se diferenciarán según su contenido cromosómico. De tal forma, que es la presencia del cromosoma Y lo que va a determinar un desarrollo gonadal hacia testículo. En el brazo corto del cromosoma Y se ha identificado el gen SRY (sex determining region of Y chromosome) como gen principal de la diferenciación sexual⁴. Cuando este gen SRY está expresado, las células epiteliales de los cordones sexuales primitivos comienzan a diferenciarse en células de Sertoli. Estas células a su vez se organizarán para formar los cordones testiculares, a partir de los cuales se desarrollará el sistema tubular testicular. En estos cordones testiculares las células germinales primordiales irán multiplicándose y permanecerán indiferenciadas, denominándose espermatogonias primitivas². En ausencia de la proteína SRY los cordones sexuales se diferenciarán hacia folículos ováricos.

Las células de Sertoli van a secretar una sustancia glucoproteica llamada Sustancia Inhibidora Mülleriana (SIM), la cual es la responsable de la regresión rápida de los conductos müllerianos, que son los responsables del desarrollo de los órganos femeninos. En el hombre pueden observarse unos vestigios de estos conductos, como son el apéndice testicular o hidátide de Morgani y el utrículo prostático. En los embriones femeninos la SIM está ausente, por lo cual no existe regresión de estos conductos müllerianos.

En la novena semana, las células parenquimatosas de la cresta genital en respuesta a la proteína SRY, se van a diferenciar en las células de Leydig. Estas células tendrán como principal función la de secretar testosterona y producir un fenotipo masculino.

Figura 2. Desarrollo gonadal. Tomado Moore KL¹.



MECANISMO MOLECULAR DE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL.

El gen SRY fue descubierto en 1990 por Sinclair y cols.⁴ tras muchos años de investigación encaminados en descubrir el gen determinante de los testículos en los mamíferos. Su papel en la determinación sexual en seres humanos fue apoyado por numerosos trabajos⁵⁻⁷ y confirmado posteriormente por estudios en ratones⁸. Se pensó entonces, que la identificación de la proteína SRY permitiría la pronta identificación de los elementos que regulan el desarrollo sexual masculino. Sin embargo, existen hoy día muchas lagunas en este sentido, y aún no se ha demostrado la ligadura de la proteína SRY a otros genes o factores, y no se sabe con certeza cual es el mecanismo molecular mediante el que los genes interactúan para determinar el sexo^{9,10}.

Actualmente se han descrito las actividades de varios elementos regulatorios nuevos en la diferenciación sexual masculina y femenina. Entre estos se encuentran el gen del tumor de Wilms (WT1), el factor esteroideogénico 1 (SF1), un factor de transcripción relacionado con el SRY (SOX9) y el gen DAX1¹¹⁻¹³. El papel que juegan estos factores y su relación con el gen SRY está aún por determinar¹⁴.

1.2. ANATOMÍA.

Los testículos son dos órganos que forman parte del aparato genital masculino y que van a tener una doble función: exocrina (producción de espermatozoides) y endocrina (secreción de testosterona). Los espermatozoides generados en el testículo serán conducidos a la uretra prostática a través de la vía seminal, formada por epidídimo, conducto deferente y conducto eyaculador.

Tienen una forma elipsoidea y presentan una situación oblicua en la bolsa escrotal. Su borde anterior es convexo, mientras que el borde posterior es casi recto situándose a este nivel el epidídimo, el cual presenta comunicación con el testículo a

través de una red tubular. El epidídimo está constituido esencialmente por un túbulo enrollado, plegado sobre sí mismo muy apretadamente, de unos 6 metros de longitud y que se continua con el conducto deferente (figura 3)¹⁵.

Están alojados en las bolsas escrotales y se mantienen en posición gracias al ligamento escrotal (Gubernaculum testis) que los fija al fondo de la bolsa, y al cordón espermático del que quedan suspendidos en su polo superior. Los testículos están envueltos por una estructura fibrosa, la túnica albugínea, que es una membrana densa de un color blanco azulado y que está compuesta por haces entrecruzados de tejido fibroso.

En el borde posterior del testículo, la túnica albugínea se proyecta en el interior de la glándula formando un tabique vertical incompleto denominado cuerpo de Highmore o mediastino testicular. Este tabique se extiende desde la parte superior hasta cerca del extremo inferior de la glándula, siendo más ancho por arriba que por abajo. De esta estructura parten numerosos tabiques (tabiques testiculares) que se dirigen en sentido radial hacia la superficie del testículo, donde se fijan a la cara profunda de la túnica albugínea. Estos tabiques, dividen el testículo en cierto número de lobulillos con forma cónica, cuyas bases están en la superficie del testículo y sus vértices convergen en el mediastino (figura 3)¹⁵. El número de estos lobulillos en el testículo humano se calcula entre 200 y 300 y su tamaño difiere de acuerdo con su posición, siendo los del centro del testículo más grandes y más largos. Cada lobulillo está formado por dos estructuras básicas: el túbulo seminífero y el islote intersticial de Leydig. (figura 4)¹⁵ y (figura 5).

El túbulo seminífero está rodeado por una membrana basal en la que se apoyan los dos tipos celulares existentes, es decir, las células germinales y las células de Sertoli.

Línea germinal.

Está constituida por elementos que migran conforme a su maduración desde el polo basal del epitelio seminífero hacia su polo apical. En la periferia de la pared del túbulo en contacto con la membrana basal, se encuentran las espermatogonias, que son células derivadas de las células germinales primordiales. A partir de estas espermatogonias y por varias diferenciaciones celulares, se formarán los espermatozoides que serán liberados a la luz del túbulo.

Células de Sertoli.

Son células de gran tamaño que ocupan radialmente todo el espesor del epitelio tubular. Ejercen funciones mecánicas, tróficas y paracrinas respecto de las células germinales y producen el plasma seminal primitivo. Gracias a su citoesqueleto, asociado a proteínas contráctiles, facilitan la migración de las células germinales en maduración hacia la luz tubular. Van a controlar igualmente la proliferación, diferenciación y metabolismo de las células germinales¹⁶.

Cada lobulillo va a estar constituido por uno o más túbulos seminíferos, de tal forma que el testículo está formado por alrededor de 900 túbulos seminíferos enrollados. Hacia los vértices de los lobulillos los túbulos seminíferos se vuelven rectos (túbulos rectos) y entran al mediastino testicular para formar una red anastomótica de túbulos revestidos por epitelio aplanado. Esta red es conocida como red de Haller o rete testis y va a formar 12 a 20 conductillos eferentes que se continúan con la porción más voluminosa del epidídimo, la cabeza. Aquí los conductillos eferentes se agrandan, se tornan más contorneados y forman lobulillos cónicos. El conducto de cada lobulillo va a drenar en un único conducto epididimario que se enrolla dentro de la vaina fibrosa del epidídimo para formar su cuerpo y su cola (figura 3)¹⁵. A nivel de la cola, el conducto epididimario se rectifica para convertirse en el conducto deferente.

Entre los túbulos seminíferos y entremezclados con el tejido conectivo vascular, se encuentran grupos celulares que constituyen los islotes intersticiales de Leydig. Estos están formados por grupos de células íntimamente adaptadas unas a otras y cuya función es la producción de testosterona.

Figura 3. Estructura del testículo. Tomado de Gray¹⁵.

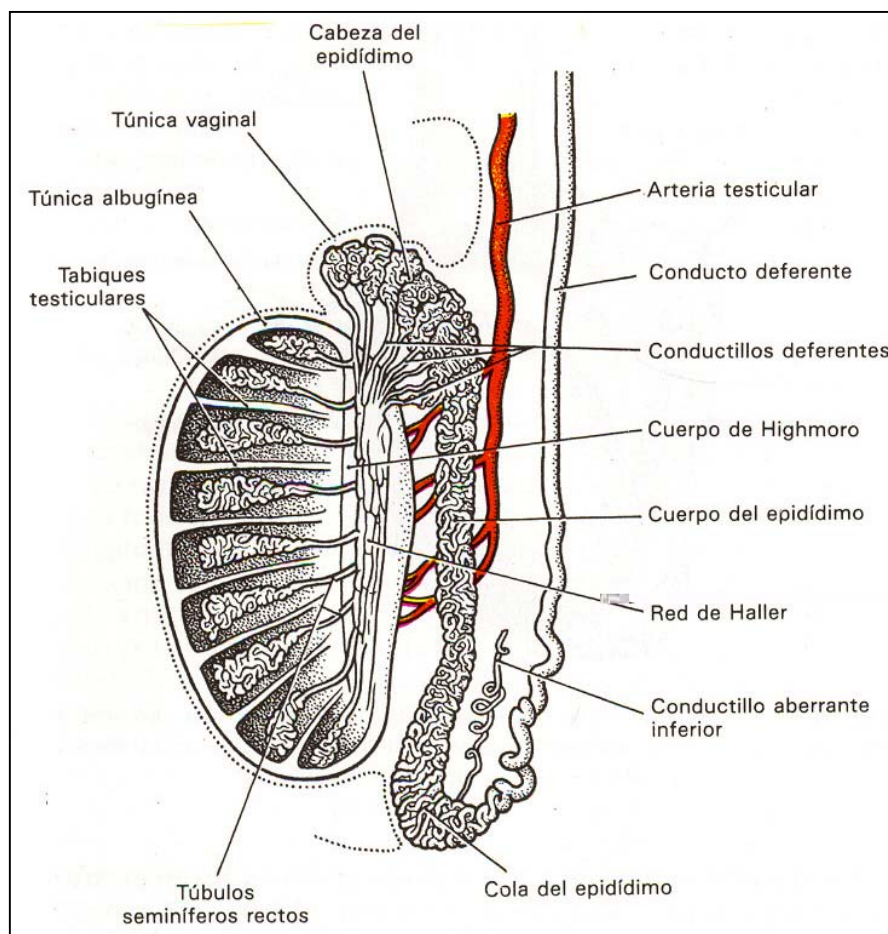


Figura 4. Representación de lobulillo testicular. Tomado de Gray¹⁵.

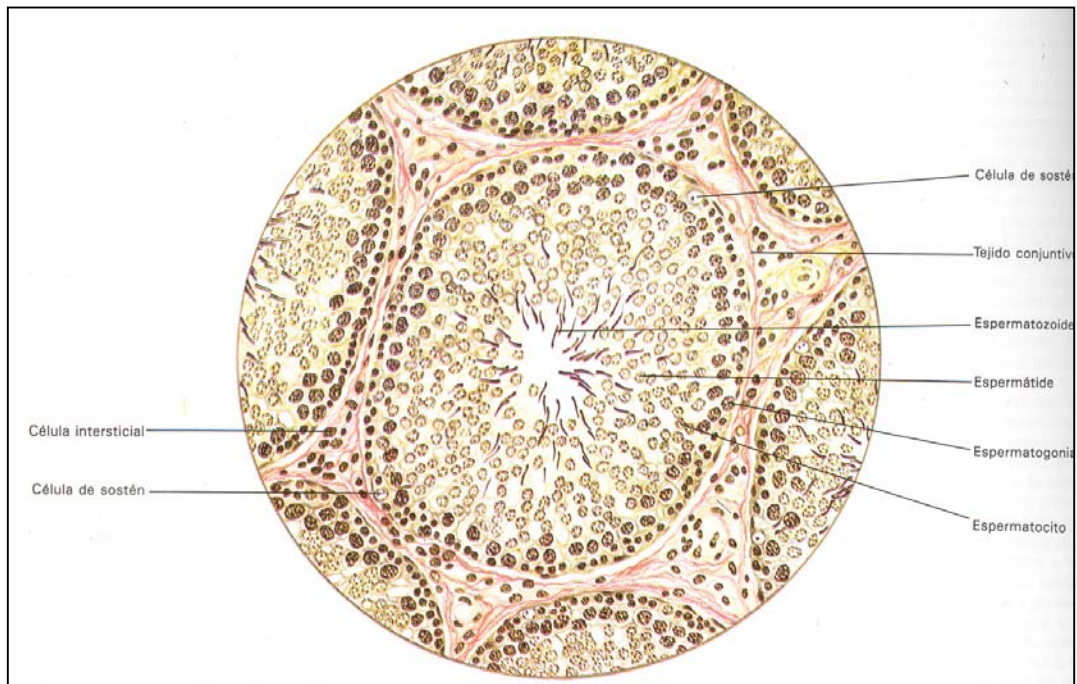
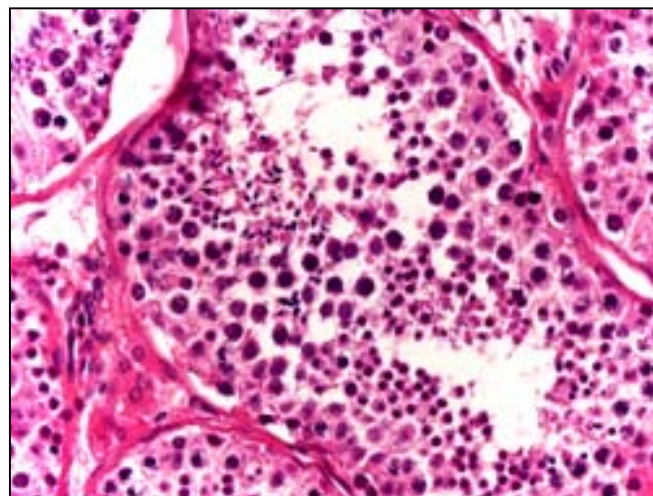


Figura 5. Imagen microscópica de lobulillo testicular. Gentileza Dr. F. Nogales. Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de Granada.



2. TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINALES.

2.1. CONCEPTO.

Los Tumores Testiculares de Células Germinales (TTCG) son un grupo heterogéneo de neoplasias originadas en las células germinales testiculares. Al derivar de la línea de células madre totipotenciales, mantienen su capacidad multidiferenciativa para configurar potencialmente todos los tejidos y células del organismo. Estos tumores reproducen caricaturescamente los distintos estadios de diferenciación somática y su comportamiento es paralelo a su diferenciación ontogénica.

2.2. EPIDEMIOLOGÍA.

2.2.1. INCIDENCIA.

El cáncer de testículo es una neoplasia poco frecuente, representando sólo el 1-1,5 % de todas las neoplasias del varón^{17,18}. Los TTCG suponen aproximadamente el 95 % de todos los tumores testiculares y son los tumores más frecuentes del varón entre los 15 y 35 años¹⁹⁻²¹.

En los últimos años, se está produciendo un incremento progresivo en la incidencia de estos tumores en el mundo occidental²²⁻²⁸. En países menos desarrollados este incremento es significativamente menor, de forma que en África, el Caribe y Asia la incidencia es típicamente menor de 2 casos por 100.000 habitantes²⁸. En Europa sin embargo, aparece una incidencia elevada, alrededor de 8-10 casos por 100.000 habitantes en países como Dinamarca, Alemania, Noruega, Hungría y Suiza. En países como Gran Bretaña, Francia o Italia se presentan niveles medios, mientras que en otros como España o Grecia los niveles son bajos, con unos 3.8 casos por 100.000 habitantes²⁵. En Estados Unidos se ha producido igualmente

un incremento en los últimos años, de una incidencia de 3,35 casos por 100.000 habitantes hace unas décadas, han pasado actualmente a 4,84 casos por 100.000 habitantes²⁶. Este incremento parece afectar de forma similar a seminomas y no seminomas, lo cual indicaría que son tipos histológicos comparables desde un punto de vista epidemiológico²⁹.

Esta variabilidad geográfica caracterizada por una mayor incidencia en países desarrollados, ha hecho que se plantee la posibilidad de que este tipo de tumores estén relacionados con el estilo de vida occidental, es decir, abuso de dietas hipercalóricas y escaso ejercicio físico²⁸.

La edad de distribución de los TTCG difiere del resto de tumores, ya que aumenta la incidencia después de la pubertad y disminuye por encima de los sesenta años²⁸. Son tumores que afectan típicamente a varones entre los 20 y 35 años, si bien es cierto que pueden presentarse a cualquier edad. El pico de incidencia para seminomas se sitúa en la cuarta década de la vida, mientras que los tumores no seminomatosos suelen aparecer en una década más temprana^{28,30}. Del mismo modo, dentro de los tumores no seminomatosos la incidencia de los distintos tipos histológicos varía con la edad, siendo en la infancia de predominio el tumor vitelino y el teratoma^{31,32}.

La raza juega también un papel importante en estos tumores y esto se evidencia al observar que la incidencia es cinco veces mayor en americanos blancos comparados con americanos negros^{26,33}. La incidencia igualmente, es 10 veces superior en los negros americanos que en los africanos²⁶. La única población no blanca con una relativa alta incidencia de TTCG son los Maoris de Nueva Zelanda³⁴.

2.2.2. ETIOPATOGENIA.

A la hora de abordar la etiopatogenia de estos tumores, al igual que en otros, se comprueba la existencia de interrogantes cuyas respuestas están aún lejos de ser definidas. De tal forma que podría plantearse si el cáncer testicular ¿se hereda? o

bien ¿es adquirido debido a factores medioambientales?. La solución a estas cuestiones es de tal complejidad, que es motivo de controversia y debate en el momento actual por los distintos investigadores³⁵⁻³⁷. Como se comentó anteriormente, la observación de un incremento de su incidencia en países desarrollados frente a los menos desarrollados, ha hecho que muchos autores otorguen al estilo de vida occidental un papel importante en su desarrollo²⁸. Igualmente, se ha publicado que la exposición a distintos factores medioambientales (estrógenos, disolventes, pesticidas) se relaciona con una mayor predisposición a desarrollar un cáncer testicular³⁸⁻⁴⁰.

Por otro lado, hay datos que nos sugieren que este tumor tiene relación con factores genéticos, ya que hay una mayor incidencia entre familiares de pacientes afectados por tumor testicular⁴¹⁻⁴³. Del mismo modo, el hecho de la posible afectación bilateral^{44,45} y la variabilidad en la incidencia según la raza^{26,33} sugieren un factor genético en su etiopatogenia.

Lo más probable es que ambos factores, la herencia y los factores medioambientales, jueguen un papel en esta enfermedad sin que quede claro aún el papel de cada uno³⁰.

De una forma práctica, podemos clasificar los factores de riesgo en congénitos y adquiridos.

FACTORES CONGÉNITOS.

- Actualmente se plantea la hipótesis de que la enfermedad comenzaría en la vida fetal, con la anormal diferenciación de las células germinales primordiales en el feto^{28,46-48}. Existen algunos datos que indican la relación del tumor testicular con unas condiciones de vida fetales anormales:

- Asociación con malformaciones congénitas de los genitales masculinos:

- Criptorquidia.

Ha sido considerada como el factor de riesgo más aceptado para desarrollar un tumor testicular. Históricamente se ha atribuido a la criptorquidia una fuerte asociación con el cáncer testicular, encontrando antecedentes de esta anomalía en un 7 al 12 % de los casos⁴⁹⁻⁵². Sin embargo, estudios epidemiológicos más recientes³⁹ indican una disminución significativa del riesgo relativo achacado a la criptorquidia, e incluso hay autores que comunican que no hay evidencia de que la criptorquidia sea un factor de riesgo claramente demostrado⁵³. Lo más aceptado actualmente es considerar a la criptorquidia como factor de riesgo de desarrollar un tumor testicular, sobre todo si se asocia a atrofia testicular^{28,30}. Parece que tanto el teste maldescendido como el normal contralateral, tendrían un incremento de riesgo de cáncer testicular⁵² y que dicho riesgo se mantendría independientemente de que fuera la criptorquidia corregida o no^{54,55}.

- Otras malformaciones.

Hay autores que indican cierto incremento de la incidencia en hipospadias⁵⁶.

- Pacientes con síndromes intersexuales parecen tener un mayor riesgo de desarrollar un tumor testicular^{57,58}.

- Factores de riesgo prenatales.
 - La exposición a altos niveles de estrógenos durante el embarazo se ha relacionado con una mayor incidencia de tumor testicular^{40,59}. Estos hallazgos sugerirían la hipótesis, como se ha comentado antes, de que el desarrollo tumoral ocurriría tempranamente, posiblemente durante el periodo prenatal.
 - Hay estudios igualmente que sugieren que el crecimiento intrauterino retardado podría estar relacionado con estos tumores⁶⁰.

- Factor racial.

El papel racial con predominio en la raza blanca, se ha comentado ya al comienzo de este capítulo^{26,33}.

- Factor familiar.

Los miembros familiares tienen un incremento en el riesgo de presentar un TTCG, de tal forma, que en un 2 % de los casos existe afectación familiar^{42,43}. Este incremento en el riesgo es de 3.8 para padres y de 8.3 para hermanos²⁸ y esta susceptibilidad familiar raramente tiene más de dos miembros afectados³⁰.

- Bilateralidad.

La afectación tumoral testicular bilateral es un hecho clínico infrecuente que acontece entre el 1 y el 5 % de los casos^{44,45}. Parece ser más frecuente en tumores no seminomatosos y en varones menores de 30 años al diagnóstico del primer tumor^{61,62}. En la mayoría de las ocasiones (85 %), la

presentación es metacrónica, mientras que en un 15 % se presentan de forma sincrónica^{63,64}.

FACTORES ADQUIRIDOS.

No existen factores de riesgo adquiridos claramente establecidos en adultos, si bien existen numerosas publicaciones pero con escasa evidencia científica. De tal forma que se ha relacionado a estos tumores con el estilo de vida occidental²⁸, nutrición infantil³⁸, ocupación laboral (pintores, ebanistas)^{65,66}, inmunodeprimidos⁶⁷, agentes virales⁶⁸, etc.

Un aspecto a destacar en estos tumores es su relación con la infertilidad. En este sentido, el espermograma realizado a varones con TTCG antes de iniciar cualquier tratamiento, revela que el 15-25 % de estos tendrán una severa oligospermia o azoospermia^{69,70}. De igual manera, en el estudio de pacientes infértiles se ha descubierto de forma incidental un tumor testicular hasta en un 3 % de los casos⁷¹. El por qué de esta relación se desconoce, si bien se han propuesto diversos mecanismos incluyendo un origen autoinmune o una modificación endocrina que condiciona una alteración de la espermatogénesis. Por todo esto, hay autores que indican que los varones infértiles y subfértiles tienen un incremento en el riesgo de desarrollar un cáncer testicular⁷²⁻⁷⁵. Está por ver si es necesario por dicho motivo, incluir la ecografía en el protocolo de estudio del paciente infértil⁷⁶.

En relación al traumatismo testicular, no hay datos de que en el hombre este factor favorezca la aparición de tumores testiculares. El hecho de reflejarlo se debe a que aparece como antecedente hasta en el 4 % de los pacientes que presentan cáncer testicular⁷¹.

Finalmente, se ha intentado revisar la etiología por separado para seminomas y no seminomas, sin apreciar diferencias entre ambos grupos. Es muy probable que los factores etiológicos para estos subtipos tumorales sean posiblemente los mismos⁷⁷.

2.3. PATRONES DE DISEMINACIÓN Y EVOLUCIÓN NATURAL.

2.3.1. PATRONES DE DISEMINACIÓN.

La observación clínica de estos tumores ha permitido conocer sus características de crecimiento local y patrones de diseminación. En líneas generales, a excepción del coriocarcinoma, estos tumores se diseminan según un patrón predecible y ordenado⁷⁸. Su principal vía de diseminación es la linfática, siendo la vía hemática rara, salvo para el coriocarcinoma o bien estadios tumorales evolucionados. El drenaje linfático del testículo derecho tiene como primer escalón de drenaje los ganglios paracavos e interaortocavos, mientras que para el testículo izquierdo son los ganglios paraaórticos (en el compartimento limitado por el uréter izquierdo, la vena renal izquierda, la aorta y el origen de la vena mesentérica inferior) y preaórticos. Posteriormente, el drenaje linfático se dirige hacia la cisterna magna, el conducto torácico y los ganglios linfáticos supraclaviculares, generalmente izquierdos.

Las metástasis en los ganglios linfáticos inguinales suceden por invasión escrotal del tumor primario, por una intervención quirúrgica a través del escroto, o por una diseminación linfática retrógrada secundaria a grandes metástasis retroperitoneales.

Las metástasis a distancia extraganglionares, son el resultado de la invasión vascular directa o por embolismos celulares tumorales desde las metástasis linfáticas, a través de los canales toraco abdominales principales o las comunicaciones linfático venosas menores. La mayoría de las metástasis hematógenas van a ocurrir después de las metástasis ganglionares.

2.3.2. EVOLUCIÓN NATURAL.

La evolución natural de los TTCG ha sido bien estudiada desde hace décadas⁵⁰, de tal forma, que todos los TTCG del adulto deben ser considerados malignos. En niños sin embargo, el teratoma puede ser considerado un tumor

benigno al contrario que en adultos, donde puede asociarse a invasión vascular y diseminación^{79,80}.

La velocidad de crecimiento de los TTCG tiende a ser alta, a excepción del seminoma. El tumor seminomatoso con respecto al no seminomatoso, va a tener un crecimiento más lento, y con una diseminación exclusivamente linfática hasta las fases finales de la enfermedad. Los tumores no seminomatosos sin embargo, son de crecimiento más rápido y la diseminación hemática ocurre con mayor frecuencia. La experiencia clínica ha confirmado estos hechos, de forma que en los pacientes en quienes fracasa el tratamiento, el desenlace suele ser rápido y fatal; así el 85% de los pacientes con una neoplasia testicular metastásica o diseminada en la que fracasa el tratamiento, suelen fallecer en el curso de 2 años. A su vez, el comportamiento de los distintos tipos histológicos de tumores no seminomatosos es diferente, siendo el coriocarcinoma y el carcinoma embrionario mucho más agresivos en su evolución y diseminación hacia vísceras que los tumores vitelinos o teratomas. La práctica habitual a la hora de establecer los resultados del tratamiento y el pronóstico de la enfermedad, es considerar la supervivencia a 5 años como el parámetro más representativo para juzgar la curación, si bien es esencial un seguimiento prolongado de la misma puesto que se han documentado recidivas hasta 10 años después de un tratamiento considerado exitoso⁸¹.

2.4. DIAGNÓSTICO.

2.4.1. CLÍNICA.

La presentación clínica más frecuente de los TTCG consiste en la aparición de un nódulo o masa escrotal no dolorosa, que suele ser descubierta accidentalmente por el paciente^{21,80}. Al ser asintomático, el paciente suele restar importancia inicialmente al problema y consulta tras meses de evolución y no resolución del cuadro.

En otras ocasiones, el paciente consulta al médico por un dolor leve testicular o bien localizado en abdomen e irradiado hacia la región inguinoescrotal. En un pequeño porcentaje de casos puede manifestarse como un proceso inflamatorio testicular (orquitis) de evolución tórpida o bien como un hidrocele. En algunos casos el paciente refiere un antecedente traumático previo⁸¹.

Hasta un 10% de los pacientes consultan por síntomas relacionados con metástasis a distancia. Pueden presentar de este modo, un cuadro constitucional general, dolor lumbar, síntomas respiratorios, síntomas gastrointestinales, etc. En un 1-5 % de los casos puede aparecer ginecomastia debido a la secreción de gonadotropina coriónica humana (hCG)⁸².

Es importante destacar que en cualquier paciente con una masa testicular irregular y no dolorosa, se debe sospechar un cáncer testicular mientras no se demuestre lo contrario^{81,83}. Actualmente gracias a las campañas de promoción de la salud y a la difusión en medios de comunicación, los pacientes con esta sintomatología consultan con su médico de forma temprana, de tal forma, que los TTCG son diagnosticados en estadios más precoces que hace años⁸⁴.

2.4.2. EXPLORACIÓN FÍSICA.

El examen físico de los pacientes en los que se sospeche un TTCG debe incluir una exploración detallada de los testículos, zonas inguinales, abdomen, tórax y cuello^{85,86}.

Testículos.

Se realizará una palpación bimanual del contenido escrotal, iniciándose en el teste normal, que servirá de referencia en cuanto al tamaño, forma, consistencia y dolor. El testículo normal muestra una consistencia homogénea, mientras que en caso de tumor, la consistencia es dura y firme, con superficie muchas veces irregular y con poco dolor a la palpación. Debe explorarse también el cordón espermático,

epidídimo y conducto deferente, que suelen ser normales a diferencia de los procesos inflamatorios en los que se encuentran engrosados.

Regiones inguinales.

Se deben explorar en busca de posibles adenomegalias.

Abdomen.

Pueden palparse masas abdominales debido a grandes adenopatías de localización retroperitoneal o bien por afectación visceral en casos de enfermedad evolucionada.

Tórax-cuello.

Se debe explorar la presencia o no de ginecomastia, así como, la región supraclavicular y cervical en busca de posibles adenopatías.

2.4.3. PRUEBAS DE IMAGEN.

Ecografía escrotal.

La ecografía es la técnica de elección para explorar el testículo, ya que se trata de una prueba inocua, no invasiva y de bajo coste⁸⁷⁻⁹⁰. La patología intratesticular versus extratesticular puede ser diferenciada con una sensibilidad del 98-100 %⁹¹.

En el testículo, toda lesión sólida detectada por ecografía, debe ser considerada como sospechosa de malignidad⁸¹. Estos tumores suelen presentarse como lesiones hipoeoicas, con diferente grado de homogeneidad, más o menos regulares y delimitadas. Según sus características ecográficas, es posible hacerse una idea de su naturaleza histológica⁹². En este sentido, los seminomas suelen ser lesiones bien definidas y homogéneas mientras que los tumores no seminomatosos

tienen una apariencia más variable. El estudio doppler color aporta además información sobre la vascularización de la masa testicular.

Un aspecto a tratar por su frecuente asociación con los TTCG, es la microlitiasis testicular. Esta es una entidad de etiología desconocida, en la que tiene lugar la presencia de 5 o más pequeños focos ecogénicos dentro del testículo con un tamaño que oscila entre 1 y 3 mm de diámetro^{93,94} y que suelen carecer de sombra acústica. Es en general una lesión asintomática, aunque en ocasiones se acompaña de dolor testicular. Se desconoce la incidencia real de microlitiasis testicular en la población general, aunque se estiman unas cifras con un rango entre el 0,4 y el 6,7 %^{95,96}. Este porcentaje aumenta en población seleccionada⁹⁷, como serían pacientes con criptorquidia (3 %), varones infértiles (0,6-15 %) y pacientes afectados de tumores testiculares malignos. En estos últimos, se ha observado su presencia en el tejido testicular adyacente al tumor testicular con un rango del 6 al 45 % de los casos^{98,99}. Es importante conocer sin embargo, la existencia de patologías benignas que pueden originar calcificaciones intratesticulares, como son los granulomas post-inflamatorios, calcificaciones vasculares, flebolitos, hematomas, tuberculosis, sarcoidosis y los infartos crónicos. Pese a no ser por tanto una lesión exclusiva de los TTCG, la frecuente asociación de estos con la microlitiasis testicular, es lo que ha llevado a algunos autores a considerar a esta lesión premaligna^{100,101}, e indicar la biopsia testicular en caso de detectar su presencia en una ecografía testicular¹⁰⁰. Esta idea sin embargo, no es compartida por la mayoría de autores ya que como se ha comentado previamente, esta lesión puede aparecer en individuos sanos y en patologías benignas testiculares. Es considerada por ello de forma mayoritaria, como una lesión no específica de estas neoplasias^{98,102,103}, estando su papel y su relación con los TTCG en discusión actualmente^{104,105}.

Una vez comentados los aspectos epidemiológicos sobre la microlitiasis testicular, es importante destacar que la interpretación y seguimiento de esta lesión variará dependiendo del tipo de sujeto. La actitud debiera ser distinta si esta lesión se descubre de forma incidental en una ecografía escrotal o bien aparece en un paciente con factores de riesgo de desarrollar un TTCG (criptorquidia con teste atrófico,

antecedente familiar de tumor testicular, teste contralateral al tumoral). En pacientes con estos factores de riesgo es prudente un seguimiento mediante exploración testicular y ecografía, sin estar clarificado la necesidad de realizar o no biopsia testicular rutinaria^{99,106-107}. Otros autores creen razonable realizar un control ecográfico anual, independientemente de la existencia o no de factores de riesgo asociados¹⁰⁸. Es importante indicar que la monitorización de los marcadores tumorales séricos, en ausencia de otras indicaciones, no es de utilidad debido a que la mayoría de los estudios no han encontrado valores elevados en aquellos casos de diagnóstico incidental de microlitiasis testicular¹⁰⁹. Recientemente Rashid y cols.¹¹⁰, han propuesto un protocolo para el seguimiento y control en pacientes que presentan microlitiasis testicular. Aquellos con factores de riesgo conocidos para desarrollar un tumor testicular, deberían ser sometidos a autoexploración física mensual y revisión anual por un urólogo con realización de ecografía escrotal. En aquellos casos sin factores de riesgo, se indica autoexploración física y valoración anual por el médico de familia, remitiéndolo al urólogo en caso de observar alguna anomalía en la evolución.

Ecografía abdominal.

Puede ser útil para el diagnóstico de adenopatías retroperitoneales aunque tiene menor sensibilidad que la Tomografía Computarizada (TC). Sí es de gran utilidad en la detección de metástasis hepáticas.

Radiografía de tórax.

Es útil para la detección de metástasis pulmonares aunque actualmente ha sido superada por la Tomografía Computarizada torácica.

Urografía intravenosa.

Esta prueba se utilizaba en el pasado para detectar metástasis ganglionares retroperitoneales de forma indirecta, apreciando el efecto masa que originaba sobre

el riñón y la vía urinaria. No aportaba información sobre el volumen tumoral ni la localización de las lesiones, por lo que hoy día ha dejado de utilizarse en el estudio de los tumores testiculares.

Linfografía podálica.

Esta era una técnica muy utilizada hace años para la detección de adenopatías. Actualmente con la llegada de la Tomografía Computarizada ya no se realiza, al ser una prueba invasiva no exenta de riesgos y con un porcentaje de falsos negativos y positivos del 25 % y del 10 % respectivamente¹¹¹.

Tomografía Computarizada (TC).

Su principal indicación es la estadificación y posterior seguimiento de los pacientes con tumor testicular. La TC de abdomen es el medio más efectivo para detectar afectación de los ganglios linfáticos retroperitoneales, siendo el criterio de anormalidad un tamaño de los ganglios superior a 1-1,5 cm⁸⁰. La TC va a presentar una sensibilidad del 73 % y una especificidad del 94 % en la detección de adenopatías retroperitoneales⁵⁰, si bien no permite distinguir si la masa retroperitoneal es tumor activo o bien fibrosis o necrosis¹¹².

La TC de tórax va a tener una mayor sensibilidad que la radiografía simple en la detección de metástasis pulmonares. En este sentido, pacientes con TC de abdomen anormal, la TC de tórax ha permitido detectar alteraciones que no habían sido detectadas en la radiografía de tórax de rutina. Cuando la TC abdominal es negativa, la TC de tórax parece no tener una sensibilidad diagnóstica mayor que la radiografía simple.

Resonancia Magnética (RM).

La RM, a pesar de ser un método sensible para detectar tumores testiculares, es poco utilizada ya que aporta poca información a la proporcionada por la ecografía

y además, su alto coste no justifica su uso⁸¹. En general, la RM se utiliza cuando la ecografía plantea dudas diagnósticas. Esta técnica tampoco ofrece ventajas sobre la TC en el estudio del retroperitoneo de los pacientes con cáncer de testículo.

Tomografía por Emisión de Positrones (PET).

Esta prueba puede ser útil para complementar la TC en el estudio de la afectación ganglionar retroperitoneal^{113,114}, si bien otros autores no justifican su uso en el diagnóstico de adenopatías retroperitoneales^{115,116}. El PET sí puede resultar de utilidad en el estudio de masas residuales en seminoma, diferenciando masa tumoral activa de fibrosis o necrosis¹¹⁷.

2.4.4. MARCADORES SÉRICOS.

Los TTCG van a producir una serie de sustancias cuya determinación va a ayudar a su manejo. Los dos principales marcadores séricos son la alfa-fetoproteína (AFP) y la gonadotropina coriónica humana (hCG). Ambas son sustancias asociadas al desarrollo embrionario normal, siendo tras el nacimiento sus niveles muy bajos. En líneas generales, los TTCG no seminomatosos tienen algún marcador o ambos elevados en aproximadamente el 80 %, mientras que en seminomas se ha registrado una producción de hCG de un 15 a un 30 % de los casos^{21,118}.

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH), ha sido también un marcador utilizado en estas neoplasias. Su baja especificidad sin embargo, ha hecho que su uso sea menos estandarizado que los marcadores anteriores, si bien a partir de 1997 se incluye junto a la AFP y hCG en la clasificación pronóstica propuesta por el Internacional Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG)¹¹⁹ (figura 6).

Figura 6. Clasificación pronóstica del IGCCCG¹¹⁹.

	Buen pronóstico	Pronóstico intermedio	Mal pronóstico
No Seminoma	56 % TGNS SG (5 a): 92 % AFP < 1.000 ng/ml β hCG < 5.000 UI/L LDH < 1,5 x N (todos los criterios) No primario No metástasis	28 % TGNS SG (5 a): 80 % AFP 1.000-10.000 ng/ml β hCG 5.000-50.000 UI/L LDH 1,5-10 x N Metástasis pulmonares	16 % TGNS SG (5 a): 48 % AFP > 10.000 ng/ml β hCG > 50.000 UI/L LDH > 10 x N (alguno de los criterios) Primario mediastínico Metástasis viscerales extrapulmonares
Seminoma	90 % seminomas SG (5 a): 86 % Ausencia de metástasis viscerales extrapulmonares	10 % seminomas SG (5 a): 72 % Metástasis viscerales extrapulmonares	

SG 5a=supervivencia global a 5 años; TGNS=tumor germinal no seminomatoso.

Actualmente, la determinación de los marcadores tumorales séricos es fundamental en el diagnóstico, en el pronóstico y sobre todo en el seguimiento de estos tumores¹²⁰⁻¹²².

Alfafetoproteína (AFP).

La AFP es una glicoproteína con un peso molecular de 70.000 daltons que se sintetiza en grandes cantidades durante el desarrollo embrionario, fundamentalmente por el saco vitelino, hígado e intestino fetales. Es una de las principales proteínas de la circulación fetal y está estrechamente relacionada tanto genética como estructuralmente con la albúmina. La AFP presenta al nacer un valor alrededor de 200 ng/L para posteriormente ir descendiendo hasta alcanzar a los dieciocho meses de edad la concentración que permanecerá durante la edad adulta, es decir, inferior a

10 ng/L. Su vida media es de 5-7 días^{80,123}. La AFP muestra elevaciones de origen no tumoral principalmente durante la gestación, en la que los niveles en suero materno se incrementan desde la semana 14 hasta alcanzar los 500 ng/L en el tercer trimestre. Otros procesos benignos capaces de elevar la AFP sérica están relacionados fundamentalmente con patología hepática¹²⁰.

Los procesos neoplásicos que conducen con más frecuencia a aumentos de AFP sérica son los TTCG no seminomatosos (sobre todo tumor vitelino) y el hepatocarcinoma. Existen también una serie de adenocarcinomas denominados hepatoides, que pueden localizarse en pulmón, estómago, riñón y páncreas, y que cursan con secreción importante de este marcador¹²⁴. Del mismo modo, las metástasis hepáticas de tumores del tracto digestivo pueden producir elevaciones discretas de AFP¹²⁰.

Se encuentra elevada esta proteína en el 50-70 % de pacientes con tumor no seminomatoso^{28,80}, existiendo una fuerte correlación entre la elevación de AFP sérica y la presencia de componente vitelino en el tumor germinal. No es producida por coriocarcinoma ni seminoma, si bien en relación a este último, algunos autores defienden la existencia de seminomas puros productores de AFP siendo su interpretación controvertida¹²⁵. Sin embargo, la opinión más consensuada por la mayoría de autores, es considerar al seminoma con AFP sérica elevada, como un tumor germinal mixto, ya que habrá áreas de tumor vitelino que habrán pasado desapercibidas en el estudio histológico^{17,120,126,127}.

Cadena β de la Gonadotropina Coriónica Humana (β hCG).

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glicoproteína secretada por las células del sincitiotrofoblasto de la placenta humana. Comparte con las hormonas pituitarias, hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH) y hormona tireotropa (TSH), una estructura cuaternaria con dos subunidades diferentes: las cadenas alfa y beta. Las subunidades alfa de estas hormonas son esencialmente iguales y pueden interferir en las determinaciones de hCG, mientras

que las subunidades beta difieren entre ellas, por lo que la determinación de la cadena beta de la hCG (β hCG) raramente reacciona de forma cruzada con las hormonas pituitarias.

La β hCG tiene un peso molecular de 45.000 daltons¹²⁸, con un valor sérico inferior o igual a 2 UI/L y una vida media de 2-3 días^{80,123}.

La β hCG es producida por la placenta durante la gestación, con el fin de mantener la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo en las fases iniciales del embarazo. A diferencia de la AFP, son escasos los procesos benignos capaces de producir aumento de la β hCG, si bien puede elevarse en la enfermedad inflamatoria intestinal, cirrosis hepática y en la adicción a la marihuana¹²⁰.

Dentro de los procesos neoplásicos productores de β HCG se encuentran los tumores trofoblásticos y los TTCG, fundamentalmente los tumores no seminomatosos. Se halla elevado este marcador en un 40-60 % de los TTCG, estando en el coriocarcinoma siempre elevado y en un 15-30 % de los seminomas^{21,28,80,118,129}. Puede aparecer elevado igualmente en el carcinoma embrionario y teratoma, pero raramente en caso de tumor vitelino^{120,130}. En menor medida, también puede encontrarse elevado en casos aislados de carcinoma indiferenciado de vejiga, páncreas, pulmón, mama y estómago^{131,132}. En pacientes afectados de tumores germinales con niveles muy elevados de β hCG, puede producirse hipertiroidismo¹³³ y ginecomastia⁸² por reactividad cruzada con la TSH y LH respectivamente.

Lactato Deshidrogenasa (LDH).

Este enzima ha sido utilizado como marcador en estos tumores desde hace tiempo, pero su falta de especificidad ha hecho que su uso sea menos estandarizado que el de los marcadores previamente descritos. Su elevación parece relacionarse con el volumen tumoral y la existencia de enfermedad avanzada^{30,134}.

La LDH es un enzima del metabolismo glucolítico que se presenta en varias isoformas, de las que la LDH-1, es la hallada con más frecuencia^{135,136}. Los valores de referencia en suero son de 240-480 UI/L.

Como se ha comentado anteriormente, la elevación de LDH es bastante inespecífica y se ha documentado en una gran variedad de condiciones benignas y en diferentes cánceres incluyendo el hepático, linfomas no-Hodgkin, leucemia aguda, TTCG no seminomatosos y seminomatosos, neuroblastomas y otros carcinomas como mama, colon y pulmón. A pesar de esta inespecificidad, al guardar relación con la masa tumoral y ser considerada por algunos autores como un factor pronóstico independiente¹³⁷, es por lo que es recomendable utilizarla en los TTCG sobre todo en seminomas. Actualmente se incluye su determinación junto con los otros dos marcadores en la clasificación pronóstica propuesta por el IGCCCG¹¹⁹.

2.5. ESTADIAJE.

Desde 1960 se han ido postulando diferentes sistemas de estadificación clínica sin gran aceptación, hasta que en 1979 se estableció por el Hospital Royal Marsden de Londres¹³⁸ un sistema de estadificación cuya vigencia aún se mantiene. Según esta clasificación se distinguían cuatro estadios en los tumores testiculares:

- Estadio I: afectación testicular sólo. No evidencia de metástasis.
- Estadio II: afectación ganglionar infradiafragmática.
 - IIA: diámetro máximo de 2 cm.
 - IIB: diámetro entre 2-5 cm.
 - IIC: diámetro superior a 5 cm.
- Estadio III: afectación ganglionar supra e infradiafragmática. No existe evidencia de metástasis extralinfáticas.
 - A, B y C como en estadio II.

- Estadio IV: metástasis extralinfáticas.
Enfermedad abdominal: 0 no ganglios. A, B y C igual que II.
Metástasis pulmonares: L1 menos de 3 y menores de 2 cm.
L2 más de 3 y menores de 2 cm.
L3 mayor de 2 cm.

Con el deseo de disponer de una única clasificación estándar y que reflejara los hallazgos patológicos, surgió en 1997 una nueva estadificación para los TTCCG, el sistema de estadiaje TNM propuesto por el American Join Comitté on Cancer (AJCC) y la Internacional Union Against Cancer (UICC)¹³⁹. Se presenta en este trabajo la sexta edición de la clasificación TNM.

CLASIFICACIÓN TNM 2002¹⁴⁰.

El estadiaje se basa en la determinación de la extensión anatómica de la enfermedad y la comprobación de los marcadores séricos tumorales. Los procedimientos para valorar las categorías N, M y S son:

Categorías N Exploración física y técnicas de imagen.

Categorías M Exploración física, técnicas de imagen y test bioquímicos.

Categorías S Marcadores tumorales séricos.

Los estadios se subdividen según la presencia y el grado de elevación de los marcadores tumorales séricos.

Ganglios linfáticos regionales.

Los ganglios linfáticos regionales son los ganglios paraaórticos abdominales (periaórticos), preaórticos, interaortocava, precavos, paracavos, retrocavos y retroaórticos. Los ganglios a lo largo de la vena espermática deben considerarse regionales. La lateralidad no afecta a la Clasificación N. Los ganglios intrapélvicos y los inguinales se consideran regionales después de la cirugía escrotal o inguinal.

Clasificación clínica TNM.

T - Tumor primario.

Excepto para pTis y pT4, en los que la orquiectomía radical no siempre es necesaria para la clasificación, la extensión del tumor primario se clasifica después de orquiectomía radical; véase pT. En otras circunstancias, se utiliza TX si no se ha llevado a cabo la orquiectomía radical.

N - Ganglios linfáticos regionales.

- NX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales .
- N0 No hay metástasis ganglionares regionales.
- N1 Metástasis en una masa ganglionar linfática de diámetro máximo menor o igual a 2 cm o en múltiples ganglios linfáticos, ninguno de más de 2 cm de diámetro máximo.
- N2 Metástasis en una masa ganglionar linfática de diámetro máximo mayor de 2 cm pero menor o igual a 5 cm, o en múltiples ganglios linfáticos, cualquiera de ellos mayor de 2 cm pero menor de 5 cm de diámetro máximo.
- N3 Metástasis en una masa ganglionar linfática de diámetro máximo mayor de 5 cm.

M - Metástasis a distancia.

- MX No se pueden evaluar las metástasis a distancia.
- M0 No hay metástasis a distancia.
- MI Metástasis a distancia.
- Mla: Ganglios no regionales o metástasis pulmonar.
- Mlb: Otras localizaciones.

Clasificación anatomopatológica pTNM.

pT - Tumor primario.

pTX No se puede evaluar el tumor primario.

pT0 No hay evidencias de tumor primario.

pTis Neoplasia intratubular de células germinales (carcinoma in situ).

pT1 Tumor limitado al testículo y epidídimo sin invasión vascular/linfática; el tumor puede invadir la túnica albugínea, pero no la túnica vaginal.

pT2 Tumor limitado al testículo y epidídimo con invasión vascular/linfática, o que se extiende más allá de la túnica albugínea con afectación de la túnica vaginal.

pT3 Tumor que invade el cordón espermático, con o sin invasión vascular/linfática.

pT4 Tumor que invade el escroto, con o sin invasión vascular/linfática.

pN - Ganglios linfáticos regionales.

pNX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

pN0 No hay metástasis ganglionares regionales.

pN1 Metástasis con una masa linfática ganglionar de diámetro máximo menor o igual a 2 cm y 5 o menos ganglios linfáticos positivos, ninguno de más de 2 cm de diámetro máximo.

pN2 Metástasis con una masa linfática ganglionar de diámetro máximo mayor de 2 cm, pero menor o igual a 5 cm; o más de 5 ganglios positivos, ninguno mayor de 5 cm; o evidencia de extensión extranodal del tumor.

pN3 Metástasis una masa linfática ganglionar de diámetro máximo mayor de 5 cm.

pM - Metástasis a distancia.

La categoría pM corresponde a la categoría M.

S - Marcadores tumorales séricos.

SX Marcadores séricos no disponibles o no determinados.

S0 Niveles de marcadores séricos dentro de los límites normales.

	<u>LDH</u>	<u>hCG (mIU/ml)</u>	<u>AFP (ng/ml)</u>
S1	< 1,5 x N y	< 5.000 y	< 1.000
S2	1,5-10 x N o	5.000-50.000 o	1.000-10.000
S3	> 10 x N o	> 50.000 o	> 10.000

N indica el límite normal superior de LDH

Agrupación por estadios:

Estadio	T	N	M	S
Estadio 0	Tis	N0	M0	S0,SX
Estadio 1A	T1	N0	M0	S0
Estadio 1B	T2-T4	N0	M0	S0
Estadio IS	Cualquier T	N0	M0	S1-S3
Estadio IIA	Cualquier T	N1	M0	S0-1
Estadio IIB	Cualquier T	N2	M0	S0-1
Estadio IIC	Cualquier T	N3	M0	S0-1
Estadio IIIA	Cualquier T	Cualquier N	M1a	S0-1
Estadio IIIB	Cualquier T	N1-N3	M0	S2
	Cualquier T	Cualquier N	M1a	S2
Estadio IIIC	Cualquier T	N1-3	M0	S3
	Cualquier T	Cualquier N	M1a	S3
	Cualquier T	Cualquier N	M1b	Cualquier S

2.6. TRATAMIENTO.

A pesar del incremento actual en la incidencia de los TTCG, la mortalidad por esta causa ha descendido en los últimos años, debido fundamentalmente a la efectividad de los protocolos quimioterápicos. La llegada del cisplatino en los años 80, cambió drásticamente el pronóstico de estas neoplasias. De una mortalidad en 1970 superior al 50 % se ha pasado en la actualidad a cifras inferiores al 10 %^{141,142}. Al avance terapéutico en estos tumores, ha contribuido también un mejor conocimiento anatómico y un perfeccionamiento de la técnica quirúrgica. Se ha llegado a afirmar por estos motivos, que estos tumores son el paradigma del tratamiento multimodal de las neoplasias malignas^{143,144}, habiéndose desarrollado protocolos terapéuticos y de seguimiento reconocidos internacionalmente^{145,146}.

Actualmente el debate se centra fundamentalmente en tumores en estadio I, es decir, localizados al testículo, donde las posibilidades de tratamiento son variadas y donde la opción de la simple observación tras orquiectomía está aún por clarificar. Un mejor conocimiento de los factores pronósticos histológicos y séricos, ha permitido seleccionar un número significativo de pacientes con tumores localizados en los que el riesgo de recidiva retroperitoneal es muy bajo. En estos pacientes, hay grupos que tienen la tendencia actual a la simple observación tras la orquiectomía radical. De esta manera se evitaría el sobretratamiento en muchos casos y las posibles complicaciones derivadas de los tratamientos complementarios. Dado que los pacientes incluidos en los programas de observación deben seguir un control riguroso, es fundamental en estos casos, realizar una selección cuidadosa de los pacientes.

2.6.1. CONSIDERACIONES PREVIAS.

- CIRUGÍA.

La cirugía de los TTCG comprende tres procedimientos en función del estadio tumoral y del momento evolutivo de la enfermedad. Estas tres variantes están

constituidas por la orquiectomía radical, la linfadenectomía retroperitoneal primaria y la cirugía de la masa residual:

a) Orquiectomía radical inguinal.

Constituye el primer paso en el tratamiento de los pacientes diagnosticados de un TTCG. La vía de abordaje debe realizarse siempre por vía inguinal ya que la vía transescrotal se ha asociado a un mayor número de recidivas locales y metástasis en el sistema linfático inguinal.

En algunos casos muy seleccionados está justificada la realización de una orquiectomía parcial, fundamentalmente en pacientes con un solo testículo o tumor bilateral¹⁴⁷. El tamaño de la lesión debe ser inferior a 2 cm y los márgenes quirúrgicos han de estar libres de neoplasia¹⁴⁸⁻¹⁵⁰.

a) Linfadenectomía retroperitoneal (LDRP).

El abordaje del retroperitoneo en el tratamiento de estos tumores comenzó a realizarse hace años, coincidiendo con el conocimiento anatómico de la zona⁷⁸. Con el paso del tiempo, la LDRP ha experimentado numerosos cambios en su técnica quirúrgica, fundamentalmente en lo que se refiere a los límites de la resección ganglionar así como en sus indicaciones.

En la década de los sesenta y tras los estudios con linfografía podálica, testicular y funicular, se recomendó la mayor radicalidad posible en la intervención ya que se consideraba como la única posibilidad de curación, diseñándose verdaderos mapas de diseminación metastásica. La LDRP clásica conllevaba la resección de todo el tejido ganglionar comprendido entre los pilares del diafragma, los dos uréteres y la bifurcación de las arterias ilíacas, interna y externa. El problema, es que se trataba de una cirugía mayor con una morbilidad asociada importante y donde la pérdida de eyaculación se producía en la práctica totalidad de los casos¹⁵¹. Dado que se trataba

mayoritariamente de pacientes jóvenes, era evidente la preocupación que originaba esta complicación. Es por esto, por lo que actualmente gracias a un mejor conocimiento de la neuroanatomía de la eyaculación, se ha podido desarrollar la LDRP con preservación de los nervios simpáticos, que consigue conservar la función eyaculatoria en más del 95 % de los casos¹⁵².

Los defensores de esta estrategia terapéutica argumentan que a pesar de las técnicas radiológicas (TC), existirá alrededor de un 30 % de pacientes infraestadiados en estadio I¹⁵³. Además, tras la realización de esta técnica la recurrencia retroperitoneal es extremadamente rara por lo que el protocolo de seguimiento no es tan exigente. A estas ventajas se añade el hecho de la incorporación de la cirugía laparoscópica en el abordaje del retroperitoneo en estos tumores, lo que ha disminuido notablemente la morbilidad asociada a la cirugía abierta¹⁵⁴. Por estas razones, hay escuelas fundamentalmente la americana, que defienden la LDRP como tratamiento de elección en tumores no seminomatosos en estadio I^{141,155}.

b) Cirugía de masas residuales.

En las últimas décadas se ha abandonado el concepto de cirugía citorreductora en el tratamiento del cáncer testicular, para convertirse en un tratamiento adyuvante tras la administración de quimioterapia. Esto se debe fundamentalmente a la existencia de eficaces protocolos quimioterápicos. El concepto de masa residual viene definido como la presencia de adenopatías retroperitoneales tras quimioterapia y con marcadores séricos negativos.

Existen dos grupos de pacientes subsidiarios de ser sometidos a una cirugía de la masa residual. Por un lado están aquellos enfermos en los que se observa una remisión parcial tras una quimioterapia de primera línea, y por otro, aquellos pacientes que recidivaron tras una remisión completa con quimioterapia de primera línea y tras una quimioterapia de rescate, se consigue una remisión parcial.

Los hallazgos histopatológicos de la masa residual pueden ser de tres tipos: necrosis/fibrosis, teratoma maduro y tumor germinal viable. Clásicamente se ha determinado su proporción en un tercio, si bien actualmente gracias a la eficacia de la quimioterapia, la proporción de necrosis/fibrosis ha aumentado¹⁵⁶. Dadas estas posibilidades, y dado que no hay forma de predecir la histología de la masa residual previa a la cirugía, se plantea la controversia sobre qué pacientes con masas residuales requieren tratamiento quirúrgico. En el caso de los seminomas, la quimioterapia produce fibrosis en la mayor parte de los pacientes, y además, se han descrito remisiones de masas hasta 1 y 3 años después de finalizar la quimioterapia. Por otro lado, la presencia de células tumorales viables es variable según las series, aunque parece guardar relación con el tamaño tumoral¹⁴¹. De tal manera que actualmente, parece existir cierto consenso en que aquellas masas retroperitoneales mayores de 3 cm tras quimioterapia en seminoma, deberían ser resecadas quirúrgicamente^{80,157}. Con respecto a los tumores no seminomatosos, la mayor parte de los centros están de acuerdo en que deben intervenirse todas las masas residuales (>1-1,5 cm)^{80,158}. Con respecto a la cirugía, el abordaje laparoscópico no se recomienda como estándar por su elevada morbilidad y alta tasa de reconversión a cirugía abierta.

- QUIMIOTERAPIA.

La quimioterapia basada en compuestos de platino ha sido fundamental para el éxito en el tratamiento de estos tumores, siendo diferentes los esquemas utilizados. Actualmente, los esfuerzos van encaminados a reducir la toxicidad derivada de estas modalidades terapéuticas.

En relación a la fertilidad, se ha de comentar que la quimioterapia tiene efectos agudos tanto en la espermatogénesis como en la función de las células de Leydig, de tal manera, que la mayoría de pacientes presentarán azoospermia durante los primeros doce meses tras completar el tratamiento. Las posibilidades de recuperación son variables, por lo que alrededor de un 25 % de pacientes tratados con QT estándar

permanecerán azoospermicos de forma irreversible¹⁵⁹⁻¹⁶¹. Por ello, se aconseja la criopreservación de semen previa a la terapia sistémica, para posteriormente emplear técnicas de fertilización in vitro. Muchos pacientes sin embargo recuperan la fertilidad y pueden procrear sin que se haya encontrado un incremento en la frecuencia de malformaciones en la descendencia¹⁶². Se han descrito varios factores que parecen reducir la probabilidad de recuperación de la espermatogénesis, incluyendo edad superior a 30 años, duración del tratamiento superior a 6 meses y radioterapia abdominal previa.

- NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS.

En los últimos años se ha producido un avance significativo en el conocimiento del perfil molecular de las diferentes neoplasias, lo cual ha conducido a la identificación de factores con valor pronóstico o predictivo y a generar posibles dianas moleculares susceptibles de un tratamiento dirigido. Todo ello está conduciendo al desarrollo de nuevos fármacos que actuarían de forma selectiva en función de la presencia de determinadas alteraciones moleculares, y que irían dirigidos a aquellos pacientes con TTCG que no respondieran a los tratamientos actualmente disponibles. Las líneas de investigación se centran fundamentalmente en los receptores tirosina-quinasa EGFR y en la sobreexpresión del protooncogén c-kit¹⁶³.

2.6.2. SEMINOMAS.

Suelen ser tumores menos agresivos que los tumores no seminomatosos y van a debutar en un estadio más bajo que estos, diagnosticándose en un 80 % de los casos en estadio I¹⁶⁴. Este es el motivo por el que en líneas generales, los seminomas tienen un mejor pronóstico que los tumores no seminomatosos.

Al ser tumores muy radiosensibles, la radioterapia (RT) de los ganglios paraaórticos e inguinales ipsilaterales con dosis de 20-24 Gy, ha sido tradicionalmente el tratamiento estándar para seminomas en estadio I con cifras muy

altas de supervivencia^{165,166}. Posteriormente se optó sólo por la radiación de las cadenas paraórticas^{167,168}, si bien algunos autores defienden continuar aún con la radiación de las cadenas ganglionares inguinales por el riesgo de recidiva a este nivel¹⁶⁹. Pese a ser un tratamiento muy eficaz, hoy día la RT está siendo desplazada por la quimioterapia como primera opción de tratamiento.

Como se ha comentado anteriormente, alrededor del 80 % de los casos se diagnostican localizados en el testículo (estadio I) y la probabilidad de recurrencia tardía en este estadio se cifra en un 15-20 %¹⁶⁴. De estos que recidivan, sobrevivirán la mayoría gracias a la buena respuesta a la quimioterapia. Se plantea entonces la posibilidad de que la orquiectomía por si sola, podría ser suficiente para controlar la enfermedad. Si a esto se une la morbilidad asociada a la RT en forma de efectos gastrointestinales y fundamentalmente el incremento en la incidencia de neoplasias secundarias en otras localizaciones (gastrointestinal, vesical)¹⁷⁰⁻¹⁷², se comprenderá la razón por la que se han planteado nuevas actitudes terapéuticas. Por este motivo, se han intentado establecer factores de riesgo histológicos de enfermedad metastásica oculta en tumores en estadio I que marquen la estrategia a seguir. Actualmente lo más consensuado es identificar el tamaño tumoral elevado (> 4 cm) y la infiltración de la rete testis como factores de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal^{80,164,173}. En pacientes con seminoma en estadio I sin factores de mal pronóstico histológicos, la actitud a seguir no está claramente establecida, si bien son cada vez más los autores que defienden la simple observación tras orquiectomía radical^{80,174,175}. En caso de factores histológicos de mal pronóstico, mientras que hay autores que siguen defendiendo la radiación sistemática de las cadenas ganglionares retroperitoneales^{176,177}, el criterio más extendido actualmente es administrar QT (1 ó 2 ciclos de carboplatino)^{164,174,178-182}. La LDRP no se recomienda en caso de seminoma por la alta incidencia de recidiva (9.5 %)¹⁸³.

En caso de estadios más avanzados el tratamiento indicado es la RT (30-36 Gy) o QT (bleomicina, etopósido y cisplatino: BEP x 3) para estadio II y la QT (BEP x 4) para estadio III^{80,184-186}.

2.6.3. NO SEMINOMAS.

Los tumores no seminomatosos suelen tener un comportamiento más agresivo que los seminomas y van a debutar en un estadio más avanzado. Son tumores menos radiosensibles, con lo cual la RT es de menor utilidad. Por este motivo, su pronóstico cambió drásticamente con la llegada del cisplatino en los años 80.

Las dos principales opciones de tratamiento tras la orquiectomía para tumores en estadio I, son la QT (bleomicina, etopósido y cisplatino: BEP x 2) y la LDRP¹⁸⁷⁻¹⁸⁹. La QT es la opción de tratamiento más establecida en la mayoría de países europeos^{141,188}, si bien la escuela americana es más partidaria de realizar LDRP sistemática^{141,155,189,190}. Al igual que ocurría con los seminomas en caso de estadio I, se ha intentado establecer una serie de factores histológicos de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal, entre los que destacan la infiltración linfovascular y el porcentaje de carcinoma embrionario encontrado (> 50 %)^{80,191}. En ausencia de estos factores histológicos de mal pronóstico, hay autores que defienden en casos seleccionados, la actitud expectante¹⁹²⁻¹⁹⁴ tras orquiectomía, ya que sólo recidivarán alrededor del 30 % y de estos, sobrevivirán el 95 % gracias a la buena respuesta a la QT. En estadios más avanzados, el tratamiento es la QT (diferentes esquemas quimioterápicos)^{80,187,188}.

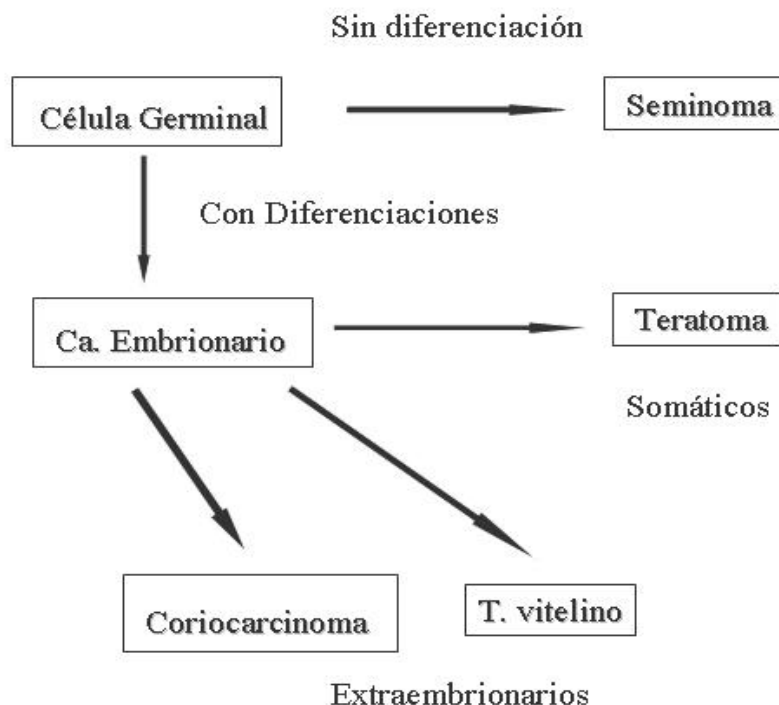
3. HISTOGÉNESIS Y CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINALES.

3.1. HISTOGÉNESIS CLÁSICA.

La histogénesis de los TTCG ha sido un tema de enorme interés dentro del cáncer testicular, ya que en base a esta, se han ido realizando las diferentes clasificaciones de estos tumores. Son varias las teorías histogenéticas establecidas a lo largo de la historia, de las cuales, la de mayor aceptación hasta el final de la

década de los años 80 fue la propuesta por Dixon y Moore en 1952¹⁹⁵ (figura 7). Según esta hipótesis, los TCG se originaban de la célula germinal, creando por un lado el seminoma, que era considerado una vía muerta incapaz de una futura diferenciación, y por otro lado el carcinoma embrionario, el cual sí era capaz de presentar futuras diferenciaciones. Las diferenciaciones somáticas darían lugar al teratoma, mientras que las extraembrionarias originarían el coriocarcinoma y el tumor vitelino. Había pues dos grupos tumorales bien diferenciados e independientes que sólo tenían como nexo de unión su origen en la célula germinal. En la vía hacia seminoma, éste era el único tipo tumoral que se originaba ya que no podía evolucionar hacia otras formas tumorales. Por el contrario, el carcinoma embrionario sí podía diferenciarse hacia teratoma, tumor vitelino o coriocarcinoma. Esta teoría histogénética ha sido la que ha gozado de mayor aceptación y es la hallada con mayor frecuencia en los textos de referencia.

Figura 7. Hipótesis histogénética: Dixon y Moore (1952)¹⁹⁵



Esta hipótesis histogenética ha sido la base para establecer las clasificaciones de los TTTCG, especialmente la propuesta por Mostofi y Price en 1973¹⁹⁶, que con leves cambios aceptó la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1977¹⁹⁷ y en vigencia hasta hace unos años:

A) Tumores de un tipo histológico.

1. Seminoma.
2. Seminoma espermatocítico.
3. Carcinoma embrionario.
4. Tumor vitelino (sinonimias: carcinoma embrionario tipo infantil, tumor de seno endodérmico).
5. Poliembrioma.
6. Coriocarcinoma.
7. Teratoma.
 - Maduro.
 - Inmaduro.
 - Con transformación maligna.

B) Tumores de más de un tipo histológico.

1. Carcinoma embrionario y teratoma (teratocarcinoma).
2. Coriocarcinoma asociado a cualquier tipo histológico.
3. Otras combinaciones (especificando tipo).

En Europa sin embargo, la clasificación americana (OMS) no fue muy utilizada, de tal manera que en el año 1964, se organizó por el eminente uropatólogo R.C.B. Pugh, el Panel de Tumores Testiculares Británico¹⁹⁸. Este panel consideraba solamente dos categorías: seminoma y teratoma con distintas variedades. Esta Clasificación del Panel Británico tenía los inconvenientes de ser compleja, no considerar al tumor vitelino como una entidad ni contemplaba claramente la mezcla

de tipos. A pesar de estas diferencias, ambas clasificaciones la de la OMS y el Panel Británico a grandes rasgos se correspondían:

<u>Panel Británico</u>	<u>OMS</u>
Seminoma.....	Seminoma
Seminoma espermatocítico.....	Seminoma espermatocítico
Teratoma maligno indiferenciado (MTU).....	Carcinoma embrionario
Teratoma maligno intermedio (MTIA).....	Teratocarcinoma
Teratoma diferenciado (TD).....	Teratoma maduro e inmaduro
Teratoma maligno trofoblástico (MTT).....	Coriocarcinoma

La teoría histogenética de Dixon y Moore¹⁹⁵ pese a ser la más aceptada, no estaba exenta de crítica, ya que existían hallazgos que no se explicaban con esta hipótesis así como nuevas aportaciones que la cuestionaban. Dichas controversias en relación a esta vieja teoría histogenética se enumeran a continuación:

1. La existencia de tumores germinales mixtos con componente seminomatoso¹⁹⁷ era difícil de interpretar con esta teoría.
2. La observación de metástasis no seminomatosas en las autopsias de pacientes diagnosticados de seminoma, hacia pensar en la posible diferenciación del seminoma hacia otros tipos de TTCG^{199,200}.
3. El análisis de la ploidía en los TTCG, ha mostrado un contenido mayor de DNA en seminomas que en tumores no seminomatosos, sugiriendo la idea de que el carcinoma embrionario podría evolucionar del seminoma por pérdida de material genético²⁰¹⁻²⁰³.
4. La aportación por algunos autores de la existencia de seminomas puros con elevación sérica de AFP no encontraba explicación con esta teoría¹²⁵.

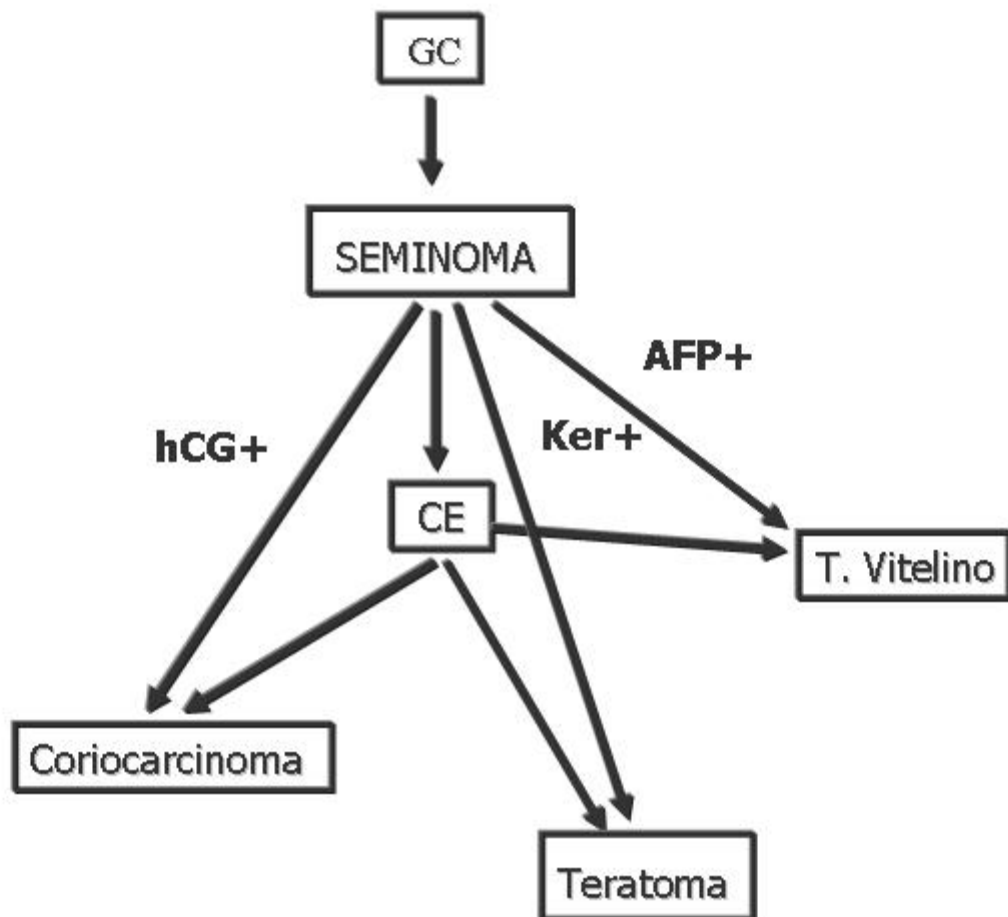
5. La presencia de células sincitiotrofoblasticas, la inmunotinción con β hCG y la elevación sérica de la β hCG en seminomas^{204,205}, eran cuestiones que tampoco encontraban explicación con esta teoría.
6. La expresión en el seminoma de marcadores de diferenciación epitelial, vitelina o trofoblástica, era interpretado por diversos autores como la posibilidad de una evolución futura hacia otros tumores testiculares germinales^{125,206,207}.
7. La detección mediante estudios ultraestructurales de casos de seminoma con diferenciación epitelial²⁰⁸ o con evolución focal hacia tumor vitelino²⁰⁹, dejaba a esta hipótesis histogénica en difícil situación.

3.2. HISTOGÉNESIS ACTUAL.

Ante esta situación de importante controversia histogénica, el grupo de Anderson (liderados por Srigley)²⁰⁸, reconoce la dificultad en reconciliar tales observaciones con la vieja teoría de la histogénesis de los TTCG y proponen un modelo diferente de evolución de los TTCG: Modelo tetraédrico de la histogénesis de los TTCG (figura 8). En esta nueva hipótesis histogénica se interrelacionan los diferentes tipos histológicos de tumores de células germinales, ahora comprendidos como entidades dinámicas desde un punto de vista madurativo. En este modelo, se determinan las distintas tendencias madurativas de los tipos de tumor germinal en función especialmente de la expresión de distintos marcadores proteicos de diferenciación (citoqueratinas-diferenciación epitelial, AFP-diferenciación hacia endodermo primitivo, hCG-diferenciación hacia trofoblasto). De tal manera, que a partir de la célula germinal se originaría el seminoma, el cual sí tendría capacidad para diferenciarse hacia el resto de tumores testiculares germinales. La mayoría de seminomas se diferenciarían hacia carcinoma embrionario y en menor porcentaje podrían diferenciarse directamente hacia tumor vitelino, teratoma o coriocarcinoma. La expresión de citoqueratinas indicaría posible evolución hacia carcinoma embrionario o teratoma, la expresión de AFP indicaría posible evolución hacia tumor

vitelino y la expresión de hCG hacia coriocarcinoma. Este modelo sí explicaba muchas de las observaciones antes descritas y que eran difíciles de reconocer con los conceptos clásicos.

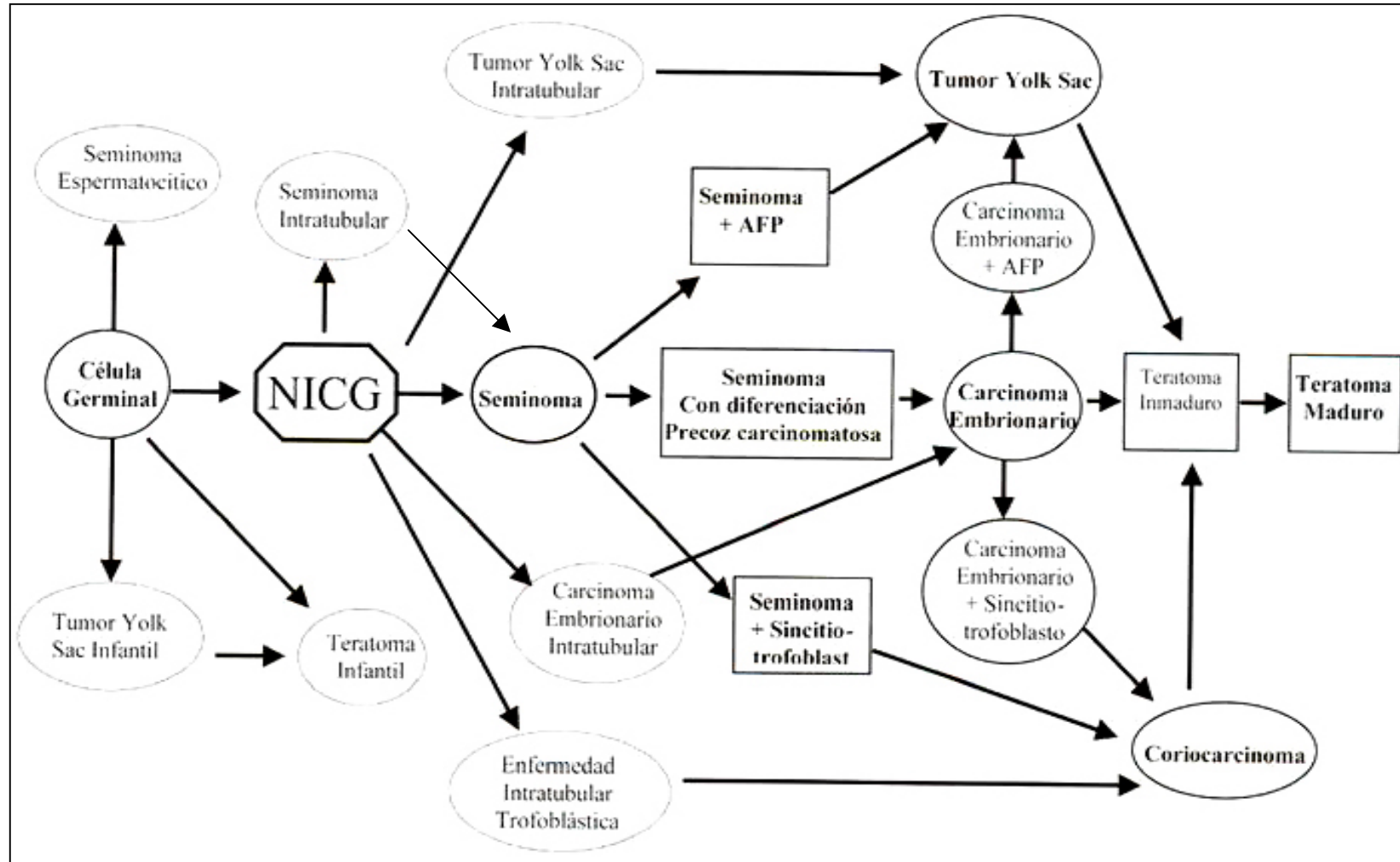
Figura 8. Modelo tetraédrico de la histogénesis de los tumores testiculares de células germinales (Srigley)²⁰⁸.



Una vez replanteada la histogénesis de estos tumores, era importante determinar los diferentes cambios que ocurrían en la célula germinal para desencadenar los TTCG. En este sentido, son varios los autores que han descrito células germinales testiculares anormales a lo largo de los años, si bien es Skakkebaek en 1972²¹⁰ el primero en establecer una relación entre la presencia de células germinales atípicas y el desarrollo posterior de un TTCG. Actualmente, lo más aceptado es denominar a estas células Neoplasia Intratubular de Células Germinales indiferenciada (NICG-i) y considerarla como la lesión precursora de la mayoría de los TTCG²¹¹.

Desde el reconocimiento universal que la NICG-i es la lesión precursora común de la mayoría de los TTCG, era necesaria la modificación del Modelo Tetraédrico para incorporar el concepto de NICG-i. De esta forma, Ulbright²¹² presenta un complejísimo esquema de patogénesis de estos tumores a partir de la NICG-i (figura 9) que parece ser el de mayor aceptación actualmente^{213,214}. La NICG-i sería la lesión transitiva entre la célula germinal y el seminoma, aunque podría ser capaz de realizar raras transformaciones tumorales directas. La mayoría de los TTCG derivarían de la NICG-i salvo seminoma espermatocítico y tumor vitelino y teratoma en la infancia. A partir de esta NICG-i se originaría la mayoría de las veces el seminoma, el cual podrá presentar diferenciaciones hacia el resto de tumores testiculares germinales. Seminomas con expresión de AFP, podrían evolucionar hacia tumor vitelino; seminomas con características epiteliales, podrían evolucionar hacia carcinoma embrionario o teratoma; y seminomas con diferenciación focal a células sincitiotrofoblásticas, capaces de secretar hCG, tendrían la capacidad de diferenciación hacia coriocarcinoma. En otras ocasiones, de la NICG-i se formará el carcinoma embrionario el cual también tendrá capacidad para diferenciarse hacia otros tipos tumorales. De forma poco frecuente, a partir de la NICG-i se podrían originar formas intratubulares para cada tipo tumoral, que a su vez evolucionarán al tumor correspondiente.

Figura 9. Hipótesis histogenética actual de los TTCG²¹².



En base a esta hipótesis histogenética se estableció una nueva clasificación de los TTCG en 1999: Clasificación de los tumores testiculares de células germinales. AFIP (Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C.)²¹⁵:

1. Lesiones precursoras. Neoplasia intratubular de células germinales: inclasificable, tipo específica.

2. Tumores de un tipo histológico (formas puras).
 - a. Seminoma (variante: seminoma con células de sincitiotrofoblasto).
 - b. Seminoma espermatocítico (variante: seminoma espermatocítico con sarcoma: especificar).
 - c. Carcinoma embrionario.
 - d. Tumor vitelino (seno endodérmico).
 - e. Tumores trofoblásticos.
 - i. Coriocarcinoma.
 - ii. Tumor del lecho placentario.
 - f. Teratoma.
 - i. Teratoma maduro (variante: quiste dermoide).
 - ii. Teratoma inmaduro.
 - iii. Teratoma con áreas malignas: especificar.
 - iv. Variantes monodérmicas: carcinoide, tumor neuroectodérmico primitivo, otros.

3. Tumores de más de un tipo histológico (formas mixtas).
 - a. Tumor mixto de células germinales: especificar componentes y porcentaje.
 - b. Poliembrioma.
 - c. Embrioma difuso.

4. Regresión de los tumores de células germinales: tumores “cicatriz”.

Posteriormente en el año 2004, la OMS ha establecido la Clasificación actual de los TTCCG²⁸:

1. Neoplasia intratubular de células germinales inclasificable y otros tipos.
2. Tumores de un tipo histológico (formas puras).
 - a. Seminoma (variante: seminoma con células de sincitiotrofoblasto).
 - b. Seminoma espermatocítico (variante: seminoma espermatocítico con sarcoma).
 - c. Carcinoma embrionario.
 - d. Tumor vitelino.
 - e. Tumores trofoblásticos.
 - i. Coriocarcinoma.
 - ii. Otras neoplasias trofoblásticas: coriocarcinoma monofásico y tumor del lecho placentario.
 - f. Teratoma.
 - i. Quiste dermoide.
 - ii. Teratoma monodérmico: tumor neuroectodérmico primitivo, quiste epidérmico.
 - iii. Teratoma con componente maligno secundario.
3. Tumores de más de un tipo histológico (formas mixtas)
 - a. Carcinoma embrionario y teratoma.
 - b. Teratoma y seminoma.
 - c. Coriocarcinoma y teratoma/carcinoma embrionario.
 - d. Otros.

En Europa, la EAU (European Association of Urology) en sus guías de cáncer testicular del año 2005⁸¹, establece una Clasificación de los TTCCG modificada de la anterior:

1. Neoplasia intratubular de células germinales.
2. Seminoma (variante con sincitiotrofoblasto).
3. Seminoma espermatocítico (variante con sarcoma).
4. Carcinoma embrionario.
5. Tumor vitelino.
6. Teratoma (maduro, inmaduro, con componente maligno)
7. Coriocarcinoma.
8. Tumor con más de un tipo histológico (especificando componentes y % de estos).

Los cambios realizados desde el punto de vista clasificatorio, se comentarán al hablar de los tipos histológicos.

3.3. TIPOS HISTOLÓGICOS.

3.3.1. LESIONES PRECURSORAS: NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINALES INDIFERENCIADA (NICG-i).

Durante años, se han reconocido células germinales anormales dentro de los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores testiculares de células germinales, pero sin realizar una interpretación y valoración de estos hallazgos²¹⁶. Es Skakkebaek en 1972²¹⁰, quién estableció una relación directa entre estas células germinales atípicas en el interior de los túbulos seminíferos y el desarrollo posterior de un TTCCG. Acuñó el término de carcinoma in situ (CIS) para denominar a esta lesión, si bien este término no resultaba totalmente correcto ya que estas células no eran de naturaleza epitelial. Por este motivo, fueron apareciendo nuevas denominaciones sin una clara aceptación, hasta que en 1980 un comité de expertos²¹⁷, propuso denominarla como Neoplasia Intratubular de Células Germinales indiferenciada (NICG-i). A pesar de

esto, el término de CIS está ampliamente extendido en la literatura médica por el gran número de aportaciones científicas realizadas por Skakkebaek al respecto.

Actualmente está consensuado que la NICG-i es la lesión precursora de la mayoría de los tipos de TTCG^{28,80,215,218-221}. No se asocia esta lesión al seminoma espermatocítico²²², ni clásicamente se ha considerado relacionada con los teratomas y tumores vitelinos en pacientes prepuberales^{223,224}, si bien en relación a estos últimos, ha existido cierta controversia²²⁵. El carácter precursor de esta lesión es algo ampliamente admitido, ahora bien, los mecanismos íntimos por los que se produce el paso de NICG-i a tumor invasivo no son bien conocidos actualmente²²⁰.

Las razones para atribuir a la NICG-i un papel precursor de los TTCG se fundamentan en los siguientes datos:

- La experiencia clínica indica que el hallazgo de estas lesiones supone un riesgo elevado de desarrollo de TTCG. El 50 % de los casos progresarán a TTCG invasivos a los 5 años y alrededor del 90 % en 7 años^{28,220,226}.
- Su prevalencia en la población general coincide con el riesgo desarrollar un TTCG²⁸, así como, su prevalencia en el teste contralateral al tumoral es similar al riesgo de presentar un tumor bilateral^{28,221}.
- Esta lesión se encuentra presente en el tejido testicular adyacente al TTCG en la mayoría de los casos^{28,211,220,221,227-230}.
- La NICG-i es hallada a menudo en patologías que pueden predisponer hacia un TTCG (criptorquidia, estados intersexuales, infertilidad)^{211, 220}.
- Similitudes entre las anomalías citogenéticas halladas entre NICG-i y los tumores testiculares germinales apoyan su papel precursor^{231,232}.

- Las características citológicas de la NICG-i son muy similares al seminoma, con la ausencia de filamentos intermedios, falta de desmosomas maduros y la presencia de partículas de glucógeno²¹¹.
- La NICG-i tiene un comportamiento inmunohistoquímico muy similar a seminoma y carcinoma embrionario²³³⁻²³⁵.

Actualmente, la mayoría de autores defienden la teoría de que la NICG-i se originaría a partir de las células germinales primordiales y no de las células germinales del testículo adulto, debido a desórdenes en el desarrollo fetal del testículo^{28,46-48,236}. La NICG-i se originaría durante la vida fetal, y sería tras la pubertad, cuando se pondrían en marcha los mecanismos responsables de la evolución hacia un tumor invasivo.

Epidemiología.

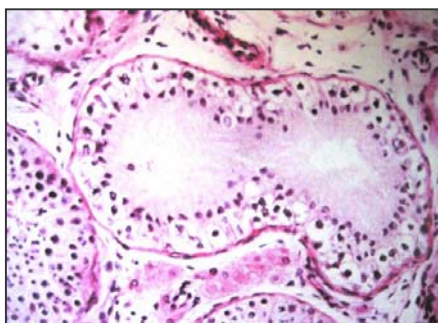
La presentación de la NICG-i en la población sana del norte de Europa es muy próxima a la de los TTCG, es decir cercana al 1 %^{28,221,227,237}. En el teste contralateral al afecto por el tumor las cifras varían dependiendo del área geográfica. En España se aportan cifras entorno al 1 %^{238,239}, mientras que en países como Alemania o Dinamarca se publican cifras alrededor del 5 %^{240,241}.

Está presente en el 2-4 % de criptorquidias, en el 1 % de pacientes biopsiados por infertilidad oligospermica^{30,211,230} y es descrita hasta en un 6 % de niños con estado intersexual²⁴². Como se ha comentado anteriormente, la NICG-i es detectada en el parénquima testicular adyacente al TTCG en más del 80 % de los casos^{28,211,220,221,227-229}. Comparando el parénquima testicular adyacente al tumor en seminomas y no seminomas, parece existir en los primeros una atrofia tubular más severa, peor espermatogénesis y menor frecuencia de NICG-i^{243,244}.

Características morfológicas.

La NICG-i consiste en una proliferación basilar de células parecidas a las del seminoma en los túbulos seminíferos, que suelen mostrar una espermatogénesis disminuida o ausente. En la etapa inicial de la NICG-i, estas células son focales y difíciles de detectar, pero según avanza el proceso van haciéndose cada vez más numerosas. En el interior del túbulo las mitosis van a ser muy frecuentes, de tal forma, que en ocasiones puede ser tal la proliferación de la NICG-i que quede el túbulo totalmente ocupado por estas células. Los túbulos seminíferos afectados de NICG-i se identifican fácilmente por su pequeño tamaño y por la disminución o ausencia de células de la línea germinal²²⁹. En su interior se van a identificar las células de la NICG-i, que se disponen sobre la lámina basal y las células de Sertoli, que van a verse rechazadas hacia la luz tubular. Las células de la NICG-i son de gran tamaño, con un citoplasma rico en glucógeno y con un núcleo que contiene uno o dos nucleolos eosinófilos de gran tamaño²¹⁹.

Figura 10. Túbulo seminífero con NICG-i. Tomado de referencia nº 211.



Por otro lado, hay que comentar que esta lesión no va a afectar a todos los túbulos seminíferos, coexistiendo tubos seminíferos con espermatogénesis normal y otros con NICG-i en el parénquima testicular adyacente al tumor²¹¹.

Las características citológicas de la NICG-i muestra similitudes con el seminoma, no apareciendo filamentos intermedios, ni desmosomas maduros ni células junction y sí una gran cantidad de partículas de glucógeno²¹¹.

Morfológicamente esta lesión suele ser indistinguible independientemente del tipo de TTCG que se encuentre adyacente²⁴⁵. A veces es tal la proliferación de estas células en el interior de los túbulos, que pueden apreciarse estos totalmente ocupados por la NICG-i y con ausencia de las células de Sertoli. En este momento y dependiendo de las características de las células tumorales, se conoce a la lesión como seminoma intratubular o no seminoma intratubular, que serían probablemente estadios intermedios entre la NICG-i y seminoma y no seminoma respectivamente^{243,246}.

La NICG-i puede extenderse en ocasiones a la rete testis, generalmente de forma pagetoide, siendo su significado incierto²⁴⁶.

Marcadores inmunohistoquímicos de NICG-i.

La mayoría de los marcadores inmunohistoquímicos utilizados, tienen utilidad en el diagnóstico mientras que otros se encuentran en fase de investigación.

1. Fosfatasa alcalina placentaria (PLAP).

Es el marcador de mayor utilidad y el utilizado como referencia en esta lesión²⁴⁷⁻²⁵⁰. Se expresa en la membrana citoplasmática con una positividad que varía desde el 83 % hasta el 98 %. Es igualmente un marcador de células germinales primordiales siendo las espermatogonias y espermatocitos negativos para su tinción²⁵¹.

2. CD117.

Es una proteína de superficie que actúa como un receptor para el factor de crecimiento tirosinquinasa (SCF) y que es codificada por el proto-oncogen c-kit^{252,253}. El CD117 se encuentra sobreexpresado en células de la NICG-i^{254,255} y el seminoma²⁵⁶. Se expresa además en células germinales primordiales²⁵⁷ y posteriormente la pérdida de la expresión de c-kit se relaciona con la

desaparición del fenotipo de la célula germinal primordial. La expresión prolongada de c-kit podría ser un indicador de un retraso en la diferenciación de la célula germinal y uno de los mecanismos implicados en la transformación neoplásica de las células germinales^{163,258}.

3. OCT3/4.

Es una proteína producida por el gen POU5F1 que ha sido recientemente descrito²⁵⁹. El OCT3/4 es un factor de transcripción expresado en el embrión y en las células germinales primordiales. Está relacionado con la iniciación, mantenimiento, diferenciación y pluripotencialidad de las células germinales durante el desarrollo normal. Actualmente hay autores que lo consideran un marcador muy sensible y específico para NICG-i, de tal forma que comparado con el PLAP en la NICG-i, observan que el OCT3/4 presenta una mayor intensidad y regularidad en la tinción^{233,260,261}. Este marcador ha sido también descrito en seminoma y carcinoma embrionario^{234,261,262} sugiriendo que son tumores pluripotentes, es decir con capacidad de diferenciación. En el teste normal el OCT3/4 es negativo.

4. Otros marcadores.

Ferritina, glicoproteína M2A y TRA-1-60 son marcadores raramente usados en la práctica clínica²¹¹.

Marcadores moleculares de la NICG-i.

Actualmente no son aún bien conocidas las alteraciones genéticas presentes en la NICG-i así como los mecanismos moleculares implicados. El paso inicial para el desarrollo de la NICG-i parece ser la aneuploidización²⁶³⁻²⁶⁵, acontecimiento acompañado por una inestabilidad cromosómica, resultando posiblemente la progresión a seminoma o tumor no seminomatoso del equilibrio entre genes promotores y supresores contenidos en los cromosomas de dichas células²⁶⁶.

La alteración cromosómica más importante encontrada en las células de la NICG-i está en relación con el cromosoma 12, siendo este un tema controvertido y motivo de numerosas publicaciones a veces con conclusiones contradictorias. La patogénesis de la NICG-i se relacionó en un principio con la adquisición de copias adicionales del brazo corto del cromosoma 12 (i-12p)²⁶⁷. Sin embargo, estudios de series más amplias sugerían posteriormente que esta adquisición del i(12p) podría estar asociada a estadios más avanzados del desarrollo neoplásico²⁶⁸. De tal manera, que estudios recientes mediante FISH (hibridación in situ fluorescente) y CGH (hibridación genómica comparada), han demostrado que las células de la NICG-i no tienen ganancia relativa de 12p²¹¹. La opinión prevalente actual es que la amplificación de material del 12p ocurre después de la transformación invasiva de las células de la NICG-i²⁶⁹, y que las células de la NICG-i en sí mismas no muestran ganancia alguna de 12p^{28,269-272}. Esta ganancia relativa de secuencias de 12p podría ser el primer paso en la transformación invasiva de la NICG-i en TTCG²⁷³⁻²⁷⁶.

Aspectos clínicos y diagnósticos.

Desde el punto de vista clínico y de la exploración física los datos son inespecíficos. De forma similar ocurre con sus hallazgos ecográficos, aunque algunos autores²⁷⁷ señalan el valor predictivo de algunos patrones irregulares de cara al diagnóstico de NICG-i.

Actualmente existe un amplio consenso en considerar la NICG-i como la lesión precursora de la mayoría de los TTCG. Se plantea entonces que un correcto diagnóstico y tratamiento de esta, podría evitar el desarrollo posterior de un tumor testicular. Dado que su diagnóstico sólo puede establecerse mediante su demostración histológica, es la biopsia testicular la única forma de llegar a este. Llegados a este punto se plantea la siguiente pregunta : ¿se debería realizar un despistaje de NICG-i mediante biopsia testicular en aquellas situaciones con riesgo de presentar una NICG-i ? y más concretamente ¿se debe realizar biopsia del teste contralateral al tumoral?. La respuesta a esta interrogante es motivo de debate y polémica actualmente^{239,278}.

En 1986 el grupo de Skakkebaek²²⁶ publicó su experiencia en 500 pacientes con TTCCG unilateral a los cuales se les realizó sistemáticamente la biopsia del teste contralateral encontrando en un 5.4 % de los pacientes NICG-i. Un porcentaje similar ha sido publicado en otros estudios^{221,236,240,241}. Si tenemos en cuenta que la toma de dos biopsias es suficiente para detectar esta lesión con una alta sensibilidad^{221,279,280} y que se trata de una cirugía menor con mínimas complicaciones, puede comprenderse el motivo por el que en los países del norte de Europa esta práctica es habitual^{236,280-284}. En el ámbito español sin embargo, se aportan cifras de incidencia de tumor testicular en el teste contralateral del 1 %. Si a esto se une, pese a lo comentado por otros autores, la existencia de cierta morbilidad asociada a la biopsia^{285,286} (fundamentalmente dolor testicular persistente y disminución de los niveles de testosterona), y el hecho de la buena respuesta terapéutica en caso de desarrollo de un TTCCG, se comprenderá la razón por la que en España^{21,214,238,239} al igual que en otros países^{80,127}, no se realiza la biopsia de forma sistemática del teste contralateral al tumoral.

La actitud que parece más adecuada, sería la de indicar la biopsia del teste contralateral al tumoral en aquellos pacientes con un riesgo mayor de presentar una NICG-i, es decir, pacientes con volumen testicular < 12 ml, historia de criptorquidia y menores de 30 años^{80,287,288}.

Técnica de biopsia: en líneas generales se suelen tomar varias biopsias de 3 mm de diámetro^{220,283} a nivel de la superficie lateral del polo craneal del testículo y realizando una incisión transversal de la albugínea²⁸¹. La realización de punción-aspiración con aguja fina (PAAF) tiene el inconveniente de que los resultados citológicos no son concluyentes y que existe poca información y consenso en los hallazgos²⁸⁹⁻²⁹¹.

Tratamiento.

Si tenemos en cuenta que la NICG-i es considerada como una lesión preneoplásica por la mayoría de los autores, un tratamiento precoz y correcto de esta,

sería capaz de prevenir su transformación en un TTCG. El tratamiento de la NICG-i es también controvertido, estando las opiniones divididas entre la observación cuidadosa, quimioterapia (QT), radioterapia (RT) y un tratamiento radical como sería la orquiectomía²¹¹.

La radioterapia a baja dosis (14-20 Gy) es un tratamiento seguro y erradicador, por lo que es hoy día el tratamiento de elección para la mayoría de autores^{221,279,292-294}. El nivel óptimo de radiación está aún por definir, valorando por un lado el carácter curativo y por otro lado el preservar la función hormonal del testículo²⁹⁵. Pese a ser considerado un tratamiento erradicador, hay autores²⁹⁶ que publican desarrollo de TTCG tras la aplicación de RT sobre la NICG-i (dos casos).

La QT basada en combinaciones con cisplatino, ha demostrado carecer de efecto permanente sobre la NICG-i²⁹⁷. De tal forma, que se estima un riesgo de recurrencia de NICG-i tratada con QT del 21 al 42 % a los 5 y 10 años respectivamente^{221,298,299}.

La orquiectomía es sin duda la medida terapéutica más segura, pero a costa de una castración quirúrgica, con las secuelas psicológicas que esto puede originar y de la necesidad de un tratamiento sustitutivo hormonal permanente. Podría ser de primera elección en caso de NICG-i unilateral con normalidad del teste contralateral.

La observación es la actitud más arriesgada, sobre todo teniendo en cuenta como se ha comentado antes, las cifras que indican que más del 50 % a los 5 años desarrollarán un TTCG y que no ha sido verificado en ningún caso la regresión espontánea de la NICG-i en tomas biópsicas repetidas a lo largo del tiempo²⁸.

3.3.2. SEMINOMA CLÁSICO.

Generalidades.

Este tumor según la histogénesis actual²¹⁵, es considerado como la respuesta neoplásica básica de células germinales potencialmente diferenciadora hacia cualquier tipo de tejido, bien por vía directa (raramente) o a través de diferenciación de carcinoma embrionario (más frecuente). El concepto clásico de tumor sin capacidad de diferenciación ha sido modificado, presentando ahora el seminoma un papel fundamental en la génesis del resto de TTCG.

El seminoma, al igual que la mayoría de los TTCG, puede presentarse como única forma histológica constituyente del tumor (formas puras), o bien, asociado a otros tipos histológicos (formas mixtas). Lo más habitual es encontrar al seminoma como forma pura, siendo componente de un tumor germinal mixto en aproximadamente un 30 % de los casos^{215,219,229,300}. El seminoma puro ha sido considerado como el tipo histológico más frecuente dentro de los TTCG^{215,219,229,301,302} si bien, hay series donde el tipo tumoral más frecuente es el tumor germinal mixto^{21,300,303}.

Como ya se comentó al hablar de los aspectos epidemiológicos, es un tumor que suele originarse en varones jóvenes, con una edad promedio al diagnóstico de 35 años y 5-10 años más tarde que los pacientes con tumores no seminomatosos^{28,30}. Va a manifestarse clínicamente, la mayoría de las veces, como una masa testicular indolora y en sólo un pequeño porcentaje de casos presentarán sintomatología relacionada con metástasis.

Desde el punto de vista anatomopatológico, macroscópicamente²¹⁹ va a presentarse como una masa blanda, de color canela-blanco, difusa o multinodular. Puede existir necrosis pero suele ser focal y no tan importante como la observada en otros TTCG, como el carcinoma embrionario o los tumores mixtos de células germinales. Microscópicamente²¹⁹ está compuesto por agregados de células

mononucleadas con núcleos de cromatina fina y uniforme y citoplasmas amplios y bien definidos. Son células uniformes, de citoplasma típicamente claro y rico en glucógeno (útil en el diagnóstico diferencial con seminoma espermatocítico y linfoma) y presentan un núcleo grande, esférico y con uno o más nucléolos. Estas células se distribuyen difusamente en masas irregulares, o en nidos o cordones separados unos de otros por cantidades variables de estroma conjuntivo. Suelen presentar una infiltración linfocitaria, preferentemente constituida por linfocitos T citotóxicos/supresores, junto con folículos linfoides y aisladas células plasmáticas y eosinófilos. En un 50 % de los casos pueden presentar una reacción granulomatosa con macrófagos/células gigantes tipo Langhans, que en ocasiones puede llegar a ser tan prominente que enmascare las células neoplásicas y simule una orquitis granulomatosa idiopática.

Por otro lado, dentro del seminoma puro se distingue la variedad de seminoma con sincitiotrofoblasto con una frecuencia del 7 al 20 % de los casos^{28,127,219,229}, sin que esto suponga la presencia de tumor germinal mixto ni variación en el pronóstico^{304,305} y sí tenga probablemente implicaciones histogenéticas²¹⁵. Estas células de sincitiotrofoblasto se tiñen por β hCG y citoqueratinas^{28,306} y no se asocian a células de citotrofoblasto, por lo que no debe considerarse como presencia de coriocarcinoma. Los seminomas con numerosas mitosis, 30 en 10 campos consecutivos de gran aumento, y atípicas celulares, se denominan actualmente como seminomas con alto índice mitótico, sustituyendo al término previamente utilizado de seminoma anaplásico. Estos seminomas no se separan del seminoma típico, ya que si bien estudios iniciales³⁰⁷ sugirieron un peor pronóstico, posteriormente no se han encontrado diferencias³⁰⁸.

Marcadores séricos.

El seminoma es un tumor que clásicamente se ha considerado carente de los marcadores séricos habituales de los TTCG, es decir, AFP y β hCG. Sin embargo, se ha constatado que un 15-20 % de los seminomas puros pueden producir elevaciones leves de β hCG^{28,120,127,309,310} debido a la presencia ocasional de células de

sincitiotrofoblasto. La elevación de este marcador sérico de producirse, suele ser inferior a 100-500 UI/L^{28,127}, de tal manera que niveles superiores indicarían un tumor germinal mixto y por tanto una modificación en cuanto al tratamiento y pronóstico¹²⁰.

Con respecto a la AFP sérica, si bien la mayoría de publicaciones indican que la elevación de este marcador en un seminoma puro supondrá considerarlo a efectos de tratamiento como un tumor germinal mixto^{21,120,127,229}, hay autores que defienden la existencia de seminomas puros productores de AFP^{125,311}. Apoyando la idea del seminoma puro con capacidad de producir AFP, hay autores³¹² que en estudios de biología molecular, han detectado AFP mRNA (ácido ribonucleico mensajero) en estos tumores.

Inmunohistoquímica.

El estudio mediante microscopía óptica convencional (hematoxilina-eosina), puede plantear a veces dudas diagnósticas con otros tipos tumorales, en cuyo caso, son de gran utilidad la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas³¹³.

La fosfatasa alcalina placentaria (PLAP) es un marcador altamente sensible de seminoma, tiñendo entre el 87% y el 100% de los casos, con un patrón de tinción de membrana citoplasmática característico^{219,314,315}. Tiene el problema de marcar también a otros tipos de tumores germinales con lo que no es útil para diferenciarlo de estos.

La β hCG es positiva en las células del sincitiotrofoblasto y puede ser positiva en células aisladas de seminoma hasta en un 20 %²⁸. La AFP suele ser negativa.

El CD117 (proteína derivada del protooncogen c-kit), es un marcador que suele ser positivo la mayoría de las veces (superior al 80 % de los casos) y en tumores no seminomatosos (carcinoma embrionario), la positividad es baja o está ausente³¹⁶⁻³¹⁹. Se ha detectado positividad de células aisladas seminomatosas para

citoqueratinas (CAM 5.2) hasta en un 30 %^{208,320}; suele ser focal, con un patrón de tinción citoplasmático globular característico pero en ocasiones puede ser difuso. Se ha publicado igualmente, positividad focal para el marcador CD30 (receptor del factor de necrosis tumoral) en células de seminoma en un 6 % de casos^{320,321}. En la mayoría de carcinomas embrionarios, la positividad a citoqueratinas y CD30 suele ser la norma^{316,319,320}. El CD143 (enzima convertidora de la angiotensina I) es un marcador referido en algunos trabajos pero que no es utilizado como diagnóstico normalmente³²². Como se ha descrito en páginas anteriores, el marcador OCT3/4 tiene una alta sensibilidad por seminoma y carcinoma embrionario y no por el resto de tumores testiculares. Puede ser por ello, un marcador de gran utilidad en el diagnóstico diferencial con otras neoplasias testiculares^{234,263,264}. Podemos resumir indicando que en seminoma el perfil inmunohistoquímico suele ser PLAP y CD117 positivos y citoqueratinas y CD30 negativos.

Factores pronósticos.

El principal factor pronóstico en este tumor al igual que en el resto de TTCCG, es el estadio clínico en que es diagnosticado. Desde un punto de vista anatomopatológico y con fines fundamentalmente terapéuticos, se han intentado establecer un serie de factores de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal para tumores en estadio I. Estos factores están aún por definir, aunque lo más consensuado es considerar factores de mal pronóstico el tamaño del tumor primario (mayor de 4 cm de diámetro) y la invasión de la rete testis^{80,164,173,174}. La infiltración linfovascular sin embargo, no parece influir en el pronóstico de estos tumores²⁸. Se ha intentado igualmente, relacionar el pronóstico tumoral en función de la positividad a diversos marcadores (CD-30 y citoqueratinas) sin encontrar relación^{318,320}.

3.3.3. SEMINOMA ESPERMATOCÍTICO.

Generalidades.

Es un tumor que fue descrito como una nueva entidad distinta del seminoma clásico por Masson³²³. Su nombre es debido a que las células que lo componen son muy parecidas a las presentes en diferentes fases de la maduración de los espermatozoides. Es un tumor raro, representando alrededor del 4 % de los seminomas³²⁴⁻³²⁶. La edad de presentación es mayor que en el seminoma clásico, siendo la media de 50 años³²⁴.

Macroscópicamente³²⁵ el seminoma espermatocítico tiene un aspecto blanco grisáceo, con un tamaño tumoral que se sitúa entre 2 y 20 cm con un promedio de 7 cm de diámetro máximo. Microscópicamente³²⁴ está compuesto por una proliferación laminar de 3 tipos de células redondeadas: pequeñas, intermedias (predominantes) y grandes. Las células pequeñas tienen un núcleo que se tiñe oscuro, mientras que las células intermedias y grandes tienen una cromatina nuclear filamentososa que recuerda a los espermatoцитos primarios²¹⁹.

La histogénesis del seminoma espermatocítico parece ser diferente al resto de TTCG^{215,327}, ya que si bien se origina en la línea de células germinales, no se ha demostrado la existencia de NICG-i en ninguno de los casos descritos^{28,222,324}. Hay autores que defienden un posible origen premeiótico de este tipo tumoral en base a la expresión inmunohistoquímica de ciertos antígenos (Ch K2, p53, p19, MAGE-A4)³²⁷. Recientemente se han publicado los resultados sobre los cambios citogenéticos moleculares en estos tumores, otorgando a la ganancia de material genético en el cromosoma 9 un papel primordial³²⁸.

En este tipo tumoral no se han hallado elevaciones séricas de β hCG ni AFP^{325,326}. La inmunohistoquímica tampoco es muy útil, siendo la mayoría de las veces negativa para los marcadores habituales^{28,329,330}, si bien hay autores que indican positividad a c-kit³³¹.

Las características fundamentales para diferenciarlo del seminoma clásico son la ausencia del estroma granulomatoso linfocítico y de la NICG-i junto al PLAP negativo²⁸.

El seminoma espermatocítico suele estar confinado al testículo, describiéndose solamente dos casos en la literatura actual^{332,333} con diseminación metastásica. Por este motivo, la orquiectomía por sí sola suele ser curativa en la mayoría de las ocasiones^{325,334}. En raras ocasiones (solo se han publicado 12 casos), el seminoma espermatocítico presenta un componente sarcomatoso³³⁵, lo cual le confiere peor pronóstico.

3.3.4. CARCINOMA EMBRIONARIO.

Generalidades.

El carcinoma embrionario representa la neoplasia de células madre totipotenciales con diferenciación somática (al contrario que el seminoma que no ha realizado todavía esa diferenciación), y que potencialmente es capaz de diferenciarse inmediatamente hacia elementos somáticos (teratoma) o extraembrionarios (coriocarcinoma y tumor vitelino).

En su forma pura supone alrededor del 3-10 % de los TTCCG y forma parte del 80 % de los tumores testiculares germinales mixtos^{28,219,229}. La mayoría aparecen entre los 15 y los 35 años de edad presentando un pico de incidencia que típicamente ocurre unos 10 años antes que para el seminoma^{28,30}. Se presenta clínicamente como una masa testicular, siendo la posibilidad de metástasis al diagnóstico mayor que para el seminoma²¹⁹.

Desde un punto de vista macroscópico¹⁷, se trata de neoplasias más pequeñas en líneas generales que los seminomas y que van a presentar un aspecto amarillento, heterogéneo, con áreas de hemorragia y necrosis. Microscópicamente²¹², el carcinoma embrionario está compuesto por células pleomórficas, con un núcleo

grande, nucleolo prominente y citoplasma abundante. Las células tienen un crecimiento sincitial, con límites difuminados y con tendencia al solapamiento celular. Las figuras mitóticas son numerosas y las células pueden formar distintos patrones (laminar, acinar, glandular, papilar y tubular). No se asocia a infiltrado granulomatoso o linfocítico, ni tiene el crecimiento lobular del seminoma.

Marcadores séricos.

La elevación de la AFP en el carcinoma embrionario puro puede estar elevada y la β hCG sérica suele estar elevada en la mitad de los casos¹²⁰.

Inmunohistoquímica.

Los estudios inmunohistoquímicos subrayan la naturaleza epitelial de las células, ya que casi todos los tumores son positivos para citoqueratinas y CD30^{28,316,319,320}. Entre el 86 y el 100% de los carcinomas embrionarios son positivos para PLAP, pero con una inmunotinción más focal que los seminomas y tanto de membrana como citoplasmática³¹⁴. Se identifican acúmulos dispersos de células positivas para AFP en un 10 %^{17,219,229,336} y para β hCG alrededor del 20% (sincitiotrofoblasto)^{219,229,336}. El CD117 presenta una positividad baja, que oscila desde su ausencia hasta una positividad del 20-30 %^{254,256,316,319}. El marcador OCT3/4, anteriormente comentado, al igual que en la NICG-i y el seminoma, va a ser positivo la mayoría de las veces^{234,261,262}.

Factores pronósticos.

Igual que para los seminomas, el principal factor pronóstico es el estadio clínico. Desde el punto de vista anatomopatológico y para estadio I, la presencia de infiltración linfovascular^{80,191,337,338}, es un factor histológico de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal.

3.3.5. TUMOR VITELINO.

Generalidades.

Son tumores morfológicamente muy heterogéneos, cuyo único denominador común es la diferenciación de estructuras primitivas o inmaduras derivadas del endodermo.

Es el TTCG más frecuente en niños, representando el 60 % de los tumores testiculares de células germinales en pacientes prepuberales³³⁹. El 80 % de los tumores vitelinos puros aparecen en los 2 primeros años de vida, siendo la edad media de presentación de 16 a 17 meses^{31,32,339,340}. Suelen manifestarse clínicamente como una masa testicular y en un 12 al 20 % pueden presentar síntomas relacionados con metástasis³³⁹.

El tumor vitelino puro en adultos es infrecuente, representando aproximadamente el 1.5 % de los TTCG²¹⁹. En adultos suele encontrarse como componente de los tumores mixtos de células germinales en un 40 % de los casos^{28,219,229}.

Macroscópicamente, los tumores vitelinos son neoplasias canela-blancas, lobuladas, homogéneas y con espacios quísticos que contienen material gelatinoso y cantidades variables de hemorragia y necrosis²¹⁹. Microscópicamente, la clave para reconocerlos es la presencia simultánea de gran variedad de patrones histológicos. Los distintos patrones morfológicos de tumor vitelino³⁴¹ se presentan a continuación:

Patrones morfológicos de tumor vitelino con sus tipos equivalentes de tejidos de diferenciación³⁴¹:

<u>Sitio diferenciación</u>	<u>Tejido diferenciado</u>	<u>Patrón histológico</u>
Endodermo extraembrionario	Endodermo primitivo y secundariamente saco vitelino	Reticular Sólido Seno endodérmico
	Alantoides	Polivesicular
	Tipo murino, parietal Saco vitelino	Parietal
Endodermo somático	Intestino primitivo y Pulmonar	Glandular
	Hígado	Hepático

El patrón más frecuente es el reticular-microquístico (presente en el 80% de los pacientes), que consiste en espacios laxos e irregulares con finos cordones y túbulos revestidos de células planas o cúbicas. El patrón más distintivo, pero sorprendentemente infrecuente, es el patrón del seno endodérmico, formado clásicamente por numerosos cuerpos glomeruloides (cuerpos de Schiller-Duval) que contienen un eje central de mesénquima con una o varias estructuras vasculares rodeadas por un anillo de células cuboideas o columnares, inmersas a su vez en un espacio quístico revestido por células aplanadas. Si bien son estructuras características, se encuentran presentes sólo en el 9 % de estos tumores³⁴². Otro detalle citológico característico de estos tumores, es la presencia de numerosos glóbulos hialinos esféricos de tamaño variable localizados en el citoplasma de las células

neoplásicas, que son PAS (Ácido periódico de Schiff) positivos y ocasionalmente se tiñen con AFP y también con alfa1-antitripsina y ferritina²¹⁹. Estos glóbulos no son específicos del tumor vitelino, pudiendo verse en otros tumores pobremente diferenciados, si bien son raros en otros tumores testiculares germinales³⁴³.

El tumor vitelino en algunas ocasiones puede ser difícil de distinguir de otros TTCG. En este sentido, el tipo sólido recuerda histológicamente al seminoma y el reticular puede parecerse al carcinoma embrionario o teratoma. Las claves más útiles para distinguir los tumores vitelinos del resto, son el reconocimiento de los distintos patrones histológicos y la positividad inmunohistoquímica para AFP.

Marcadores séricos.

La AFP sérica va a estar elevada en la mayoría de los casos^{28,120,339,344} y la β hCG sérica suele encontrarse en cifras normales¹²⁰.

Inmunohistoquímica.

La AFP suele ser positiva en el 54-75% de los tumores vitelinos aunque débil y focal^{219,229}. Su positividad es muy útil para el diagnóstico, pero dado que esta reacción es variable, una inmunotinción negativa no excluye el diagnóstico²⁸.

Son positivos para citoqueratinas, PLAP y alfa1-antitripsina alrededor del 50 % de los casos^{345,346} y negativos para CD30, EMA (antígeno epitelial de membrana) y β hCG³⁴⁷.

Factores pronósticos.

El estadio clínico y el valor sérico de AFP guardan relación con el pronóstico^{339,344} y no la edad de presentación^{339,340}. Al ser poco frecuentes no existen unos factores histológicos de mal pronóstico claramente identificados.

3.3.6. TUMORES TROFOBLÁSTICOS.

Dentro de estos destaca fundamentalmente el coriocarcinoma.

Coriocarcinoma.

El coriocarcinoma puro es el TTCG más raro, representando entre el 0.001 y el 0.03 %²⁰⁴. Es el tipo tumoral menos frecuente como componente de los tumores testiculares germinales mixtos, formando parte de estos en un 4 % de los casos²¹⁹. El coriocarcinoma puro es la forma más agresiva de los TTCG por su marcada tendencia a la invasión vascular y dar por ello metástasis con frecuencia, fundamentalmente a pulmón y cerebro³⁴².

La hCG por reacción cruzada con la LH, puede originar hiperplasia de las células de Leydig y presentar ginecomastia⁸², así como con la FSH, apareciendo clínica de hipertiroidismo¹³³.

En el examen macroscópico, el coriocarcinoma es una masa hemorrágica y necrótica. Microscópicamente, es un tumor que está compuesto por células de sincitiotrofoblasto y células de citotrofoblasto íntimamente asociadas²¹⁹. Las células sincitiotrofoblásticas son multinucleadas, de abundante citoplasma eosinófilo y núcleos densos. Se disponen envolviendo a nidos de citotrofoblasto con apariencia pseudovelloso, con frecuentes áreas hemorrágicas y necróticas²²⁹. El citotrofoblasto está compuesto por células mononucleadas con atípicas nucleares prominentes, frecuentes mitosis, citoplasma granular y membranas nítidas.

La presencia aislada de células de sincitiotrofoblasto puede verse en la mayoría de TTCG sin que ello justifique el diagnóstico de coriocarcinoma. A veces sin embargo, pueden plantearse dudas si verdaderamente se trata de una forma tumoral pura con sincitiotrofoblasto o bien es un tumor mixto con componente coriocarcinomatoso.

En pacientes con coriocarcinoma puro, la β hCG sérica está elevada con niveles superiores a 100-500 UI/L y la AFP suele ser normal^{28,127}. La inmunohistoquímica para β hCG es positiva la mayoría de las veces, siendo muy fuerte en sincitiotrofoblasto, mientras que para citotrofoblasto la positividad es débil o ausente^{348,349}. Ambos tipos celulares, son positivos para citoqueratinas y en un 50% positivos para PLAP²¹⁹. El CD10 (endopeptidasa neutra) es un buen marcador de trofoblasto aunque no es específico de estas neoplasias³⁵⁰.

3.3.7. TERATOMA.

Generalidades.

Es un tumor constituido por elementos procedentes de las tres capas embrionarias y según el tejido predominante sea adulto, fetal-embrionario o presente características de malignidad (carcinoma o sarcoma), se le denomina maduro, inmaduro o maligno respectivamente.

El teratoma puro supone del 2.7 al 7 % de los TTCG y se identifica componente teratomatoso en hasta el 47 % de los tumores mixtos de células germinales^{219,351}. Es el segundo TTCG más frecuente en niños, en los cuales tiene un comportamiento benigno^{80,352}.

El aspecto macroscópico del teratoma depende en gran medida de los elementos que componen el tumor, siendo generalmente característico la presencia de áreas sólidas junto con otras quísticas. Microscópicamente, es un tumor típicamente compuesto por tejidos que representan las diferentes capas embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo). Van a reproducir los más variados tejidos, desde la piel a tejido nervioso, cartílago, hueso, glándulas mucosas y epitelios variados, a veces formando estructuras complejas como tráquea, intestino, tiroides y plexos coroideos²¹⁹.

Clásicamente, el teratoma se ha clasificado en tres tipos según su composición histológica:

A) Maduros: están compuestos exclusivamente por tejidos somáticos maduros bien diferenciados. Típicamente, aunque no de forma invariable, contienen estructuras derivadas de las tres hojas embrionarias. Los elementos ectodérmicos están típicamente representados por epitelio escamoso con o sin queratinización, glándulas salivales y tejido neural. Las estructuras endodérmicas por tejido gastrointestinal, hepático, pancreático y respiratorio y los elementos mesodérmicos por cartílago, hueso y músculo.

B) Inmaduros: la inmadurez de un teratoma está definida por la presencia de tejidos que no pueden ser reconocidos como elementos adultos normales. Contienen tejidos incompletamente diferenciados o embrionarios, además de cantidades variables de elementos maduros. Son componentes frecuentes los elementos neuroectodérmicos fetales, glándulas mucosas embrionarias, cartílago y elementos mesenquimales inmaduros²¹⁹.

C) Con áreas malignas: son teratomas que se caracterizan por el sobrecrecimiento de una segunda neoplasia maligna de células no germinales, esto es, un sarcoma, un carcinoma o ambos. Los más frecuentemente encontrados son rhabdomyosarcomas, condrosarcomas, y entre los carcinomas el adenocarcinoma es más frecuente que el carcinoma epidermoide.

D) Otros:

Quiste dermoide: es una forma particular de teratoma maduro, con muy pocos casos publicados en el testículo³⁵³⁻³⁵⁵.

Teratoma monodérmico: este tipo de teratoma se caracteriza por presentar una de las tres capas germinales (endodermo, mesodermo o ectodermo). Dentro de este tipo de teratomas se incluyen actualmente²⁸, el tumor neuroectodérmico primitivo y el quiste epidérmico. El tumor

neuroectodérmico primitivo puede presentarse como forma pura³⁵⁶ o formando parte de un tumor germinal mixto²⁸. Recientemente se han hallado quistes epidérmicos con células germinales malignas intratubulares, de ahí que se incluyan como una forma de teratoma. En la última clasificación de los TTCCG (OMS de 2004)²⁸, el carcinoide testicular no es considerado un TTCCG y es incluido en el apartado de miscelánea; en la anterior clasificación de 1999²¹⁵ por el contrario, sí era considerado un TTCCG. La causa de estas variaciones es debida a que su origen no está claro y es motivo de controversia actual. Dos publicaciones recientes^{357,358} sobre tumor carcinoide puro testicular, cuestionan el origen de este tumor en la célula germinal, al no identificar NICG-i en el tejido testicular adyacente al tumor. Sin embargo, la presentación de un caso³⁵⁹ de carcinoide puro testicular con NICG-i (PLAP y OCT3/4 positivos) reabre el debate sobre su origen y apoyaría la hipótesis de su origen en la línea germinal. Por otro lado, al tratarse de tumores testiculares raros, es necesario realizar un estudio del paciente para descartar que se trate de una metástasis de un tumor carcinoide de otra localización. La mayoría de estos carcinoides testiculares van a ser formas puras, si bien en algunas ocasiones son un componente del teratoma testicular.

Marcadores séricos.

En pacientes adultos con teratoma puro, la β hCG y la AFP séricas pueden estar elevadas¹²⁰.

Inmunohistoquímica.

La AFP es positiva en el 19-36 %²¹⁹ de los casos y la β hCG puede ser positiva en las células sincitiotrofoblásticas que puede presentar²⁸.

Factores pronósticos.

La histogénesis de estos tumores parece ser distinta en adultos y niños. Esto se fundamenta en dos hechos concretos, como son la ausencia en niños de NICG-i y de copias adicionales en el brazo corto del cromosoma 12. Este hecho ayuda a comprender el diferente comportamiento biológico de estos tumores en función de la edad de presentación. En niños, el teratoma se encuentra en forma pura y es benigno con independencia de la presencia o no de tejidos inmaduros. En adultos sin embargo, el teratoma es un tumor maligno que a pesar del aspecto histológico benigno y aparente madurez, es capaz de invasión vascular y metástasis^{80,81}. Un aspecto sorprendente en la biología de los teratomas es la descripción de teratomas puros con metástasis no teratomatosas. Se ha postulado que los elementos no teratomatosos tienen la capacidad de madurar hacia teratoma, y que las metástasis derivarían de estos elementos antes de su diferenciación²²⁹.

3.3.8. TUMORES DE MÁS DE UN TIPO HISTOLÓGICO (FORMAS MIXTAS).

TUMOR MIXTO DE CÉLULAS GERMINALES.

Generalidades.

En esta categoría se incluyen los TTCG compuestos por dos o más tipos histológicos, excluyéndose por convención de este grupo los tumores puros asociados con células de sincitiotrofoblasto. Son tumores que reflejan la capacidad madurativa de las células madre sobre las que se originan los tumores testiculares germinales. Por esta razón deben ser contemplados no como elementos independientes con capacidad biológica separada, sino como el resultado de la progresión madurativa de las células madre hacia elementos somáticos o extraembrionarios.

Los tumores mixtos de células germinales suponen entre el 30 y el 50 % de los TTCG^{28,219,229}, siendo esta frecuencia variable dependiendo de las series

revisadas. En la mayoría de publicaciones se refleja como el segundo tumor en frecuencia tras el seminoma^{28,219,229}, en otras sin embargo, es el tipo histológico más frecuente de los TTCG^{21,300,303}.

El diagnóstico anatomopatológico de estos tumores debe incluir la tabulación de todos los componentes presentes y la estimación porcentual de cada uno de ellos, ya que esta información tiene una importancia pronóstica²⁸. Los componentes individuales que constituyen estos tumores van a ser idénticos a las formas puras y a excepción del seminoma espermatocítico, todos los tipos tumorales de células germinales pueden aparecer en combinación entre ellos. El componente encontrado con más frecuencia es el carcinoma embrionario, siendo la combinación más frecuente la de carcinoma embrionario y teratoma²¹⁵. Le siguen en frecuencia el tumor vitelino y células de sincitiotrofoblasto, encontrando componente histológico tipo seminoma alrededor de un 30 % de los casos²¹⁵.

En estos tumores, la edad de presentación va a depender de si contienen o no seminoma. De tal manera que si presentan componente seminomatoso, la edad es intermedia entre seminoma puro y no seminoma. Si no lo presentan, la edad es similar a la de los tumores no seminomatosos²⁸.

Marcadores séricos.

La elevación sérica de AFP y β hCG es frecuente^{120,219,231}, existiendo una fuerte correlación entre la elevación de AFP sérica y la presencia de tumor vitelino, así como la elevación de β hCG y la presencia de células sincitiotrofoblasticas y coriocarcinoma²⁸.

Inmunohistoquímica.

El comportamiento inmunohistoquímico de los componentes tumorales es similar al de las formas puras.

Factores pronósticos.

En este tipo de tumores, se consideran factores de mal pronóstico histopatológicos para el estadio I, la infiltración linfovascular y un porcentaje elevado de carcinoma embrionario (> 50-80 %) ^{80,191,360,361}. Del mismo modo, la presencia de componente vitelino parece asociarse a una menor tendencia a metastatizar, así como la identificación de componente seminomatoso parece indicar una mejor respuesta al tratamiento frente a los que no lo presentan ²⁸.

Para finalizar con estos tumores, es necesario comentar que existe un patrón de tumor testicular germinal mixto lo suficientemente característico para que pueda ser considerado aparte. Se trata del Poliembrioma, que es un tumor raro, compuesto predominantemente de cuerpos embriodes. Estos están constituidos por cavidad amniótica, disco germinal, saco vitelino, mesénquima extraembrionario y células de sincitiotrofoblasto. Dada la naturaleza tan extremadamente organizada del poliembrioma, algunos autores lo consideran como de un solo tipo histológico ¹⁹ si bien sus componentes individuales consisten en carcinoma embrionario, tumor vitelino, teratoma y células sincitiotrofoblasticas.

3.3.9. REGRESIÓN DE LOS TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINALES: “TUMORES CICATRIZ”.

La regresión de los TTCG es un hecho clínico infrecuente que consiste en la presencia de tumor germinal extragonadal sin apreciar tumor testicular. Ante un tumor germinal extragonadal, es importante distinguir si se trata de un tumor extragonadal primario o bien se trata de una metástasis de un tumor testicular de células germinales viable o bien que ha regresado total o parcialmente. Dado que los tumores germinales extragonadales primarios son muy raros, habrá que pensar la mayoría de las veces que su origen es testicular.

Este raro fenómeno de “tumor cicatriz” o “tumor quemado” fue descrito en 1965 por Azzopardi y Hoffbrand ³⁶². El tumor testicular regresa, quedando reducido a

una cicatriz fibrosa que no va a ser detectada clínicamente y sin embargo se van a detectar adenopatías retroperitoneales o metástasis a distancia. Su incidencia se ha estimado en un 10 % de los pacientes que mueren de metástasis de tumores germinales³⁶³.

La exploración testicular suele ser normal y los hallazgos ecográficos son inexistentes o bien inespecíficos en el tumor “quemado”. Por este motivo, ante la sospecha diagnóstica, la biopsia testicular bilateral es obligada y si bien los hallazgos de esta patología no están bien caracterizados³⁶⁴, sí son orientativos. De tal manera, que el estudio anatomopatológico de estos testículos, ha revelado zonas de cicatriz, microlitiasis, hiperplasia de células de Leydig, necrosis y NICG³⁶⁴.

Esta evolución rara del tumor testicular no se da en la misma proporción en los TTCCG, siendo el coriocarcinoma el que parece tener la mayor proporción de neoplasias primarias en regresión^{28,365}. Por orden decreciente se ha observado también en carcinoma embrionario, teratoma y seminoma, siendo la involución de este último excepcional³⁶⁶. Otros autores³⁶⁴ indican sin embargo, que el seminoma es el tumor testicular de células germinales que regresa con más frecuencia.

El tratamiento de elección del tumor “cicatriz” es la quimioterapia más la orquiectomía del teste sospechoso, ante la posibilidad de tumor germinal viable³⁶⁷.

4. BIOLOGÍA MOLECULAR.

Los TTCCG han sido los tumores urológicos menos estudiados desde el punto de vista de la biología molecular, debido a su baja frecuencia y a su buen pronóstico gracias a la quimioterapia^{368,369}.

Muchos de los estudios histológicos y citogenéticos realizados han permitido perfilar la patogenia de los TTCCG tanto seminomatosos como no seminomatosos, reforzando la hipótesis de su origen común en la NICG-i²²². Del mismo modo, la transformación de la célula germinal a NICG-i parece ocurrir durante el desarrollo

fetal no siendo bien conocidos los eventos patogénicos íntimos³⁷⁰. Se piensa igualmente que el seminoma es un paso intermedio entre la NICG-i y el resto de TTCG^{215,371}.

En el estudio de las células neoplásicas, es común encontrar desde mutaciones puntuales en determinados genes, hasta alteraciones groseras de la ploidía. Los eventos genéticos que encabezan la génesis de los TTCG en el hombre, parecen estar relacionados con la aneuploidización seguida de la formación de un isocromosoma 12p (i-12p). Este i(12p) es la alteración citogenética observada con mayor frecuencia en los TTCG^{28,368,371,372}, llegando a afirmar algunos investigadores que su presencia es patognomónica de un TTCG³⁷³. El i(12p) sin embargo, no parece encontrarse en la NICG-i y no es tampoco encontrado en teratoma y tumor vitelino prepuberales²⁸. Los primeros en detectar el i(12p) fueron Atkin y Baker³⁷⁴ en 1982, observando que la mayor parte de los tumores testiculares tenían copias adicionales del brazo corto del cromosoma 12. La presencia del i(12p) origina en la célula cambios cuantitativos y cualitativos en el genotipo, de tal forma que el incremento de genes en esta localización posiblemente esté relacionado con el desarrollo tumoral^{371,375,376}. Aunque no están bien determinados o identificados los genes responsables, parece que el gen DAD-R³⁷² y el gen NANOG³⁷⁷⁻³⁷⁹ podrían estar relacionados. Además de su valor diagnóstico, el i(12p) parece jugar un papel pronóstico, de tal manera que los tumores que presentan un mayor número de copias del i(12p) parecen tener una progresión más rápida junto a mayor probabilidad de fracaso del tratamiento^{371,381}. Este dato coincidiría con el hecho de que el número de copias de i(12p) parece ser mayor en tumores no seminomatosos que en seminomas³⁷⁷.

Otras alteraciones cromosómicas implicados en la aparición de un TTCG se han apreciado en el cromosoma 1,17 y 16^{368,372}. El gen p53, localizado en el brazo corto del cromosoma 17, también parece jugar un papel importante en el desarrollo de estos tumores⁸⁰. Se ha observado igualmente un grupo de oncogenes relacionados con los TTCG, de los cuales los más estudiados son el N-myc³⁷⁰ y el c-kit^{369,370,375}.

En conclusión, hemos de indicar que determinadas alteraciones genéticas moleculares parecen jugar un papel importante durante la iniciación y progresión de los TTCG. La identificación y análisis de genes frecuentemente alterados y localizados fundamentalmente en el cromosoma 12, será crucial para una comprensión más profunda de la patogénesis de estos tumores.

II. Justificación.

Los TTCG pese a ser neoplasias poco frecuentes, despiertan actualmente un gran interés en la comunidad científica por una serie de motivos. El principal es que se trata de tumores que afectan mayoritariamente a individuos jóvenes, en plenitud de su vida personal y laboral. Por otro lado, se está produciendo en las últimas décadas una tendencia a la elevación de su incidencia sin quedar aclarada aún las causas de este incremento. Si a esto se unen los nuevos conceptos histogenéticos aparecidos, hemos de comprender la importancia e interés actual por esta patología.

En la década de los 80 sin embargo, el éxito de la quimioterapia en el tratamiento de los TTCG produjo una curiosa paradoja. Este triunfo terapéutico condujo a una notable pérdida de interés anatomopatológico y clínico acerca de estas neoplasias, condicionándose subsiguientemente, una disminución en el número de aportaciones científicas en torno a estos tumores. En esta nueva situación de excelentes respuestas al tratamiento, el diagnóstico histopatológico aparentemente perdió parte del gran valor predictivo que tuvo en la época prequimioterápica. Otro dato que contribuyó a disminuir el interés en el campo de estos tumores, fue la ausencia de hallazgos importantes en el campo de la biología molecular tal y como ha ocurrido en otros tipos tumorales.

Hoy en día, los TTCG han recobrado la atención de la comunidad científica, gracias en parte, a las nuevas aportaciones aparecidas en el campo de la histogénesis. No ha sido sólo un problema de interés académico tratar de conocer el origen de tan variados patrones histológicos, sino que ha sido a través de esta histogénesis como se ha intentado comprender la carcinogénesis de estos tumores, así como basándose en ella, se han realizado las diferentes clasificaciones de los TTCG.

Actualmente está establecido que la NICG-i es la lesión precursora de la mayoría de los TTCG. Las razones para indicar el carácter precursor de esta lesión se han descrito a lo largo de la introducción de este trabajo, siendo una de las más importantes la identificación de la NICG-i en el parénquima testicular adyacente al TTCG en la mayoría de los casos.

La hipótesis histogenética más aceptada actualmente, considera que a partir de la NICG-i se originaría la mayoría de las veces el seminoma, el cual tendría la capacidad de diferenciarse hacia otros TTCG. Esto rompe con el concepto histogenético clásico de que el seminoma era una vía muerta sin capacidad de diferenciación y ayuda a comprender muchas de las observaciones descritas clásicamente en los seminomas.

Las razones para este cambio de concepto han quedado reflejadas en la parte introductoria, si bien se comentan a continuación los aspectos más importantes. La presencia de componente seminomatoso en tumores germinales mixtos vendría a reflejar la estrecha interrelación entre seminoma y el resto de TTCG. Del mismo modo, la expresión en seminoma de distintos marcadores indicaría la posibilidad de evolución hacia otras formas tumorales. De esta forma, seminomas con expresión de marcadores de diferenciación epitelial (citoqueratinas: CAM 5.2), podría indicar posible diferenciación futura hacia carcinoma embrionario o teratoma. La expresión de marcadores típicos del carcinoma embrionario (CD30) en seminoma, podría indicar posible evolución a carcinoma embrionario. La elevación sérica de AFP o su expresión en seminoma, podría indicar diferenciación futura a tumor vitelino. Finalmente, la expresión de β hCG, su elevación sérica, o la identificación de sincitiotrofoblasto en seminomas, podrían ser datos que indicarían una posible diferenciación a coriocarcinoma.

En otro sentido, la heterogeneidad de estas neoplasias puede plantear en ocasiones, problemas de diagnóstico diferencial entre los distintos tipos de TTCG con las preparaciones histológicas básicas. La expresión de distintos marcadores inmunohistoquímicos, ayudará a establecer un diagnóstico correcto con las implicaciones terapéuticas que esto supone. El establecimiento por tanto de un panel inmunohistoquímico en los TTCG, puede considerarse como una herramienta de gran utilidad en el diagnóstico de estos tumores.

Por todo lo expuesto, creemos importante la realización de este trabajo basándonos en los objetivos que a continuación se exponen.

III. Objetivos.

El objetivo general del presente estudio es profundizar en el conocimiento anatomopatológico de los TTCG. Dicho propósito general puede desglosarse en los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar la frecuencia de la NICG-i en el tejido testicular adyacente al TTCG.

2. Aportar evidencias que avalen o refuten la hipótesis que identifica al seminoma como precursor del resto de TTCG. Dichas evidencias se concretarán en los siguientes puntos:

2.1. Identificar la frecuencia de tumores testiculares de células germinales mixtos con un componente seminomatoso.

2.2. Determinar los casos de seminoma puro con elevación sérica de AFP y β hCG.

2.3. Cuantificar el porcentaje de positividad en los seminomas puros de los siguientes marcadores inmunohistoquímicos: CAM 5.2, β hCG, AFP y CD 30.

3. Establecer un panel inmunohistoquímico de los TTCG.

IV. Métodos.

1. DISEÑO.

El trabajo en esta Tesis Doctoral se ha basado en un diseño de serie de casos ambispectiva. Se han analizado 50 casos de pacientes con TTCG diagnosticados en el Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

2. ÁMBITO DE ESTUDIO.

Los casos han sido diagnosticados de la población sanitaria correspondiente al Área sur de la provincia de Granada. El periodo de tiempo incluido en el estudio comprende desde diciembre de 1991 hasta diciembre del 2004.

3. POBLACIÓN DE ESTUDIO.

La población de estudio estuvo constituida por todos los pacientes diagnosticados de un TTCG en el Hospital Universitario San Cecilio de los que se disponía de su historial médico y preparaciones histológicas. Tres casos no fueron incluidos en el estudio al no estar disponible su historia clínica en uno de ellos y al faltar en dos casos las preparaciones histológicas.

4. FUENTES DE INFORMACIÓN Y VARIABLES DEL ESTUDIO.

4.1. FUENTES DE INFORMACIÓN.

Al tratarse de un estudio ambispectivo, iniciado en el año 2002, el protocolo de recogida de información tuvo dos fases diferenciadas:

- Primera: Obtención de información de los casos identificados entre diciembre de 1991 y noviembre de 2002. La información procedente de estos casos se obtuvo de

las historias clínicas, identificadas a partir del Servicio de Documentación del Hospital Universitario, y del archivo de preparaciones anatomopatológicas del Servicio de Anatomía Patológica del citado Hospital. A partir de dicho archivo, se identificaron las preparaciones histológicas correspondientes a los casos previamente seleccionados. Las preparaciones originales fueron examinadas, realizando nuevos cortes de los bloques de parafina en caso de un número insuficiente de las preparaciones de hematoxilina-eosina o mala calidad de estas.

- Segunda: Obtención de información de los casos identificados entre noviembre de 2002 y diciembre de 2004. La información se obtuvo mediante anamnesis detallada e historias clínicas y puesto que estos casos fueron identificados de forma prospectiva, el procesamiento de sus preparaciones fue igualmente prospectivo, aplicándoseles de forma sistemática los marcadores inmunohistoquímicos que se describirán más adelante.

Para las preparaciones obtenidas de forma retrospectiva en las que se habían hecho algunos de los marcadores inmunohistoquímicos recogidos en el protocolo del presente estudio, se utilizaron los resultados procedentes del estudio original, siempre que el resultado original no arrojara ninguna duda sobre su validez. En los restantes casos, y siempre para aquellos marcadores no realizados originalmente, se procesaron nuevas preparaciones inmunohistoquímicas a partir de los bloques de parafina.

El estudio consistió en la identificación de la NICG-i mediante PLAP y la aplicación en los TTCG de los siguientes marcadores inmunohistoquímicos: PLAP, AFP, β hCG, CAM5.2, CD30, CD117 y CD10. Se revisó el diagnóstico inicial de todos los TTCG, con especial hincapié en los tumores germinales mixtos y en la identificación en estos de componente seminomatoso.

A continuación se describe brevemente el procedimiento estándar utilizado, en el servicio de anatomía patológica del Hospital San Cecilio de Granada, durante todo el periodo de estudio para la obtención y preparación de las muestras así como las técnicas aplicadas:

Obtención de las muestras y procesamiento.

Las muestras se obtuvieron realizando orquiectomía radical vía inguinal en 48 casos y por vía escrotal en 2 (en ambos casos el diagnóstico inicial no era de tumor testicular). Se fijaron tras su extracción en formol al 10 % tamponado y se envió al servicio de anatomía patológica donde se procedió al examen y estudio de la pieza.

Manipulación de la pieza de orquiectomía.

Sección testicular y fijación según protocolo habitual en los servicios de anatomía patológica.

Descripción macroscópica.

Incluyendo dimensiones de la gónada, estado de la capa vaginal y albugínea, localización del tumor, tamaño de este y relación con estructuras próximas.

Selección de bloques para histología.

Los tejidos preparados para el examen microscópico incluían el tumor (un mínimo de un bloque por cada centímetro de diámetro máximo del tumor), el testículo normal próximo, la albugínea, el epidídimo y el cordón espermático. En todos los casos de nuestra muestra se obtuvo un número mínimo de 6 bloques.

Procesamiento.

Este se realizó según los estándares establecidos en los servicios de anatomía patológica. Los tejidos se incluyeron en bloques de parafina sobre los que se realizaron posteriormente cortes a un espesor de 4 a 6 micras, obteniendo láminas delgadas de la muestra sobre las que se aplicaron las técnicas de estudio.

Técnicas de estudio tisular:

- Técnica convencional de microscopia óptica: método de la hematoxilina-eosina (según estándares establecidos).

- Técnicas inmunohistoquímicas especiales. Se utilizaron los siguientes marcadores inmunohistoquímicos:
 - a). PLAP.
Anti-fosfatasa alcalina placentaria (cat. No.:000099QD, anti-PLAP 6 ml, lot. No.:0529).

 - b). AFP.
Anti-alfafetoproteína (AFP), cat. No.:001117 QD, alfa-fetoproteína (6mL), lot. No.:1101-01.

 - c). β hCG.
Anti-gonadotropina coriónica humana (hCG cadena β), cat. No.:001311QD, hCG (6ml), lot. No.:0894A-03.

 - d). CAM 5.2.
Anticuerpo monoclonal anti-citoqueratina (Cam 5.2), cat. No.:001645QD, anti-citoqueratina Cam 5.2 (5ml), Lot. No.:MD15437.

e). CD30.

Anticuerpo monoclonal frente al antígeno Ki-1 (CD30), cat. No.:005023QD, anti-CD30 (6ml), lot. No.:0979A-7.

f). CD117.

Anticuerpo monoclonal anti-c-kit (CD117), cat. No.:004029QD-8, anti-c-kit (CD117) (8mL), lot. No.:0100-02.

g). CD10.

Anticuerpo monoclonal anti-CD10, cat. No.:002022QD, anti-CD10 (6ml), lot. No.:0836A-2.

Valoración de las técnicas aplicadas.

Todas las preparaciones procesadas, tanto las originales como las nuevas, fueron valoradas por un único patólogo (Dr. F.Nogales), con una amplia experiencia en tumores germinales. La positividad de las tinciones inmunohistoquímicas fue subjetiva y no cuantificada, siendo solo positiva o negativa.

4.2. VARIABLES DEL ESTUDIO.

A partir de las fuentes de información descritas en el apartado precedente, se definieron las variables del estudio que se describen a continuación:

4.2.1. VARIABLES CLÍNICAS.

- Edad (años).
- Localización: derecho o izquierdo.
- Presentación clínica: induración, dolor leve, orquitis, hidrocele, sintomatología metastásica.

- Antecedentes personales: criptorquidia sí o no.
- Antecedentes familiares de tumor testicular: sí o no.
- Afectación unilateral o bilateral: sí o no.
- Niveles séricos de AFP y β hCG preoperatorios: AFP (normal: inferior a 10 ng/L). β hCG (normal: inferior o igual a 2 UI/L).
- Estadio clínico: estadio I, estadio II, estadio III. En base a la clasificación TNM 2002.

4.2.2. VARIABLES DEL ESTUDIO ANATOMO PATOLÓGICO.

- Tamaño tumoral: ≤ 4 cm o > 4 cm. Se han utilizado estas medidas de referencia por tener valor pronóstico en seminomas.
- Diagnóstico anatomopatológico (seminoma puro, tumor germinal mixto, carcinoma embrionario, teratoma, coriocarcinoma, tumor vitelino, carcinoide y seminoma espermatocítico).
- Tumor germinal mixto: composición y presencia de componente seminomatoso sí o no.
- NICG-i: sí o no. La confirmación diagnóstica se obtuvo por el PLAP. Se consideró positivo este marcador, al igual que los restantes marcadores, siempre que apareciera la tinción característica con independencia de su intensidad.
- Infiltración linfovascular: sí o no.
- Infiltración rete testis: sí o no.

- PLAP: positivo o negativo.
- β hCG: positivo o negativo.
- AFP: positivo o negativo.
- CAM 5.2: positivo o negativo.
- CD30: positivo o negativo.
- CD117: positivo o negativo.
- CD10: positivo o negativo.

5. ANÁLISIS DE DATOS.

5.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.

Para variables cuantitativas se obtuvieron sus medidas de tendencia central (media) y dispersión (rango y desviación típica). Para las variables cualitativas, se describe su distribución absoluta y relativa por categorías.

5.2. ESTUDIO ANALÍTICO.

Se ha aplicado el test Chi cuadrado para valorar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de las distintas variables cualitativas analizadas, en función de los principales tipos histológicos. Para tablas 2 x 2 que no cumplieran los criterios de aplicación del test Chi cuadrado ($> 20\%$ de las casillas tuvieran un valor esperado menor que 5) se ha utilizado el test exacto de Fisher.

Se ha aplicado el test t de Student para la comparación de las medias de variables cuantitativas entre subgrupos histológicos de tumores. Para todas las comparaciones, se consideraron estadísticamente significativos valores de p menores de 0,05. Todo el análisis se ha realizado mediante el paquete estadístico SPSS 12.0.

V. Resultados.

En las siguientes tablas presentamos la distribución del total de tumores estudiados en función de todas las variables incluidas en el estudio. Esta distribución se ha valorado también para los principales tipos histológicos definidos, seminomas y no seminomas, diferenciando en su caso estos últimos en sus principales subgrupos. Para todas las variables del estudio se ha valorado la existencia de diferencias estadísticamente significativas en su distribución entre seminomas y no seminomas. Es necesario indicar que el escaso tamaño muestral de los subgrupos histológicos incluidos dentro de esta última categoría, ha imposibilitado la valoración de diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

1. TIPO HISTOLÓGICO.

El total de casos identificados en el periodo de estudio ha sido de 50 TTCG. Pese a ser una muestra reducida, se han diagnosticado la mayoría de tumores testiculares de células germinales existentes, incluyendo como TTCG el tumor carcinoide. En la tabla 1 se representa la distribución de tipos histológicos encontrados, observando un claro predominio de los tumores germinales mixtos y seminomas puros sobre el resto.

Tabla 1. Tipos histológicos.

TIPO HISTOLÓGICO	N	% ¹
SEMINOMA PURO	16	32
SE. ESPERMATOCÍTICO	1	2
T. GERMINAL MIXTO	25	50
CA. EMBRIONARIO	4	8
TERATOMA	1	2
TUMOR VITELINO	1	2
CORIOCARCINOMA	1	2
CARCINOIDE	1	2

¹: Los porcentajes han sido calculados por columnas.

En la tabla 2 se representa la composición y frecuencia de los tumores germinales mixtos. Como composición más frecuente, destaca la asociación de carcinoma embrionario y teratoma en el 44 % de los casos. En todos los casos salvo en 1 se identificó carcinoma embrionario (96 %), teratoma en el 76 %, seminoma en el 40 % (gráfico 1) y tumor vitelino en el 28 % de los casos.

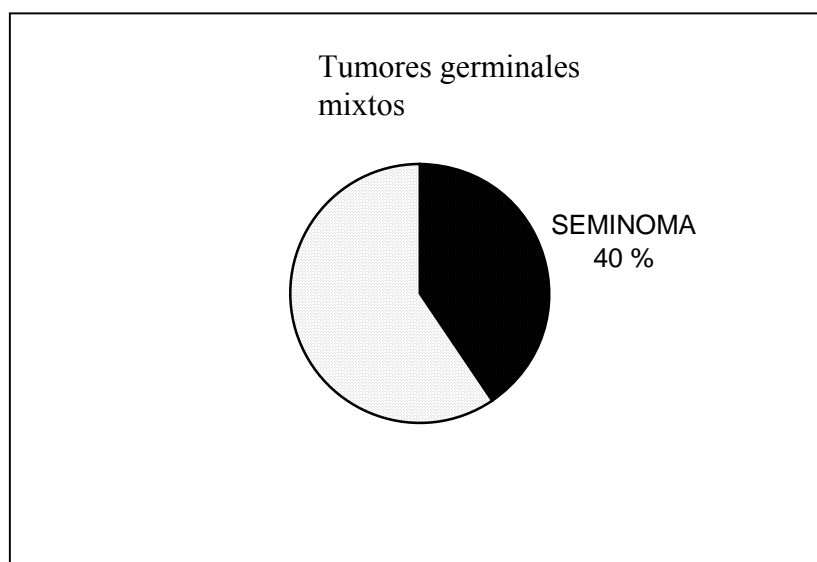
Tabla 2. Composición de los tumores germinales mixtos.

T. GERMINAL MIXTO	N (25)	% ¹
CE + T	11	44
CE + T + TV	3	12
CE + S	3	12
CE + T + TV + S	2	8
CE + T + S	2	8
CE + C + S	1	4
CE + TV + S	1	4
CE + TV	1	4
T + S	1	4

¹: Los porcentajes están calculados por columnas.

CE: carcinoma embrionario; T: teratoma; TV: tumor vitelino; S: seminoma; C: coriocarcinoma.

Gráfico 1. Presencia de componente seminomatoso en los tumores germinales mixtos.



En las figuras 11 a 23 se muestran preparaciones de hematoxilina-eosina de las variedades histológicas encontradas, destacando por su rareza los casos de seminoma espermatocítico y de carcinoide puro testicular.

Figura 11. Seminoma típico.

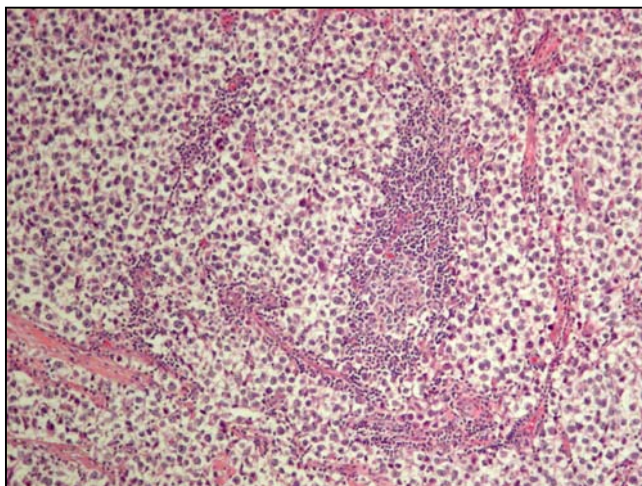


Figura 12. Seminoma típico.

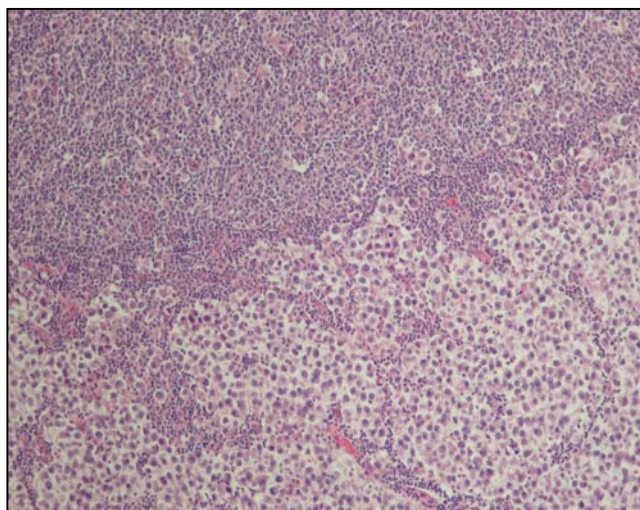


Figura 13. Seminoma espermatocítico.

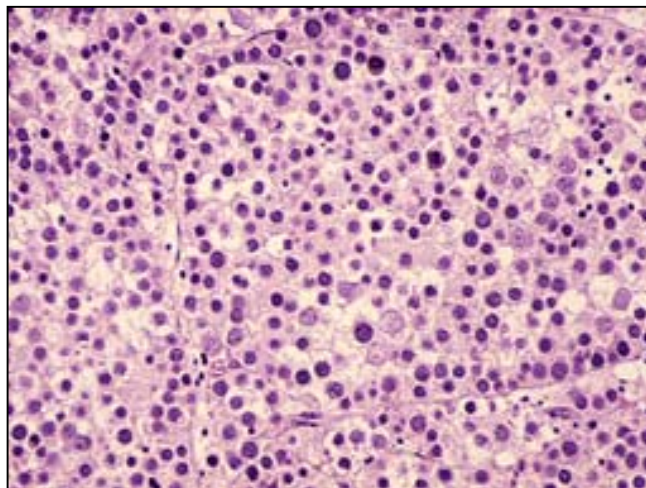


Figura 14. Teratoma.

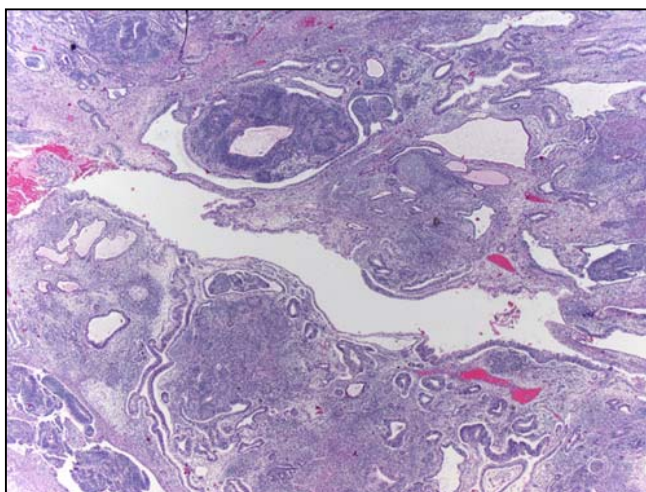


Figura 15. Tumor vitelino.

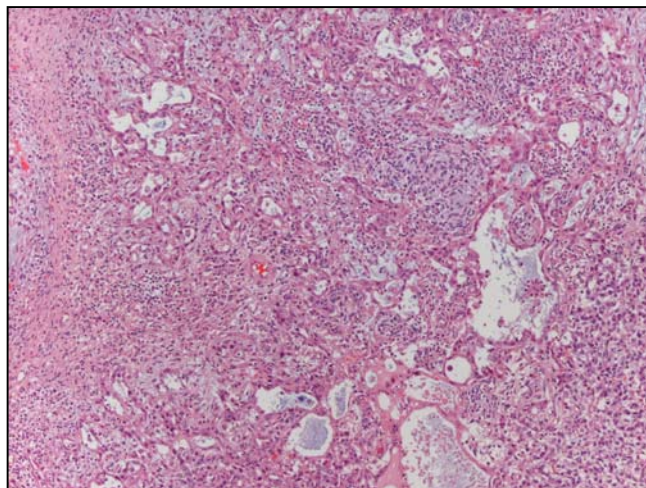


Figura 16. Tumor vitelino. Cuerpos de Schiller-Duval.

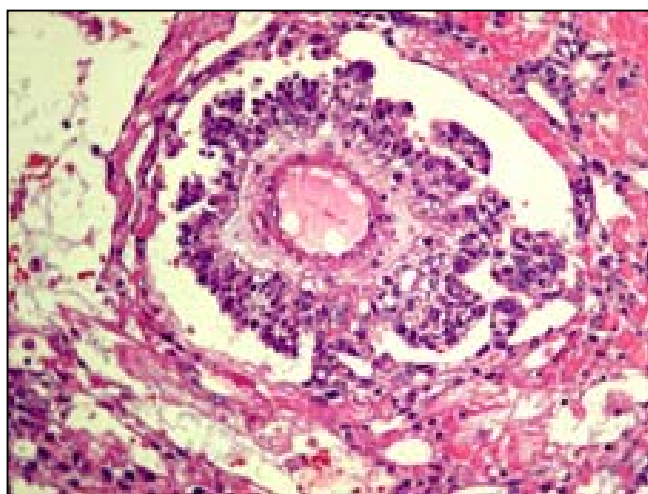
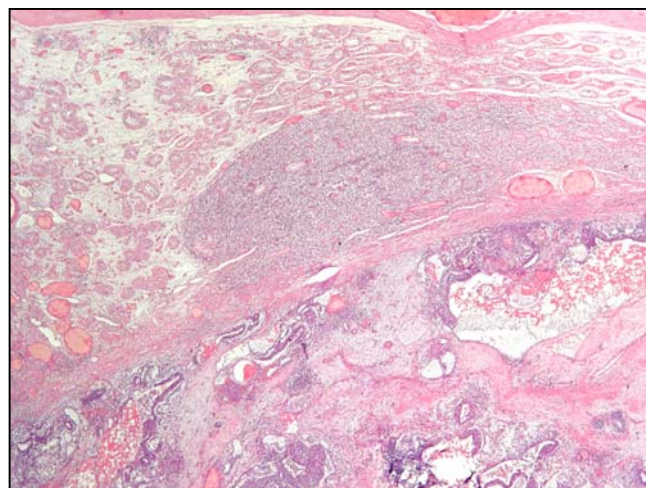


Figura 17. Tumor germinal mixto. Se aprecia en esta imagen un área de seminoma junto a carcinoma embrionario.

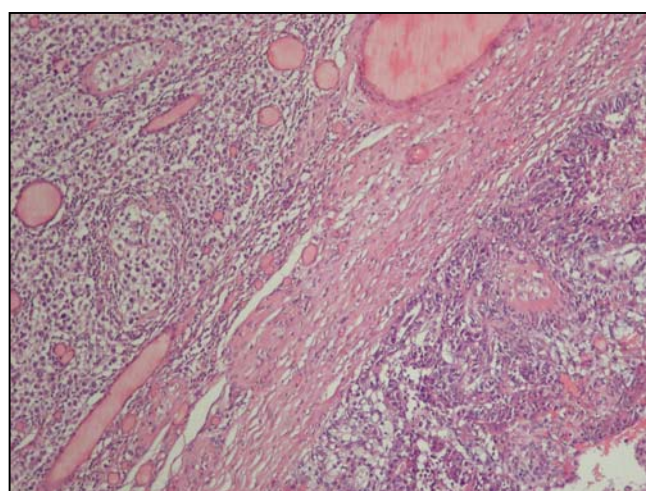
SEMINOMA



CARCINOMA
EMBRIONARIO

Figura 18. Tumor germinal mixto. Imagen anterior ampliada.

SEMINOMA



CARCINOMA
EMBRIONARIO

Figura 19. Tumor germinal mixto. Se aprecian áreas de seminoma junto con focos de teratoma.

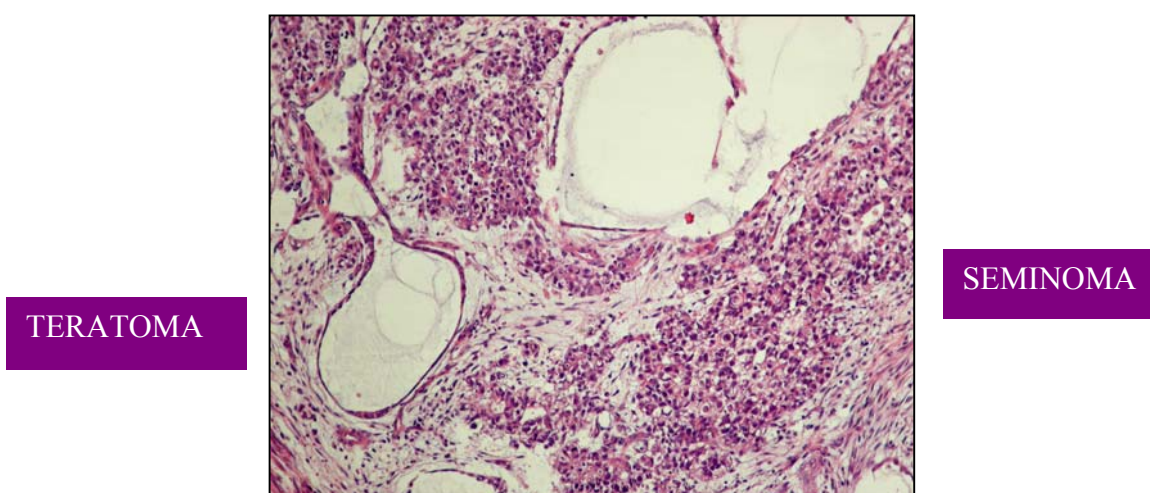


Figura 20. Coriocarcinoma.

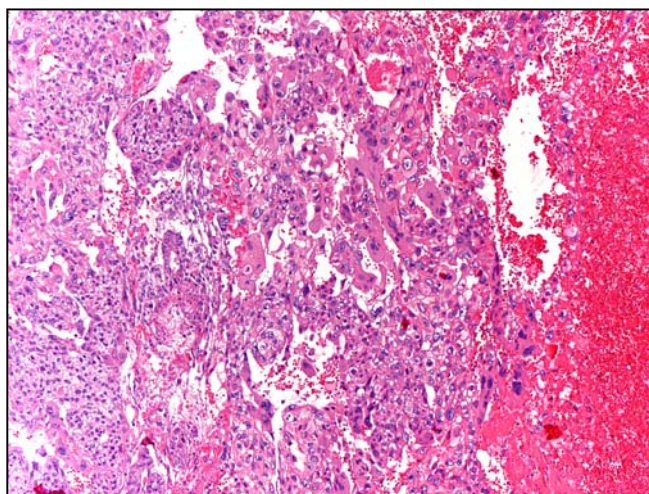


Figura 21. Carcinoma embrionario.

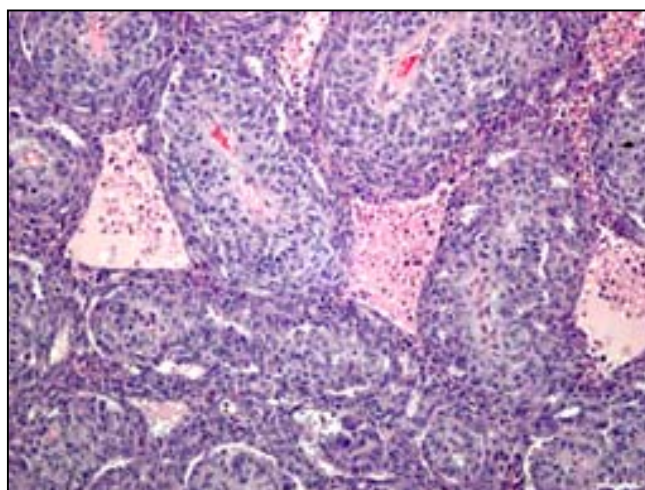


Figura 22. Tumor carcinoide.

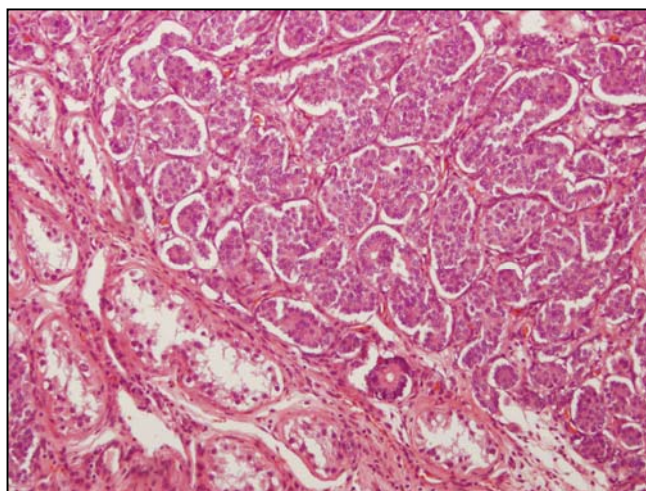
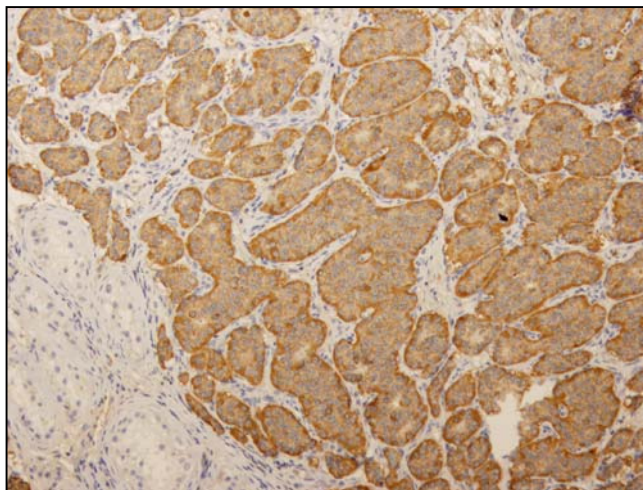


Figura 23. Tumor carcinoide. Cromogranina positiva.



2. VARIABLES CLÍNICAS.

En las siguientes tablas (tablas 3 a 7), se representan los datos relacionados con la edad, clínica de presentación, localización, marcadores séricos preoperatorios (AFP y β hCG) y estadio clínico. De aquí en adelante, todas las comparaciones entre seminomas y no seminomas se realizarán excluyendo, en ambos grupos, el único caso de seminoma espermatocítico encontrado.

En relación con la edad (tabla 3), se puede comprobar que son tumores que afectan de forma predominante a individuos jóvenes, siendo la edad media de presentación de 27 años. Al comparar seminomas y no seminomas, se observa que en el primer grupo la edad media es superior a la del segundo, aunque las diferencias no alcanzan la significación estadística. En los dos extremos del rango de edad se encuentran el tumor vitelino con 2 años y un seminoma puro con 49 años.

Tabla 3. Edad de presentación (años).

TIPO HISTOLÓGICO	MEDIA	DE	RANGO
TOTAL	27,38	8,61	2-49
SEMINOMAS	30,63	8,94	20-49
NO SEMINOMAS	25,85	8,22	2-45
• Geminal mixto	25,83	6,49	16-45
• Ca embrionario	25,25	7,04	15-31
• Teratoma ¹	32		
• Tumor vitelino ¹	2		
• Coriocarcinoma ¹	21		
• Carcinoide ¹	25		

¹: Para estos tipos histológicos se presenta la edad del único caso disponible.

Comparación de medias seminoma vs no seminoma: p (t Student) = 0.069

La clínica de presentación queda reflejada en la tabla 4, destacando la induración no dolorosa como forma de presentación más frecuente. Tres casos presentaban al diagnóstico metástasis a distancia, un seminoma, un tumor germinal mixto y el coriocarcinoma. No se describe ningún antecedente de traumatismo previo. Los dos casos de diagnóstico incidental debutaron uno como hidrocele y otro como orquitis de evolución tórpida. El seminoma espermatocítico fue el que debutó como hidrocele. No existen diferencias significativas en relación a la presentación clínica entre tumores seminomatosos y no seminomatosos.

Solamente en 2 casos (4 %) se refleja un antecedente de criptorquidia y en sólo uno (2 %) hay afectación familiar. No se describe ningún caso de afectación bilateral. El abordaje quirúrgico se realizó por vía inguinal en 48 casos (96 %), en los dos casos incidentales, el abordaje quirúrgico fue por vía escrotal. En estos dos casos no hubo afectación de ganglios iliacos.

Tabla 4. Clínica de presentación.

	Induración		Dolor leve		Orquitis		Hidrocele		Metástasis	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	37	75,5	5	10,2	4	8,2			3	6,1
SEMINOMAS	13	81,1	1	6,3	1	6,3			1	6,3
NO SEMINOMAS	24	69,6	4	11,8	3	8,8			2	5,9
• Germinal mixto	18	72	4	16	2	8			1	4
• Carcinoma embrionario	4	100								
• Teratoma					1					
• Tumor vitelino	1									
• Coriocarcinoma									1	
• Carcinoide	1									

¹: Los porcentajes están calculados por filas. No se presentan porcentajes para n = 1.

Test Chi cuadrado para la comparación de seminomas vs no seminomas: p = 0,900.

Los TTCCG han afectado de forma predominante al testículo derecho, con un porcentaje del 76 % frente al 24 % en testículo izquierdo. Esta predominancia se mantiene al estudiar seminomas y no seminomas separadamente. Estos datos se reflejan en la tabla 5.

Tabla 5. Localización del tumor testicular.

	DERECHO		IZQUIERDO	
	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	37	75,5	12	24,5
SEMINOMAS	11	68,8	5	31,3
NO SEMINOMAS	26	78,8	7	21,2
Germinal mixto	21	84	4	16
Ca. embrionario	3	75	1	25
Teratoma	1		0	
Tumor vitelino	1		0	
Coriocarcinoma	0		1	
Carcinoide	0		1	

¹: porcentajes calculados por filas. No se presentan porcentajes para n = 1.

Test de Fisher para la comparación de seminomas vs no seminomas: p = 0.492.

En la tabla 6 se reflejan los resultados en relación con los niveles séricos preoperatorios de AFP y β hCG. Con respecto a la AFP, existe un caso (6,2 %) de seminoma puro con elevación de AFP (> 300 ng/L), frente a los 23 casos de AFP elevada en los no seminomas (72 %). En este seminoma puro con elevación de la AFP, existía también una β hCG elevada (44 UI/L). Se realizaron nuevas preparaciones histológicas de los bloques de parafina existentes confirmando el diagnóstico de seminoma puro. Encontramos 4 casos de elevación de β hCG en seminoma puro (25 %) y en 1 caso de estos se identificó sincitiotrofoblasto (6,2 %). Los valores de β hCG fueron en 2 casos inferiores a 10 UI/L, el caso anterior de 44 UI/L, y hubo un caso con cifras muy elevadas (3.730 UI/L). En tumores no seminomatosos, en 21 casos había elevación de la β hCG (65,6 %). En dos casos no se disponía de los niveles séricos preoperatorios de estos tumores al no ser el diagnóstico inicial de TTCCG.

Tabla 6. Distribución de los casos según tipo histológico y niveles de AFP y β hCG séricas.

TIPO HISTOLÓGICO	AFP				β hCG			
	Normal		Elevada		Normal		Elevada	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	24	50	24	50	23	47,9	25	52,1
SEMINOMAS	15	93,8	1	6,2	12	75	4	25
NO SEMINOMAS	9	28	23	72	11	34,4	21	65,6
Germinal mixto	5	20	20	80	7	28	18	72
Ca. embrionario	2	50	2	50	2	50	2	50
Teratoma ²								
Tumor vitelino			1		1			
Coriocarcinoma	1						1	
Carcinoide	1				1			

¹: porcentajes calculados por filas. No se presentan porcentajes para n = 1.

²: Para este tipo tumoral no existían marcadores tumorales preoperatorios.

Test Chi cuadrado para la comparación de seminomas vs no seminomas:

- para la distribución de AFP: $p < 0.001$.

- para la distribución de β hCG: $p = 0.008$.

En relación al estadio clínico (tabla 7), se aprecia que los seminomas debutan en un estadio clínico más localizado que los no seminomas, aunque no se detectan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. En un 81,3 % de los casos los seminomas se diagnostican en estadio I, mientras que para tumores no seminomatosos esto solo ocurre en el 60,6 %. No se han diagnosticado seminomas en estadio 3, mientras que para tumores no seminomatosos se han diagnosticado 5 casos (15,2 %).

Tabla 7. Estadio clínico.

	Estadio 1		Estadio 2		Estadio 3	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	33	67,3	11	22,5	5	10,2
SEMINOMAS	13	81,3	3	18,7	0	
NO SEMINOMAS	20	60,6	8	24,3	5	15,1
Germinal mixto	14	56	8	32	3	12
Ca. embrionario	3	75			1	25
Teratoma	1					
Tumor vitelino	1					
Coriocarcinoma					1	
Carcinoide	1					

¹: porcentajes calculados por filas

Test de Fisher para la comparación de seminomas vs no seminomas: $p = 0,160$.

3. VARIABLES HISTOLÓGICAS.

En las siguientes tablas (tablas 8 a 14), se reflejan los datos relacionados con el tamaño tumoral, infiltración linfovascular, afectación de la rete testis, estadio pT, presencia de NICG-i y marcadores inmunohistoquímicos.

En la tabla 8 se presentan los resultados en relación al tamaño tumoral en función de su diámetro máximo. El tamaño de los seminomas es claramente superior al de los no seminomas pero sin llegar a alcanzar la significación estadística. En un 81,3 % los seminomas tienen un diámetro máximo superior a los 4 cm. Para tumores no seminomatosos este diámetro sólo lo superan el 45,5 %.

Tabla 8. Tamaño tumoral.

	<u>Menor o igual 4 cm</u>		<u>Mayor de 4 cm</u>	
	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	21	42,8	28	57,2
SEMINOMAS	3	18,8	13	81,3
NO SEMINOMAS	18	54,5	15	45,5
Germinal mixto	12	48	13	52
Ca. embrionario	4	100	0	
Teratoma			1	
Tumor vitelino	1			
Coriocarcinoma	1			
Carcinoide			1	

¹: porcentajes calculados por filas

Test Chi cuadrado para la comparación de seminomas vs no seminomas: $p = 0.18$.

En relación a la infiltración linfovascular y la afectación de la rete testis, se aprecian diferencias entre ambos grupos pero sin llegar a ser estadísticamente significativo (tabla 9). En un 12,5 % de los seminomas se detectó infiltración linfovascular frente al 30,3 % de los no seminomas. Un 18,8 % de los seminomas presentaban afectación de la rete testis frente al 6 % de los no seminomas. En los carcinomas embrionarios puros, de los 4 casos existentes, en 3 de ellos existía afectación linfovascular.

Tabla 9. Infiltración linfovascular y afectación de la rete testis.

TIPO HISTOLÓGICO	Infiltración linf-vascular				Afectación rete testis			
	SI		NO		SI		NO	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	12	24,5	37	75,5	5	10,2	44	89,8
SEMINOMA	2	12,5	14	87,5	3	18,8	13	81,2
NO SEMINOMA	10	30,3	23	69,3	2	6	31	94
Germinal mixto	6	24	19	76	2	8	23	92
Ca. embrionario	3	75	1	25	0	100	4	100
Teratoma			1				1	
Tumor vitelino			1				1	
Coriocarcinoma	1						1	
Carcinoide			1				1	

¹: porcentajes calculados por filas

Test de Fisher para la comparación de seminomas vs no seminomas:

- Para la distribución de la infiltración linfovascular: $p = 0,290$.
- Para la distribución de la afectación de la rete testis: $p = 0,313$.

El estadio pT se refleja en la tabla 10.

Tabla 10. Estadio pT.

	pT1		pT2		pT3		pT4	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹		
TOTAL	35	71,5	11	22,5	3	6		
SEMINOMA	13	81,2	2	12,5	1	6,3		
NO SEMINOMA	22	66,7	9	27,3	2	6		
Germinal mixto	18	72	5	20	2	8		
Ca. embrionario	1	25	3	75				
Teratoma	1							
Tumor vitelino	1							
Coriocarcinoma			1					
Carcinoide	1							

¹: porcentajes calculados por filas

Test Chi cuadrado para la comparación de seminomas vs no seminomas $p = 0,561$.

La presencia de la NICG-i se refleja en la tabla 11. Es detectada en el tejido testicular adyacente al tumor en la mayoría de los casos, siendo del 81,2 % para seminomas y del 75,7 % para no seminomas. En su confirmación se ha utilizado el PLAP. Para el tumor vitelino (en paciente de 2 años de edad) y el seminoma espermatocítico no se identificó NICG-i. En las figuras 24 a 29 se muestran presentaciones histológicas de NICG-i.

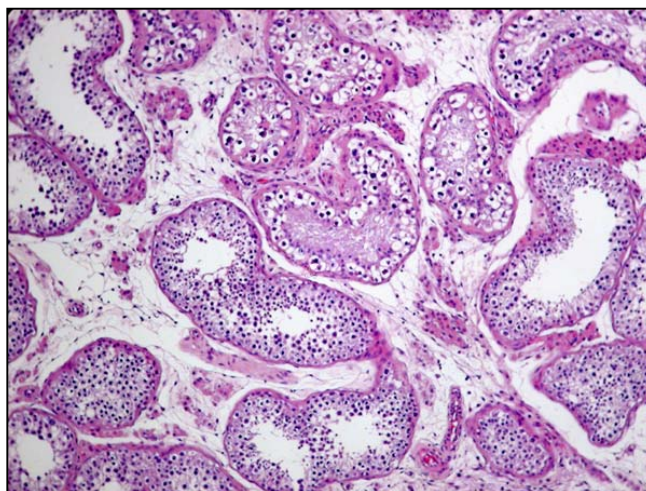
Tabla 11. Presencia de NICG-i.

TIPOS HISTOLÓGICOS	NICG-i			
	SI		NO	
	N	% ¹	N	%
TOTAL	38	77,5	11	22,5
SEMINOMAS	13	81,2	3	18,8
NO SEMINOMAS	25	75,7	8	24,3
Germinal mixto	19	76	6	24
Ca. embrionario	3	75	1	25
Teratoma	1			
Tumor vitelino			1	
Coriocarcinoma	1			
Carcinoide	1			

¹: porcentaje calculado por filas. Para los valores iguales a 1 no se obtiene porcentaje.
Test Chi cuadrado para la comparación de seminomas vs no seminomas: $p=0,602$.

Figura 24. Túbulo seminífero adyacente a un tumor testicular. Se aprecian túbulo normales junto a otros con NICG-i.

Túbulo con NICG-i



Túbulo normales

Figura 25. NICG-i. Tinción con hematoxilina-eosina.

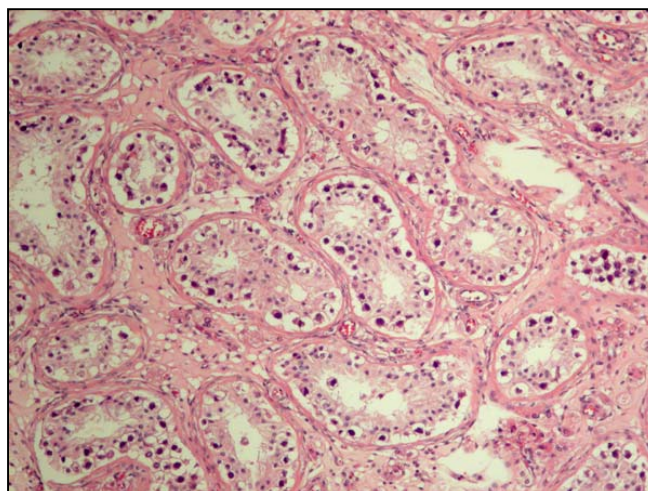


Figura 26. NICG-i. Tinción con hematoxilina-eosina.

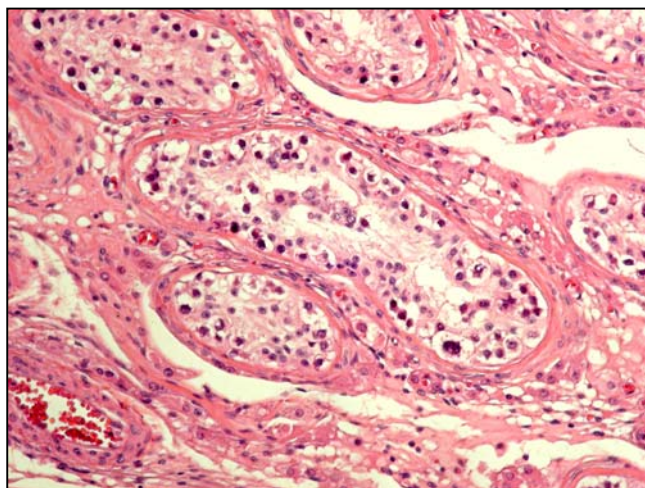


Figura 27. Seminoma + NICG-i. Tinción hematoxilina-eosina.

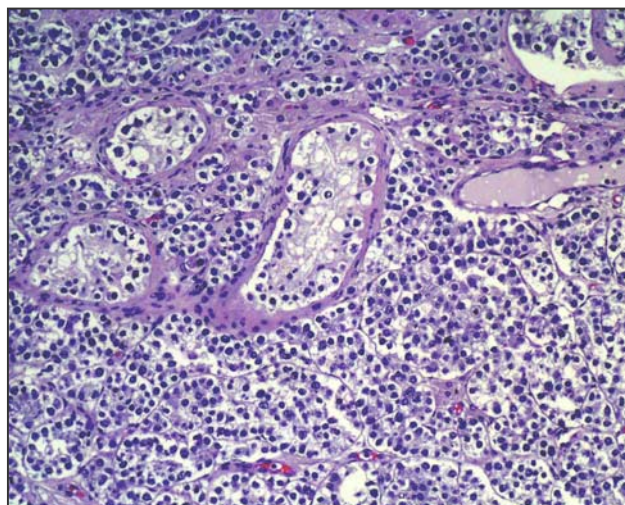


Figura 28. Seminoma + NICG-i. PLAP positivo.

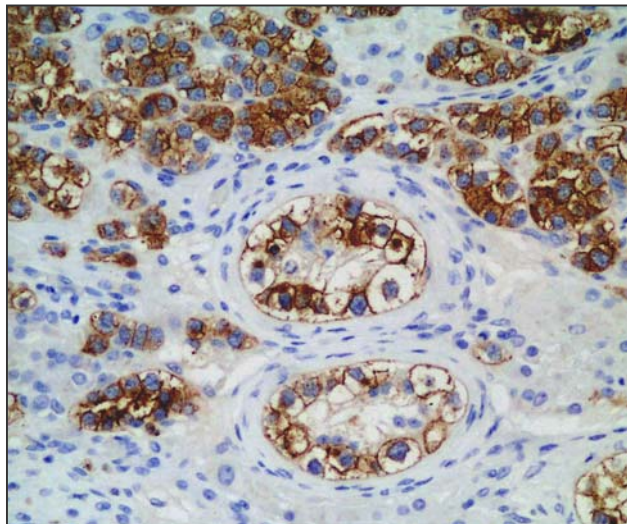
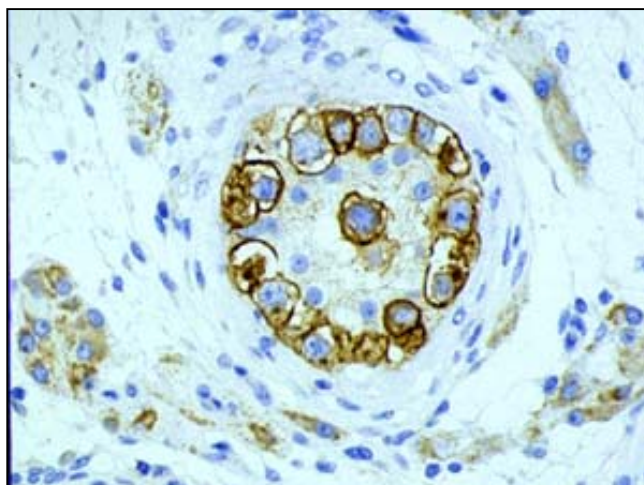


Figura 29. NICG-i. PLAP positivo.



En la tabla 12 se reflejan los datos de la aplicación de los marcadores inmunohistoquímicos AFP y β hCG. En relación a los seminomas, no hubo ningún caso de tinción positiva para AFP y sólo un caso fue positivo para β hCG. Para tumores no seminomatosos hubo positividad para AFP en el 39,3 % y para β hCG en el 42,5 % de los casos.

Tabla 12. Inmunohistoquímica con AFP y β hCG.

TIPO HISTOLÓGICO	AFP				β hCG			
	(+)		(-)		(+)		(-)	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	13	26,5	36	73,5	15	30,6	34	69,4
SEMINOMA	0		16	100	1	6,2	15	93,8
NO SEMINOMA	13	39,3	20	60,7	14	42,5	19	57,5
• Germinal mixto	10	30,3	15	69,7	11	44	14	56
• Ca. Embrionario	2	50	2	50	2	50	2	50
• Teratoma			1				1	
• Tumor vitelino	1						1	
• Coriocarcinoma			1		1			
• Carcinoide			1				1	

¹: porcentajes calculados por filas.

Test de Fisher para la comparación de casos según la tinción a AFP: $p = 0,004$.

Test de Fisher para la comparación de casos según la tinción a hCG: $p = 0,018$.

En la tabla 13 se reflejan los resultados en relación a la inmunotinción con CAM 5.2 y CD30. Podemos observar como un 37,5 % de los seminomas puros fueron positivos a CAM 5.2 y ninguno lo fue a CD30. Para tumores no seminomatosos la positividad para CAM 5.2 fue del 69.7 % y del 54,5 % para CD30. Los 4 casos de carcinoma embrionario puro fueron positivos a CAM 5.2 (100 %) y en 3 casos se produjo positividad a CD30 (75 %).

Tabla 13. Inmunohistoquímica para CAM 5.2 y CD30.

TIPO HISTOLÓGICO	CAM 5.2				CD30			
	(+)		(-)		(+)		(-)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	29	59,2	20	40,8	18	36,7	31	63,3
SEMINOMA	6	37,5	10	62,5	0		16	100
NO SEMINOMA	23	69,7	10	30,3	18	54,5	15	45,5
• Germinal mixto	17	68	8	32	15	60	10	40
• Ca. Embrionario	4	100			3	75	1	25
• Teratoma	1						1	
• Tumor vitelino			1				1	
• Coriocarcinoma	1						1	
• Carcinoide			1				1	

¹: porcentajes calculados por filas.

Test Chi cuadrado para la distribución de casos según la positividad a CAM 5.2: $p = 0.032$.

Test Chi cuadrado para la distribución de casos según la positividad a CD30: $p < 0.001$.

En la tabla 14 se reflejan los resultados tras la aplicación de CD117 y PLAP. Se aprecia que para seminomas la positividad para CD117 fue del 81,2 %, mientras que para tumores no seminomatosos la positividad fue del 30,3 %. En solo un caso de carcinoma embrionario puro hubo positividad a CD117 (25 %). El PLAP fue positivo en un 68,7 % de los seminomas y en el 45,5 % de los no seminomas. En relación al CD10, este fue positivo en el coriocarcinoma.

Tabla 14. Inmunohistoquímica para CD117 y PLAP.

TIPO HISTOLÓGICO	CD117				PLAP			
	(+)		(-)		(+)		(-)	
	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹	N	% ¹
TOTAL	23	46,9	26	53,1	26	53	23	47
SEMINOMA	13	81,2	3	18,2	11	68,7	5	31,3
NO SEMINOMA	10	30,3	23	69,7	15	45,5	18	54,5
• Germinal mixto	9	36	16	64	13	52	12	48
• Ca. Embrionario	1	25	3	75	2	50	2	50
• Teratoma			1				1	
• Tumor vitelino			1				1	
• Coriocarcinoma			1		1			
• Carcinoide			1				1	

¹: porcentajes calculados por filas.

Test Chi cuadrado para la distribución de casos según la positividad a CD117 p = 0,006.

A continuación se muestran figuras de la inmunohistoquímica realizada (figuras 30 a 39)

Figura. 30. Seminoma. CAM 5.2 positiva (focal).

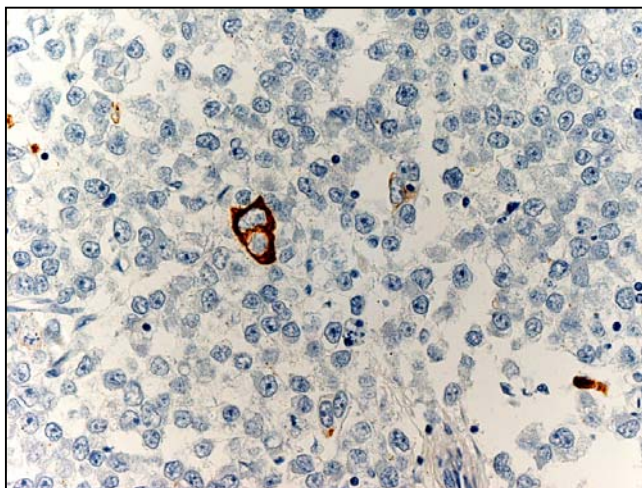


Figura. 31. Seminoma. CAM 5.2 positiva (difusa).

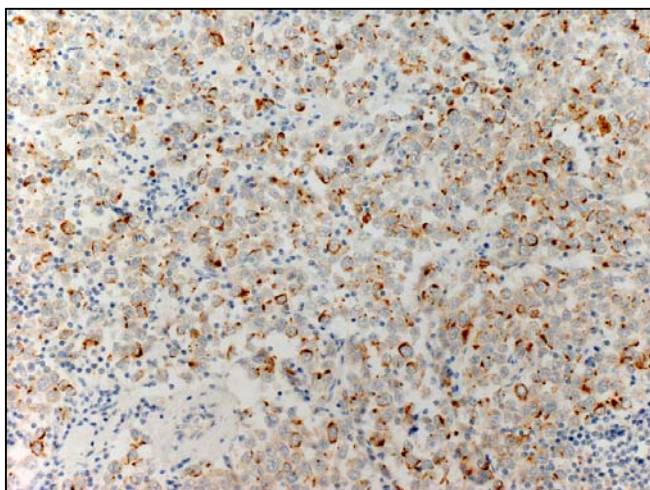


Figura 32. Seminoma. β hCG positiva.

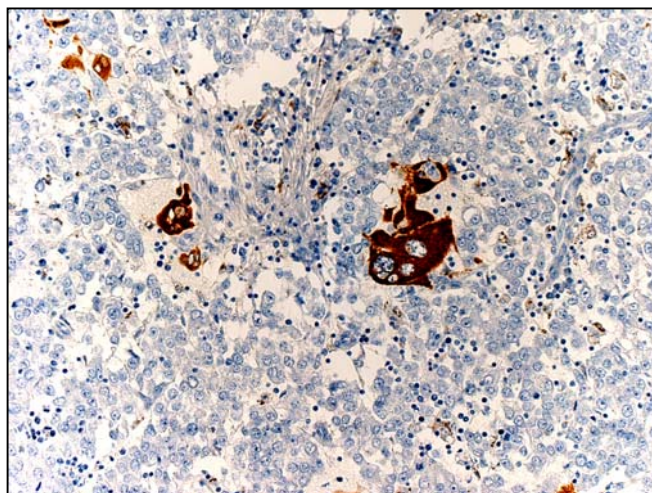


Figura 33. Seminoma. PLAP positivo.

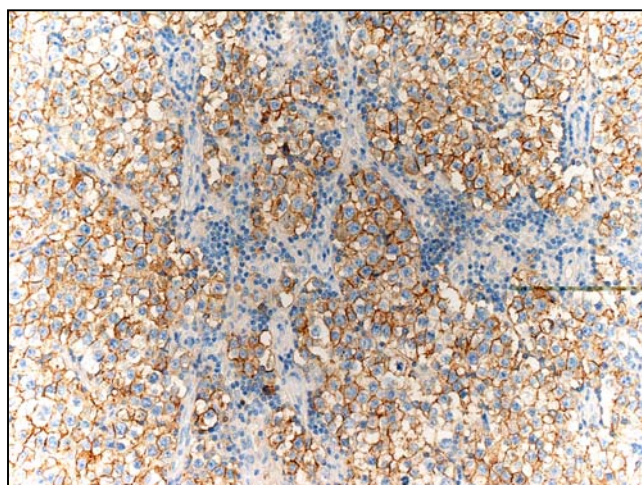


Figura 34. Seminoma. CD117 positivo.

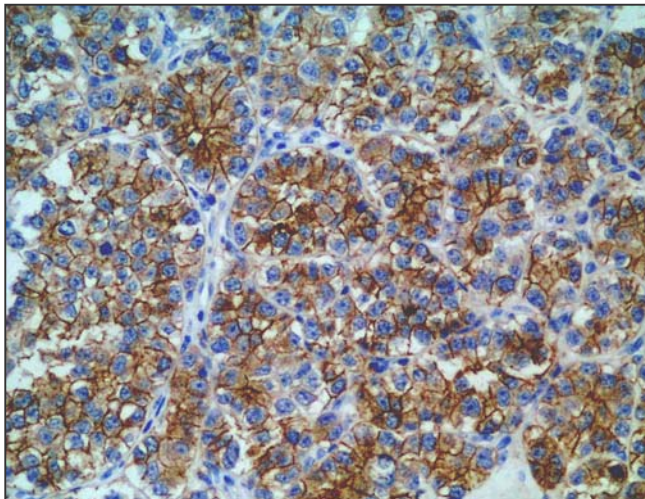


Figura 35. Seminoma + NICG-i. CD117 positivo.

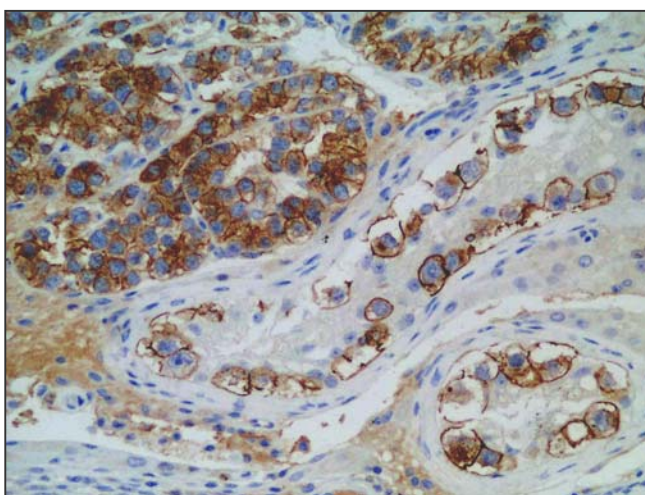


Figura 36. Carcinoma embrionario. β hCG positiva.

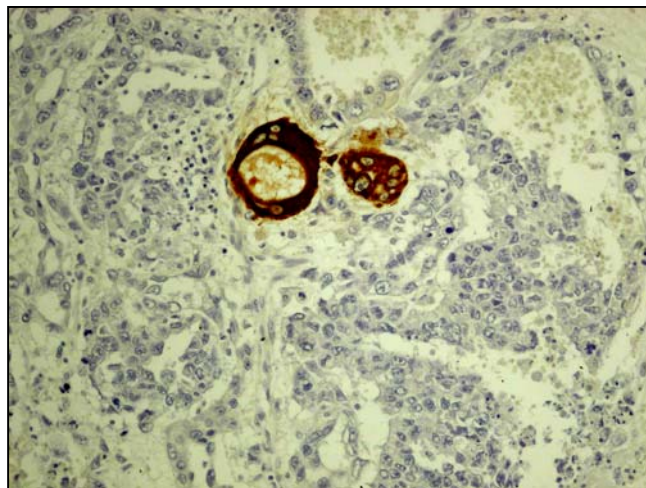


Figura 37. Carcinoma embrionario. AFP positiva.

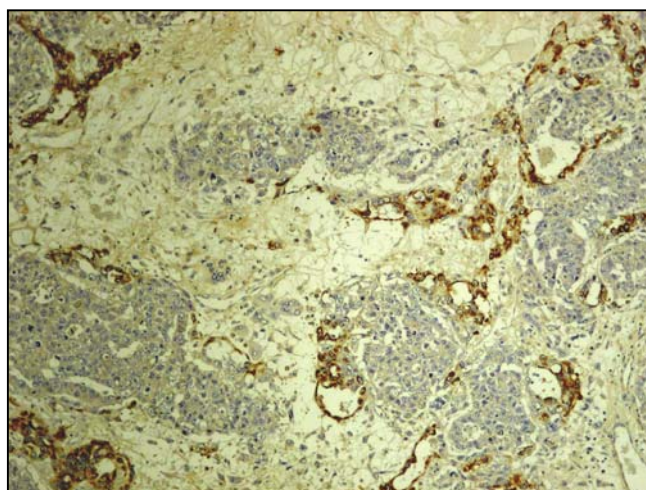


Figura 38. Carcinoma embrionario. CD30 positivo.

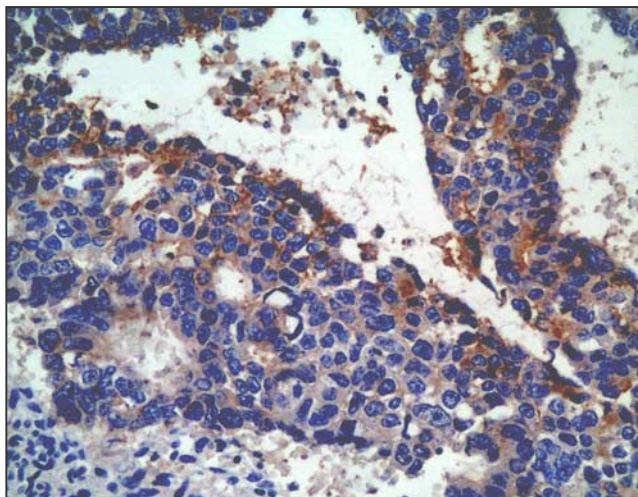
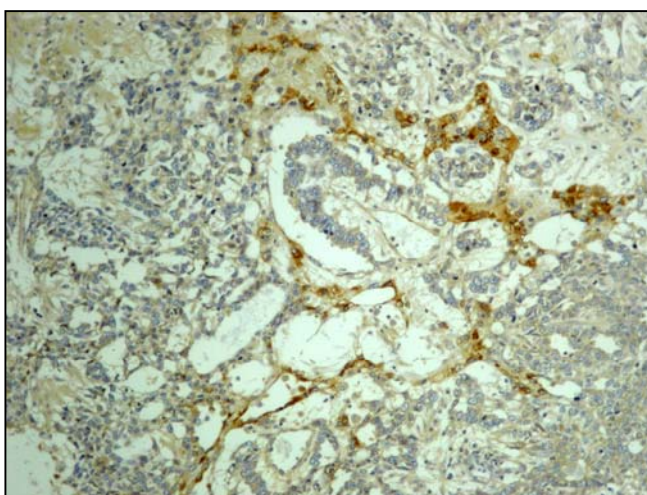


Figura 39. Tumor vitelino. AFP positiva.



VI. Discusión.

Los TTCG pese a ser poco frecuentes^{17,18}, son motivo de gran interés y estudio por los distintos investigadores, ya que son tumores que van a afectar de forma predominante a gente joven y presentan además actualmente, un aumento de su incidencia en el mundo occidental²²⁻²⁸. Pese a este incremento, la mortalidad ha descendido debido a la excelente respuesta a la quimioterapia junto con la mejora de las técnicas quirúrgicas, de tal manera, que los TTCG son hoy día considerados como el paradigma de los tumores curables^{143,144}.

Para lograr este éxito terapéutico, es fundamental una correcta y fluida interrelación entre los distintos profesionales implicados en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de esta patología, es decir, médicos de familia, urólogos, patólogos y oncólogos.

La formación vía M.I.R., cada vez más extendida en los médicos de atención primaria, ha supuesto una mejor formación de estos profesionales en el manejo de la patología testicular, y esto se ha traducido en una rápida derivación especializada ante la sospecha diagnóstica de un tumor testicular.

Los TTCG son actualmente un campo apasionante de estudio para el urólogo, siendo frecuentes las comunicaciones sobre este tema en ponencias y congresos. El éxito de la quimioterapia años atrás sin embargo, supuso que la mayoría de trabajos de investigación se dirigieran fundamentalmente a establecer los protocolos quimioterápicos más eficaces y de menor morbilidad, quedando relegadas las aportaciones urológicas al plano quirúrgico fundamentalmente.

Hoy día existen líneas de investigación que han hecho recobrar el interés urológico por esta patología. Desde el punto de vista epidemiológico, el incremento de la incidencia de estos tumores en el mundo occidental, supone un reto importante de estudio para el urólogo. Como en todo proceso neoplásico, los factores genéticos parecen estar estrechamente relacionados con factores medioambientales, sin quedar claramente definidos los unos y los otros. Los genes implicados probablemente se localicen en el cromosoma 12, siendo muy numerosas las publicaciones al

respecto^{371,372,377}. Los factores medioambientales también van a influir en la génesis de estos tumores siendo igualmente numerosas las aportaciones sobre este tema^{28,38,65,66,380}.

Del mismo modo, hay entidades clínicas que se relacionan con los TTCG y que son motivo de estudio y debate en foros urológicos. La microlitiasis testicular es una de estas entidades clínicas cuya relación con el tumor testicular es controvertida, siendo la opinión mayoritaria considerarla como una lesión no específica de estas neoplasias^{98,102}. La infertilidad es otro hecho relacionado con estos tumores, siendo numerosas las publicaciones⁷²⁻⁷⁵ al respecto pero sin llegar a establecer unas conclusiones evidentes.

Por otro lado, llama la atención al estudiar estos tumores, la predilección por afectar al testículo derecho. Esto se refleja en nuestros resultados y en otras series^{21,215,381}, sin encontrar explicación alguna a este dato en la literatura.

Desde el punto de vista de la histogénesis, la consideración de que la NICG-i es la lesión precursora común de la mayoría de los TTCG va a tener implicaciones diagnósticas y terapéuticas. En este sentido, la indicación de realizar o no biopsia sistemática del teste contralateral al tumoral para descartar esta lesión, es un tema de gran controversia internacional^{21,80,127,236,280} que obliga al urólogo al conocimiento e interpretación de estos nuevos conceptos.

Finalmente, el establecimiento de protocolos de simple observación tras orquiectomía, en los TTCG en estadio I sin factores histológicos de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal, ha supuesto que el urólogo pueda asumir la responsabilidad del tratamiento y el seguimiento de estos tumores.

Por todo lo comentado, el urólogo tiene por delante el reto de la cirugía de estos tumores y además, un amplio campo de investigación que incluye factores epidemiológicos, clínicos, anatómo-patológicos, diagnósticos y terapéuticos.

La labor del patólogo es fundamental en el manejo de los TTCG, ya que debe establecer el diagnóstico correcto, determinar los distintos componentes tumorales y el porcentaje de estos, junto con la identificación de factores histológicos de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal. Aunque la mayoría de estos tumores responden muy bien a la quimioterapia, los protocolos quimioterápicos serán diferentes en función del diagnóstico así como el pronóstico y seguimiento. Es importante a la hora de establecer el diagnóstico, aportar la máxima cantidad de datos de la historia clínica al patólogo. En este sentido, datos como la edad o el valor de los marcadores séricos preoperatorios (β hCG y AFP), pueden poner en cuestión diagnósticos aparentes y exigir nuevos procesamientos.

El oncólogo igualmente, complementará el estudio, tratamiento y seguimiento de estos pacientes. Los protocolos quimioterápicos actuales, dado su excelente resultado, se centran en reducir la morbilidad de esta modalidad terapéutica.

Por todo lo expuesto, hemos de concluir indicando que los TTCG son un grupo heterogéneo de neoplasias que requieren un abordaje multidisciplinario y donde la integración de guías interdisciplinarias es fundamental para un mejor control de estos tumores³⁸². Igualmente, la formación continuada y especializada en este grupo de neoplasias, es importante para un mejor conocimiento de tan variado grupo de tumores³⁸³.

Antes de comentar los resultados obtenidos, consideramos necesario realizar algunas apreciaciones sobre la metodología utilizada y sus posibles limitaciones. En primer lugar, en relación al tamaño muestral, se han recogido 50 casos de TTCG correspondientes a una misma área geográfica y que han sido estudiados por el mismo servicio. La muestra, aunque puede resultar pequeña, es sin embargo homogénea y uniforme lo que refuerza la validez de los datos obtenidos. Es importante destacar igualmente, que han existido pocas pérdidas (3 pacientes), recogiendo la práctica totalidad de los tumores diagnosticados en el periodo de estudio.

Los datos clínicos se han obtenido mediante la revisión de su historia clínica y mediante una anamnesis detallada en los casos estudiados de forma prospectiva. Al ser pues un trabajo parcialmente retrospectivo, presenta la limitación de que en algunas historias clínicas no se recogían los valores de la enzima LDH preoperatoria, por lo que se decidió no incluir su determinación en el estudio si bien hoy día está establecido que su valor es un factor pronóstico en estos tumores¹¹⁹.

Por otro lado, es fundamental realizar un número adecuado de bloques de parafina para identificar y cuantificar todos los componentes histológicos del tumor. En nuestro estudio, se ha realizado un mínimo de 6 bloques de parafina por tumor. El hecho de realizar un número importante de bloques, quizás haya sido el motivo de diagnosticar un porcentaje elevado de tumores germinales mixtos frente a tumores puros.

Las tinciones inmunohistoquímicas con AFP y β hCG son hoy día una herramienta fundamental en la labor del patólogo, pero es necesario comentar, que son reacciones que pueden tener un comportamiento variable, por lo que los marcadores séricos tendrán finalmente un papel preponderante²⁸.

En la identificación de la NICG-i se utilizó el PLAP de forma sistemática. Este es el marcador de referencia de esta lesión²⁴⁷⁻²⁵⁰, aunque recientemente ha sido descrito el marcador OCT3/4 que parece tener una mayor sensibilidad y especificidad por la NICG-i^{233,260,261}.

Es importante resaltar que todas las preparaciones fueron examinadas por el mismo experto, D. Francisco Nogales Fernández, patólogo de reconocido prestigio internacional en tumores germinales, lo que redundará en una mayor consistencia y validez de los resultados obtenidos.

Seguidamente pasamos a comentar algunos de los resultados de este trabajo, que aunque no están incluidos en los objetivos de este estudio, creemos importante su comentario. En relación con la edad, se constata en nuestra serie, que este tumor

es preponderante en gente joven, siendo la edad media de presentación en seminomas (30 años) algo mayor que en tumores no seminomatosos (25 años), lo cual coincide con lo publicado en la literatura^{30,81,127}.

Tradicionalmente, se ha atribuido a la criptorquidia una fuerte asociación con el cáncer testicular, encontrando este antecedente en la literatura en un 10 % de los casos⁴⁹⁻⁵². Si bien parece ser un factor de riesgo claramente relacionado, sobre todo si presenta atrofia testicular²⁸, su asociación con el tumor testicular parece ser menor de la descrita clásicamente³⁹. En nuestra serie, en sólo 2 pacientes (4 %) se informaba de criptorquidia frente al 10-12 % de otras series españolas recientes^{21,300}. Es posible que el bajo porcentaje en nuestro trabajo se deba a que en la historia clínica no se reflejara esta característica, aún pudiendo haber existido.

No hemos identificado ningún caso bilateral frente al 1-5 % de afectación bilateral reflejada en las publicaciones existentes^{21,44,45}. En relación a la afectación familiar, coincidimos con lo publicado por otros autores^{42,43} con un 2 % de casos con más de un miembro familiar afectado.

Un hecho llamativo al estudiar estos tumores, es su aparente predilección por afectar al testículo derecho. Este es un dato no frecuentemente recogido en la literatura médica, si bien hay publicaciones que así lo indican^{21,215,381}. Nosotros apreciamos un claro predominio de localización en el teste derecho, tanto en seminomas (68,8 %) como en no seminomas (78,8 %). La explicación de este hecho, está por plantear y definir y pudiera ser motivo de publicaciones futuras.

Coincidiendo con lo publicado^{21,81,300}, la presentación clínica más frecuente es el aumento de tamaño del testículo con escaso dolor. La escasa sintomatología, es lo que hace que el paciente reste importancia al problema, consultando pasados unos meses de iniciado el proceso. El tamaño de los seminomas ha sido descrito clásicamente^{17,28,127} mayor que el de los tumores no seminomatosos, algo que también encontramos en nuestra serie. El por qué de esta diferencia en relación al tamaño no está clara, si bien pudieran plantearse factores clínicos y biológicos como

posibles responsables. El tamaño es particularmente importante en seminomas, donde el diámetro máximo mayor a 4 cm es considerado como un factor histológico de mal pronóstico de recidiva retroperitoneal para seminomas en estadio I^{80,164}.

En el diagnóstico precoz de esta patología, tiene especial importancia el médico de familia, para ante la sospecha diagnóstica, enviar rápidamente al urólogo. Del mismo modo, los programas de salud encaminados a informar y concienciar a la población sobre esta patología, son también de gran ayuda en el diagnóstico precoz del tumor testicular. Curiosamente, lo que más transmite concienciación sobre esta patología, a veces de forma excesiva, es la difusión en los medios de comunicación de su padecimiento por un personaje público. Todo esto ha contribuido a que actualmente, los tumores testiculares se diagnostiquen en un estadio más precoz que hace años⁸⁴. Hay que indicar que los seminomas suelen ser tumores, en líneas generales, con un mejor pronóstico que los tumores no seminomatosos ya que suelen debutar en un estadio más precoz. En este sentido, en nuestra serie un 81 % de los seminomas se diagnosticaron en estadio I frente al 57 % de los no seminomatosos.

Clásicamente, se ha reconocido al seminoma puro como la estirpe histológica más frecuente de los TTTCG^{17,219,229}. En nuestra serie sin embargo, al igual que en otras^{21,300,303,381}, el tumor germinal mixto es el tipo tumoral más frecuente. Las causas de este predominio de tumores mixtos se desconocen, si bien pudiera estar en relación con la realización de un número apropiado de bloques tumorales para su estudio anatomopatológico.

A continuación se desarrollan los datos relacionados con los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral. Como se ha comentado ya en varias ocasiones a lo largo de este trabajo, los TTTCG son un grupo heterogéneo de neoplasias que se originan en las células germinales y cuya histogénesis ha sido un tema de gran interés para los patólogos desde hace años.

Desde el punto de vista de su patobiología³⁰ los TTCG pueden dividirse en tres grupos:

- Tumor vitelino y teratoma en neonatos y niños.
- Seminomas y no seminomas en pacientes postpuberales.
- Seminoma espermatocítico.

Estos grupos van a presentar diferencias desde el punto de vista epidemiológico y de su histogénesis. Los tumores vitelinos y teratomas en neonatos y niños prepuberales, no van a presentar la NICG-i en el tejido testicular adyacente al tumor ni se observa el i(12p) en las células tumorales. Seminomas y no seminomas en pacientes postpuberales se caracterizan por presentar la NICG-i y el i(12p) además de aparecer entre los 15 y 35 años. El seminoma espermatocítico aparece en sujetos mayores y no presenta la NICG-i ni el i(12p)²⁸.

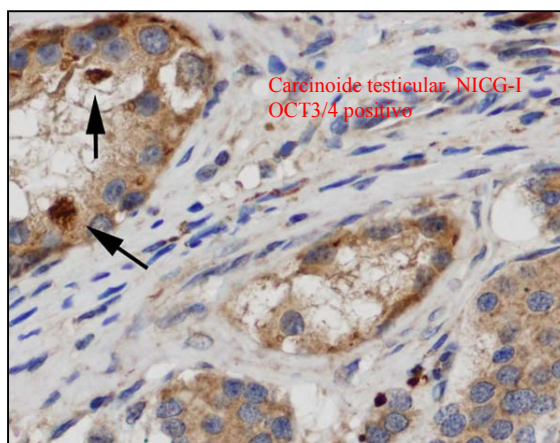
La NICG-i es hoy día considerada como la lesión precursora común de la mayoría de los TTCG^{28,80,215}. Una de las razones fundamentales para apoyar este carácter precursor, es la presencia en la mayoría de los casos, de la NICG-i en el tejido testicular adyacente al tumor. En nuestra serie, identificamos esta lesión en el 81,2 % de seminomas y en el 75,7 % de no seminomas. Estos datos coinciden con lo publicado salvo el hecho de que la NICG-i parece hallarse con más frecuencia en tumores no seminomatosos^{243,244}.

Actualmente, la mayoría de autores defienden la hipótesis de que la NICG-i se originaría a partir de las células germinales primordiales debido a desórdenes en el desarrollo fetal del testículo^{28,46-48,236}. La presencia de similares marcadores moleculares (c-kit, NANOG, AP-2gamma, OCT3/4)^{233,235,378,384} en las células germinales primordiales y en la NICG-i así lo apoyarían. De tal forma, que las células germinales no madurarían, persistiendo sus características embrionarias, que junto a una inestabilidad genética (aneuploidización), dará lugar a la formación de la NICG-i³⁸⁵. Esta NICG-i permanecería “adormecida” hasta que al llegar la pubertad, y probablemente en relación con la influencia hormonal, se desarrollaría el TTCG. En

todo este proceso, la susceptibilidad genética junto a factores medioambientales serán fundamentales³⁸⁶.

Igualmente, hay autores que indican que la anormal diferenciación de las células de Sertoli, originaría alteraciones en la célula germinal primordial y podría ser el inicio de las células germinales displásicas que posteriormente se transformarán hacia NICG-i³⁸⁷.

Al comentar la NICG-i, hemos de indicar algunos aspectos en relación al carcinoide puro testicular. En la última clasificación de los TTCG (OMS de 2004)²⁸, el carcinoide puro testicular no es considerado un TTCG y es incluido en el apartado de miscelánea; en la anterior clasificación (AFIP-1999)²¹⁵ por el contrario, sí era considerado un TTCG. El motivo de estas variaciones reside en que su origen no está claro y es motivo de controversia actualmente. Dos publicaciones recientes^{357,358} sobre tumor carcinoide puro testicular, cuestionan el origen de este tumor en la célula germinal al no identificar NICG-i en el tejido testicular



adyacente al tumor. Sin embargo, nuestro grupo presenta un caso³⁵⁹ de carcinoide puro testicular con NICG-i (PLAP y OCT3/4 positivos) que reabre el debate sobre su origen y apoyaría la hipótesis de su origen en la línea germinal. Por este motivo, nosotros incluimos el caso de carcinoide puro testicular en este trabajo.

Otro de los objetivos de esta Tesis Doctoral, era aportar evidencias que apoyaran la hipótesis de que el seminoma tiene la capacidad de diferenciarse hacia otras formas de TTCG. Clásicamente, el seminoma ha sido considerado como un tumor terminal, es decir, sin capacidad de diferenciación hacia otros TTCG. Las razones para este cambio de concepto se han desarrollado ampliamente durante la introducción de este trabajo. En este sentido, existe un número importante de

tumores germinales mixtos con componente seminomatoso, lo cual pondría de manifiesto la estrecha interrelación entre el seminoma y el resto de TTCG³⁸⁸. La presencia en nuestra serie de un 40 % de tumores germinales mixtos con componente seminomatoso apoyaría esta idea. En la literatura^{215,300,381} este hecho es reflejado en un porcentaje que oscila entre un 20-38 % pero sin entrar en ningún tipo de valoración ni interpretación.

De igual forma, se ha indicado que el seminoma puro sería capaz de producir AFP y β hCG lo cual pondría de manifiesto su posible capacidad para iniciar una diferenciación endodérmica o trofoblástica respectivamente. En relación a la elevación sérica de la AFP, existe cierta controversia, ya que si bien la opinión mayoritaria^{17,120,127,229} es considerar al seminoma con elevación de la AFP, como un tumor germinal mixto, hay autores que defienden la existencia de seminomas puros con capacidad de producir AFP^{125,311}. Hay poco publicado sobre seminomas puros con elevación de la AFP ya que la mayoría de autores restan importancia a este hecho y lo consideran un seminoma con tumor vitelino no identificado. En relación a la β hCG, si está reconocido que el seminoma es capaz de producir elevaciones leves de la β hCG (100-500 UI/L)^{28,127} debido a la presencia de células de sincitiotrofoblasto. En nuestra serie, ha habido un solo caso con elevación de la AFP (> 300 ng/ml) en el cual también existía elevación de la β hCG (44UI/L). La presentación clínica (síntomas generales) y la mala evolución del caso (fallecimiento), nos hacen dudar de que se tratara de un seminoma puro, si bien en las muestras histológicas de los bloques existentes sólo se encontró seminoma. En un 25 % de los seminomas puros encontramos elevaciones de la β hCG, siendo las cifras de 3.730 UI/L, el caso anterior de 44 UI/L y en dos casos las cifras eran inferiores a 10 UI/L. Llama la atención el caso con elevación importante de la β hCG (3.730 UI/L) pese a lo comentado previamente. Hemos de indicar que en este paciente no se identificó componente de coriocarcinoma y que la buena evolución del caso apoyaría este hecho. Solamente en este caso se identificaron células de sincitiotrofoblasto, es decir en un 6,2 % de los seminomas. Estos resultados son similares con lo publicado en la literatura^{28,219}, salvo que nosotros identificamos un porcentaje algo menor de sincitiotrofoblasto en seminoma.

En relación a la posibilidad de que la expresión de distintos marcadores en el seminoma puro pueda indicar una futura diferenciación hacia otras formas de TTCG, hemos de comentar los datos siguientes. No hubo ningún caso de positividad a la AFP y la β hCG fue positiva sólo en el caso donde se apreció sincitiotrofoblasto (6,2 %). La expresión de CAM 5.2 se produjo en el 37,5 % y no hubo ningún caso positivo al CD30. En otras series, el marcador CAM 5.2 es expresado en un 30 % y el CD30 en un 6 %³²⁰. Esta positividad importante en nuestra serie a las citoqueratinas, apoyaría el hecho de la posible diferenciación hacia carcinoma embrionario o teratoma. En relación a la positividad a la β hCG, igual que pasaba con el sincitiotrofoblasto, se indican en la literatura porcentajes algo más elevados^{28,219,229}.

Finalmente, el último objetivo de esta Tesis Doctoral se refiere al establecimiento de un perfil inmunohistoquímico en los TTCG que ayude al patólogo a establecer un diagnóstico correcto. Como hemos comentado en la introducción de este trabajo, en ocasiones, el pleomorfismo histológico de los TTCG puede complicar el diagnóstico, siendo de gran valor el uso de un panel inmunohistoquímico^{261,262,313,389}.

En este sentido, el PLAP puede ser positivo en los TTCG pero es en el seminoma donde su tinción es más difusa e intensa^{219,314,315}. El CD117 suele ser positivo en seminoma y negativo en el resto³¹⁶⁻³¹⁹. Las citoqueratinas suelen ser muy positivas en todos los TTCG salvo en seminoma donde esta positividad es menos frecuente³²⁰. El CD30 es casi siempre positivo en carcinoma embrionario y negativo en el resto^{316,319}. La tinción con AFP es característica en el tumor vitelino²²⁹ y la β hCG y el CD10 en el trofoblasto^{348,350}. El OCT3/4, es un marcador recientemente identificado, que suele ser positivo en la NICG-i, seminoma y carcinoma embrionario, siendo negativo en el resto de tumores testiculares^{234,262}.

De esta forma, podemos indicar que desde un punto de vista inmunohistoquímico, el perfil de los TTCG sería en líneas generales el siguiente^{28,316,319}:

- Seminoma: CD117 (+), citoqueratinas (-) y CD30 (-).
- Carcinoma embrionario: CD117 (-), citoqueratinas (+) y CD30 (+).
- Tumor vitelino: AFP (+).
- Teratoma: citoqueratinas (+).
- Coriocarcinoma y trofoblasto: β hCG y CD10 (+).

En nuestra serie, el escaso tamaño muestral de los tipos histológicos limita los resultados obtenidos, si bien pueden resultar orientativos. En líneas generales, nuestros resultados no difieren de lo expuesto anteriormente, salvo por una positividad importante a citoqueratinas. Hemos de destacar que no se ha identificado ningún caso de seminoma con positividad a AFP, frente al 39,3 % en los tumores no seminomatosos. La β hCG se ha identificado en un 6,2 % de seminomas frente al 42,5 % de tumores no seminomatosos. Hemos identificado un número importante de seminomas con positividad a citoqueratinas (37,5 %), algo más frecuente que lo reflejado en otras series³²⁰. En tumores no seminomatosos la positividad a citoqueratinas ha sido del 69,7 %. El CD30 ha sido positivo en el 75 % de los carcinomas embrionarios y en ningún caso lo ha sido para seminomas. El CD117 ha sido positivo en el 81,2 % de seminomas frente al 25 % de carcinomas embrionarios.

Hemos de comentar finalmente, un hallazgo inesperado durante la realización de este trabajo, como es la frecuente presencia de una positividad aberrante a citoqueratinas en las células de Sertoli de los túbulos seminíferos atróficos, asiento habitual de la NICG-i. El significado de este hecho y su interpretación está por determinar.

En líneas generales, concluimos indicando que nuestros resultados no difieren en gran medida de lo publicado en la literatura, si bien hay datos que aunque eran reflejados no han sido interpretados y valorados. La NICG-i es considerada actualmente como una lesión precursora de la mayoría de TTCG. La presencia en

nuestra serie de esta lesión, en el tejido testicular adyacente al tumor en un 77,5 % de los casos, así lo avala. Por otro lado, el seminoma es considerado actualmente como un tumor pluripotente, es decir con capacidad para diferenciarse hacia otros TTCG. La presencia de componente seminomatoso en un 40 % de los tumores germinales mixtos, indicaría la interrelación existente entre el seminoma y el resto de TTCG. Igualmente, la elevación sérica de AFP (6,2 %), β hCG (25 %) y la presencia de sincitiotrofoblasto (6,2 %), son hechos que apoyarían esta capacidad de diferenciación del seminoma hacia otros TTCG. La positividad en seminoma de CAM 5.2 en un 37,5 % de los casos apoyaría la idea de la posible diferenciación hacia carcinoma embrionario o teratoma. En un 6,2 % de los seminomas se detectó positividad a β hCG lo cual podría indicar la posibilidad de diferenciación futura hacia coriocarcinoma. Por otro lado, para diferenciar seminoma de carcinoma embrionario serán fundamentales CD117, CD30 y citoqueratinas. Para tumor vitelino la AFP y para trofoblasto β hCG y CD10.

VII. Conclusiones.

A partir de los resultados obtenidos, y en respuesta a los objetivos planteados en la presente Tesis Doctoral, se desprenden las conclusiones que resumimos en los siguientes puntos:

1. La presencia de NICG-i en un 77,5 % de los casos, en el tejido testicular adyacente al tumor testicular germinal, avala la hipótesis de que esta es la lesión precursora común de la mayoría de TTCG.

2. Las evidencias obtenidas a partir de nuestro estudio refuerzan la hipótesis del seminoma como posible origen del resto de TTCG. Dichas evidencias se basan en:

2.1 Casi la mitad de los tumores testiculares germinales mixtos presentaron un componente seminomatoso.

2.2. En relación a los seminomas, hubo 1 caso (6 %) con elevación de AFP y en 4 casos (25 %) existía elevación de la β hCG séricas.

2.3. En un 37,5 % de seminomas las citoqueratinas (CAM 5.2) fueron positivas.

3. El establecimiento de un perfil inmunohistoquímico para los TTCG, resulta muy útil al patólogo. Para diferenciar seminoma de carcinoma embrionario los marcadores de mayor utilidad son CD117, CD30 y citoqueratinas (CAM 5.2).

VIII. Bibliografía.

1. Embriología Clínica. Keith L. Moore, M. Sc.Ed McGraw-Hill Interamericana; 1999. p.288-93.
2. Baillenul JP, Mauroy B. Anatomía del testículo, de las vías espermáticas y de las bolsas. En: enciclopedia medico quirúrgica de urología: Ed Elsevier; 2004. E-18-600A-10 2004.
3. Gomperts M, Wylie C, Heasman J. Primordial germ cell migration. Ciba Found Symp 1994;182:121-34.
4. Sinclair AH, Berta P, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature 1990;346:240-4.
5. Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BI, Goodfellow PN, et al. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. Nature 1990 Nov (29);348:448-50.
6. Sultan C, Lobaccaro JM, Medlej R, Poulat F, Berta P. SRY and male sex determination. Horm Res 1991;36(1-2):1-3.
7. Soullier S, Poulat F, Boizet-Bonhoure B, Calas B, Bennes R, Heitz F, et al. The human testis determining factor SRY: a new member of the HMG box protein family. Biochimie 1994;76(10-11):1075-81.
8. Greenfield A, Koopman P. SRY and mammalian sex determination. Curr Top Dev Biol 1996;34:1-23.
9. Poulat F, Goze C, Boizet B, Berta P. Human testicular determining factor: from the gene to protein. Ann Endocrinol 1994;54(5):307-14.

10. Ravel C, Chantot-Bastaraud S, Siffroi JP. Molecular mechanisms in sex determination: from gene regulation to pathology. *Gynecol Obstet Fertil* 2004 Jul-Aug;32(7-8):584-94.
11. Kobayashi A, Chang H, Chaboissier MC, Schedl A, Behringer RR. SOX9 in testis determination. *Ann N y Acad Sci* 2005 Dec;1061:9-17.
12. Patel M, Dorman KS, Zhang YH, Huang BL, Arnold AP, Sinsheimer JS, et al. Primate DAX1, SRY, and SOX9: evolutionary stratification of sex determination pathway. *Am J Hum Genet* 2001 Jan;68(1):275-80.
13. Ostrer H. Identifying genes for male sex determination in humans. *J Exp Zool* 2001 Nov 1;290(6):567-73.
14. Park JM. Desarrollo normal y anormal del sistema urogenital. En: *Campbell Urology* 8ª ed. Walsh, Retik, Waughand, Wein, eds. Editorial Medica panamericana; 2004. p.1901-29.
15. Gray Anatomía. Williams and Warwick.Ed Salvat; 1985. p.1546-56.
16. Jegou B. Spermatids are regulators of Sertoli cell function. *Ann NY Acad Sci* 1991; 637: 340-53.
17. Algaba F, Trías I. Patología de los tumores germinales testiculares en el adulto. En: Germá Lluch JR. *Monografías clínicas en oncología* 12. Tumores germinales del testículo. Ediciones Doyma; 1991. p. 3-16.
18. Mostofi FK, Sesterhenn IA. Histological typing of the testis tumours. World Health organization International Histological Classification of Tumours.2nd Edition. Springer-Verlag. Berlin-heidelberg-New York.1998.

19. Bosl GJ, Motzer RJ. Testicular germ-cell cancer. *N Engl J Med* 1997;337:242-53.
20. Bergstrom R, Adami HO, Mohler M, et al. Increase in testicular cancer incidence in six European countries: a birth cohort phenomenon. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:727-33.
21. Germá JR, Garcia X, Maroto L, Paz-Ares JA, Arranz J, Gumá J, et al. Clinical Pattern and Therapeutic Results Achieved in 1490 Patients with Germ-Cell Tumours of the testis: the experience of the Spanish Germ-Cell Cancer Group. *Eur Urol* 2002;42:553-63.
22. Coleman MP, Esteve J, Damiecki P, Arslan A, Renard H. Trends in cancer incidence and mortality. *IARC Sci Publ* 1993;121:1-806.
23. *Cancer Incidence in Five Continents, vol. VII*. Lyon: International Agency for Research on Cancer 1997.
24. Power DA, Brown RS, Brock CS, et al. Trends in testicular carcinoma in England and Wales, 1971-79. *Br J Urol Int* 2001;87:361-5.
25. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. *GLOBOCAN 2000: Cancer incidence, Mortality and Prevalence Worldwide*. IARC Press 2001: Lyon.
26. McClynn DA, Devesa SS, Sigurdson AJ, et al. Trends in the incidence of testicular germ cell tumors in the United States. *Cancer* 2003;97:63-70.
27. Huyghe E, Matsuda T, Thonneau P. Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review. *J Urol* 2003 jul; 170 (1):5-11.

28. Woodward PJ, Heidenreich A, Looijenga LH, Oosterhuis JW, McLeod DG, Maller H. Germ Cell Tumours. Pag 218-249. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Edited by Eble JN, Sauter G, Epstein J, Sesterhenn I. IARC Press Lyon, 2004.
29. Bray F, Ferlay J, Devesa SS, McGlynn KA, Moller H. Interpreting the international trends in testicular seminoma and nonseminoma incidence. *Nat Clin Pract Urol* 2006;3(10):532-43.
30. Reuter E. Origins and molecular biology of testicular germ cell tumors. *Modern Pathology* 2005; 18:51-60.
31. Weissbach L, Altwein JE, Syiens R. Germinal testicular tumors in childhood. *Eur Urol* 1984;10:73.
32. Cao E, Alarcón H, Fuster JL, López P, Llinares E, Pérez M. Tumores testiculares y paratesticulares prepuberales. Experiencia en nuestro centro y revisión de la literatura. *Actas Urol Esp* 2005 abril;29(4):355-9.
33. McGlynn KA, Devesa SS, Graubard Bi, Castle PE. Increasing incidence of testicular germ cell tumors among black men in the United States. *J Clin Oncol* 2005 Aug 20; 23(24):5757-61.
34. Wilkinson TJ, Colls BM, Schluter PJ. Increased incidence of germ cell testicular cancer in New Zealand Maoris. *Br J Cancer* 1992;65:769-71.
35. Oosterhuis JW, Looijenga LH. Current views on the pathogenesis of testicular germ cell tumours and perspectives for future research: highlights of the 5th Copenhagen Workshop on Carcinoma in situ and Cancer of the Testis. *APMIS* 2003;111:280-9.

36. Looijenga LH, Oosterhuis JW. Pathobiology of testicular germ cell tumors: views and news. *Anal Quant Cytol Histol* 2002;24:263-79.
37. Richiardi L, Askling J, Granath F, et al. Body size at Birth and adulthood and the risk for germ-cell testicular cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:669-73.
38. Dieckmann KP, Pichlmeier U. Clinical epidemiology of testicular germ cell tumors. *World J Urol* 2004 Apr;22(1)2-14.
39. Guo J, Pukkala E, Kyyronen P, Lindbohm ML, Heikkila P, Kauppinen T. Testicular cancer, occupation and exposure to chemical agents among Finnish men in 1971-1995. *Cancer Causes Control* 2005 Mar;16(2):97-103.
40. Depue RH, Pike MC, Henderson BE. Estrogen exposure during gestation and risk of testicular cancer. *J Natl Cancer Inst* 1983;71:1151-5.
41. Wittekind C, Loy V. Pathology and pathomorphologic diagnosis of germ cell tumors of the testis. *Pathologe* 2001 Sep;22(5):316-25.
42. Lutke MF, Sijmons RH, Sleijfer DT, et al. Syndromic aspects of testicular carcinoma. *Cancer* 2003;97:984-92.
43. Heimdal K, Olsson H, Tretli S, et al. Familial testicular cancer in Norway and southern Sweden. *Br J Cancer* 1996;73:964-69.
44. Hentrich M, Weber N, Bergsdorf T, Liedl B, Hartenstein R, Gerl A. Management and outcome of bilateral testicular germ cell tumors: twenty-five year experience in Munich. *Acta Oncol* 2005;44(6):529-36.

45. Pamenter B, De Bono JS, Brown IL, Nandini M, Kaye SB, Russell JM, Yates AJ, Kirk D. Bilateral testicular cancer: a preventable problem? Experience from a large cancer centre. *BJU Int* 2003 Jul;92(1):43-46.
46. Honecker F, Stoop H, de Krijger RR, Chris Lau YF, Bokemeyer C, Looijenga LH. Pathobiological implications of the expression of markers of testicular carcinoma in situ by fetal germ cells. *J Pathol* 2004 Jul;203(3):849-57.
47. Hoei-Hansen CE, Nielsen JE, Almstrup K, Hansen MA, Skakkebaek NE, Rajpert-deMeyts E, Leffers H. Identification of genes differentially expressed in testes containing carcinoma in situ. *Mol Hum Reprod* 2004 Jun;10(6):423-31.
48. Gori S, Porrozzzi S, Roila F, Gatta G, De Giorgi, Marangolo M. Germ cell tumours of the testis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005 Feb;53(2):141-64.
49. Whitaker RH. Management of the undescended testis. *Br J Hosp Med* 1970;4:25.
50. Richie JP. Neoplasms of the testis. In *Campbell Urology 7th ed.*, Walsh, Retik, Stamey and Vaughan, eds., WB Saunders Co., Philadelphia; 1997. p. 2411-52.
51. Abratt RP, Reddl VB, Sarembock LA. Testicular cancer and cryptorchidism. *Br J Urol* 1992;70:656-9.
52. Moller H, Prener A, Skakkebaek NE. Testicular cancer, cryptorchidism, inguinal hernia, testicular atrophy, and genital malformations: case-control studies in Denmark. *Cancer Causes Control* 1996;7:264-74.
53. Bani-Hani KE, Matani YS, Bani-Hani IH. Cryptorchidism and testicular neoplasia. *Saudi Med j* 2003 Feb;24(2):166-9.

54. Pike MC, Chilvers C, Peckham MJ. Effect of age at orchidopexy on risk of testicular cancer. *Lancet* 1986;1:1246-8.
55. Giwercman A, Grindsted J, Hansen B, et al. Testicular cancer risk in boys with maldescended testis: a cohort study. *J Urol* 1987;138:1214-6.
56. Prener A, Engholm G, Jensen OM. Genital anomalies and risk for testicular cancer in Danish men. *Epidemiology* 1996;7:14-9.
57. Skakkebaek NE, Holm M, Høi-Hansen C, et al. Association between testicular dysgenesis syndrome and testicular neoplasia: evidence from 20 adult patients with signs of maldevelopment of the testis. *APMIS* 2003;111:1-11.
58. Høi-Hansen CE, Holm M, Rajpert-De Meyts E, et al. Histological evidence of testicular dysgenesis in contralateral biopsies from 218 patients with testicular germ cell cancer. *J Pathol* 2003;200:370-4.
59. Strohsnitter WC, Noller KL, Hoover RN, Robboy SJ, Palmer JR, Titus – Ernstoff L, et al. Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:545-51.
60. Akre O, Ekblom A, Hsieh CC, Trichopoulos D, Adami HO. Testicular nonseminoma and seminoma in relation to perinatal characteristics. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:883-9.
61. Osterlind A, Berthelsen JG, Abildgaard N, et al. Synchronous bilateral testicular germ cell tumors of different histologic type. Pathogenetic and practical implication of bilaterality in testicular germ cell tumors. *Cancer* 1991;68:1085-95.

62. Wanderas EH, Fossa SD, Tretli S. Risk of a second germ cell cancer after treatment of a primary germ cell cancer in 2201 Norwegian male patients. *Eur J Cancer* 1997;33:244-52.
63. Muñoz D, Mus A, Rebassa M, Ferrutxe J, Gutierrez C, Riera V, et al. Bilateral germ tumors of the testis. Report of 5 cases and review of the literature. *Actas Urol Esp* 2000 Sep;24(8):632-9.
64. Theodore Ch, Terrier-Lacombe MJ, Laplanche A, Benoit G, Fizazi K, Stamerra O, Wibault P. Bilateral germ-cell tumours: 22-year experience at the Institut Gustave Roussy. *Br j Cancer* 2004 Jan 12;90(1):55-59.
65. Anon. Social, behavioural and medical factors in the aetiology of testicular cancer: results from the UK study. UK Testicular Cancer Study Group. *Br J Cancer* 1994;70:513-20.
66. Stang A, Ahrens W, Baumgardt-Elms C, Bromen K, Stegmaier C, Jockel KH. Carpenters, Cabinetmakers, and risk of testicular germ cell cancer. *J Occup Environ Med* 2005 Mar;47(3):299-305.
67. Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, Barlow L, Blohme I, Forsberg B et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964-1986. *Int J Cancer* 1995;60:183-9.
68. Murray PG. Epstein-Barr virus in breast cancer: artefact or aetiological agent?. *J Pathol* 2006 Aug;209(4):427-429.
69. Lange PH. Fertility sigues in germ cell testicular tumor. In: *Testicular Malignance Update*. Postgraduate course. AUA 1996.

70. Siener R, Albers P, Kliesch S, et al. Fertility in patients with stage I non-seminomatous germ-cell tumors: analysis of the German prospective multicenter trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: abstr 752.
71. Oliver RTD. Epidemiology of testis cancer. In: *Comprehensive textbook of genitourinary oncology*. Vogelzang, Scardino, Shipley and Coffey Eds., Williams and Wilkins, Baltimores, USA: 1996; p. 923-31.
72. Jacobsen R, Bostofte E, Engholm G, Hansen J, Olsen JH, Skakkebaek NE, et al. Risk of testicular cancer in men with abnormal semen characteristics: cohort study. *BMJ* 2000;321:789-92.
73. Moller H, Skakkebaek NE. Risk of testicular cancer in subfertile men case-control study. *BMJ* 1999;318:559-62.
74. Lifschitz-Mercer B, Elliott DJ, Schreiber-Bramante L, Leider-Trejo L, Eisenthal A, Bar-Shira Maymon B. Intratubular germ cell neoplasia: associated infertility and review of the diagnostic modalities. *Int J Surg Pathol* 2001 Apr;9(2):93-8.
75. Doria-Rose VP, Lou Biggs M, Weiss NS. Subfertility and the risk of testicular germ cell tumors (United States). *Cancer Causes Control* 2005 Aug;(6):651-6.
76. Tal R, Holland R, Belenky A, Konichezky M, Baniel J. Incidental testicular tumors in infertile men. *Fertil Steril* 2004 Aug;82(2):469-71.
77. Bray F, Richiardi L, Ekblom A, Forman D, Pukkala E, Cuninkova M, et al. Do testicular seminoma and nonseminoma share the same etiology? Evidence from an age-period-cohort analysis of incidence trends in eight European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006 Apr;15(4):652-8.

78. Cuneo B. Note sur les lymphatiques du testicle. Bull Soc Anat (Paris) 1901;76:105.
79. Baldet P. Germ cell tumors of testis, current concepts. Ann Pathol 2001 Oct;21(5):399-410
80. Albers P, albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Cohn-Cedermark G, Horwich A, et al. Guidelines on testicular cancer. Eur Urol 2005 Dec;48(6):885-94.
81. Cózar JM, Tallada M, Espejo E. Etiopatogenia, historia natural y clínica de las neoplasias testiculares. En: Tratado de oncología urológica. Luis Resel Estévez, Jesús Moreno Sierra. Sanidad y Ediciones SL; 2003. p. 935-44.
82. Cespedes RD, Caballero RL, Peretsman SJ, Thompson IM. Cryptic presentations of germ cell tumors. J Am Coll Surg 1994 Mar;178(3):261-5.
83. Marcozzi D, Suner S. The nontraumatic acute scrotum. Emerg Med Clin North Am 2001;19(3):547-68.
84. Powles TB, Bhardwa J, Shamash J, Mandalia S, Oliver T. The changing presentation of germ cell tumours of the testis between 1983 and 2002. BJU Int 2005 Jun;95(9):1197-200.
85. Leiva O. Tumores de Testículo. En: Urología Vesalio. Editores: O. Leiva y L. Resel, ENE ediciones, Madrid: 1992. p. 495-519.
86. Cáncer testicular germinal. En: Protocolos del Grupo Urooncológico de la Asociación Española de Urología. Editor Villavicencio H, ENE ediciones, Madrid:1996. p. 113-23.
87. Hindley RG, Chandra A, Saunders A, O'Brien TS. Impalpable testis cancer. BJU Int 2003 oct;92(6):572-4.

88. Blaivas M, Brannam L. Testicular ultrasound. *Emerg Med Clin North Am* 2004 Aug;22(3):723-48.
89. Akin EA, Khati NJ, Hill MC. Ultrasound of the scrotum. *Ultrasound Q* 2004 Dec;20(4):181-200.
90. Carmignani L, Morabito A, Gadda F, Bozzini G, Rocco F, Colpi GM. Prognostic parameters in adult impalpable ultrasonographic lesions of the testicle. *J Urol* 2005 Sep;174(3):1035-38.
91. Rifkin MD, Kurtz AB, Pasto ME, Goldberg BB. Diagnostic capabilities of high-resolution scrotal ultrasonography: prospective evaluation : *J Ultrasound Med* 1985;4:13-9.
92. Woodward PJ, Sohaey R, O'Donoghue MJ, Green DE. From the archives of the AFIP: tumors and tumorlike lesions of the testis: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 2002 Jan-Feb;22(1):189-216.
93. Backus ML, Mack LA, Middleton WD, et al. Testicular microlithiasis: imaging appearances and pathologic correlation. *Radiology* 1994;192:781.
94. Hobarth K, Szabo N, Klingler HC. Sonographic Appearance of Testicular Microlithiasis. *Eur Urol* 1993;24:251.
95. Hobarth K, Susani M, Szabo N. Incidente of testicular microlithiasis. *Urol* 1992;40:464.
96. Silvani M, Bossola PC, Pagani G, Minocci D. Testicular microlithiasis: unusual ultrasound finding. *Arch Ital Urol Androl* 2002 Dec;74(4):238-40.

97. Peterson AC, Barman JM, Lighy DE. The prevalence of testicular microlithiasis detected by scrotal duplex sonography in a select group of infertile men. *J Urol* 1994;152:1560.
98. Oosterhuis JW, Kersemaekers AMF, Jacobsen GK, Timmer A, Steyerberg EW, Molier M et al. Morphology of testicular parenchyma adjacent to germ cell tumours. An interim report. *APMIS* 2003;111:32-42.
99. Kim B, Winter TC 3rd, Ryu JA. Testicular microlithiasis: clinical significance and review of the literature. *Eur Radiol* 2003 Dec;13(12):2567-76.
100. Derogee M, Bevers RF, Prins HJ, Jonges TG, Elbers FH, Boon TA. Testicular microlithiasis, a premalignant condition: prevalence, histopathologic findings, and relation to testicular tumor. *Urology* 2001 Jun;57(6):1133-7.
101. Bach AM, Hann LE, Hadar O, Shi W, Yoo HH, Giess CS, et al. Testicular microlithiasis: what is its association with testicular cancer?. *Radiology* 2002 May;223(2):582-3.
102. Lopez JD, Chiapetta J, Anchelerguez R, Prats J. Intratesticular calcifications: clinical significance. *Actas Urol Esp* 2002 Feb;26(2):92-7.
103. Leinmuller R, Schmelz HU, Weissbach L. Testicular microlithiasis and testicular carcinoma: bilateral calcifications go with increased CIS risk. *Aktuelle Urol* 2004 Sep;35(5):367-9.
104. Nistal M, Garcia-Cabezas MA, Regadera J, Castillo MC. Microlithiasis of the epidymis and the rete testis. *Am J Surg Pathol* 2004 Apr;28(4):514-22.

105. Kocaoglu M, Bozlar U, Bulakbasi N, Saglam M, Ucoz T, Somuncu I. Testicular microlithiasis in pediatric age group: ultrasonography findings and literature review. *Diagn Interv radiol* 2005 Mar;11(1):60-5.
106. Schjerling L, Kvist E, Rasmussen SG, Wahlin AB. Testicular microlithiasis are biopsy and follow-up necessary?. *Ugeskr Laeger* 2002 Apr 8; 164(15):2041-5.
107. Ortiz MA, Buitrago S, Rodríguez F, Rosales JL, Martínez A, Vicente FJ, et al. Microlitiasis testicular y cancer de testículo. *Arch Esp Urol* 2003; 56(5):521-4.
108. Rodríguez N, Fernández GI, Pascual C, Espinales JA, Berenguer A. Microlitiasis testicular. *Arch Esp Urol* 2006;59(1):78-81.
109. Peterson AC, Bauman JM, Light DE et al. The prevalence of testicular microlithiasis in an asymptomatic population of men 18 to 35 years old. *J Urol* 2001;166:2061.
110. Rashid HH, Cos LR, Weinberg E, Messing EM. Testicular microlithiasis: a review and its association with testicular cancer. *Urol Oncol* 2004 Jul-aug;22(4):285-9.
111. Bussar R, Weissbach L. Retroperitoneal lymph node staging of testicular tumours: TNM Study group. *Br J Urol* 1993;72:234.
112. Stomper Pc, Jochelson MS, Garnick MB, Richie JP. Residual abdominal masses following chemotherapy for nonseminomatous testicular cancer: chemotherapy for nonseminomatous testicular cancer: correlacion of TC and histology. *AJR Am J Roentgenol* 1985;145:743.

113. Cremerius U, Effert P, Adam G, et al. FDG PET for detection and therapy control of metastatic germ cell tumour. *J Nucl Med* 1998;39:815-22.
114. Hain SF, O'Doherty MJ, Timothy AR, et al. Fluorodeoxyglucose PET in the initial staging of germ cell tumours. *Eur J Nucl Med* 2002;27:590-4.
115. Spermon JR, de Geus-Oei LF, Kiemeny LA, et al. The role of 18FDG-PET in initial staging and restaging after chemotherapy for testicular germ cell tumours. *BJU Int* 2002;89:549-56.
116. Cremerius U, Wildberger JE, Borchers H, et al. Does positron emission tomography using 18-fluoro-2-deoxyglucose improve clinical staging of testicular cancer?. Results of a study in 50 patients. *Urology* 1999;54:900-4.
117. De Santis M, Becherer A, Bokemeyer C, Stoiber F, Oechsle K, Sellner F, et al. 2-18fluoro-deoxy-D-glucose positron emission tomography is a reliable predictor for viable tumor in postchemotherapy seminoma: an update for the prospective multicentric SEMPET trial. *J Clin Oncol* 2004;22:1034-9.
118. Javadpour N. The role of biologic markers in testicular cancer. *Cancer* 1980;45:1755-61.
119. International Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG): A prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. *J Clin Oncol* 1997;67:293-8.
120. Germá JR, Garcia FX, Piulats JM. Marcadores tumorales en los tumores germinales de testículo. *Rev Cancer* 2003;17(5):184-90.
121. Salesi N, Di Cocco B, Alghisi F, Calabretta F, Bossone G. Testis cancer markers. Clinical use. *Minerva Med* 2002 Oct;93(5):915-22.

122. Germa JR, García FX, Tabernero JM. Utilidad de la gonadotropina coriónica y alfa-fetoproteína en los tumores germinales del testículo. En: Fundamentos fisiopatológicos y clínicos de los marcadores tumorales en urooncología. L. Resel y J Moreno (Eds). Pulso Ediciones, S.A. Barcelona; 1994.p. 217-31.
123. Bower M, Rustin G. Serum tumour markers and their role in monitoring germ cell cancers of the testis. In: Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology. NJ Vogelzang, WU Shipley, PT Scardino, DS Coffety, BJ Miles, eds 2nd Edition. Lippincott Williams&Wilkins: New York; 2000.p. 927-38.
124. Grigor DM. A new Classification of Germ Cell Tumours of the Testis. Eur Urol 1993;23:103.
125. Raghavan D, Sullivan AL, Peckham MJ, Neville AM. Elevated serum alpha-fetoprotein and seminoma: clinical evidence for a histologic continuum?. Cancer 1982;50:982-9.
126. Javadpour N. Significance of elevated serum alpha-fetoprotein in seminoma. Cancer 1980;45:2166-70.
127. Richie JP, Steele GS. Neoplasias del testículo. En Campbell Urología 8^a ed., Walsh, Retik, Vaughan, Wein, eds. Editorial Médica Panamericana; 2004. p. 3147-86.
128. Chan DW, Sell S. Tumour Markers. En: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Carol A, Burtin and Edward R. Ashwood. (eds) W:B: Saunders Company Philadelphia; 1994. p. 897-927.
129. Klein EA. Tumor markers in testis cancer: Urol Clin North Am 1993;20:67-73.

130. Pera MF, Blasco-Lafite MJ, Millis J. Cultured stem cells from human testicular teratomas: the nature of embryonal carcinoma and its comparison with two types of yolk sac carcinoma. *Int J Cancer* 1987;40:334-43.
131. Germá JR. HCG in Non –gynaecological Tumors. En: Ballesta AM, Torre GC, Bombardieri E, Gion M, Molina R, eds. *Up Dating on Tumor Markers in Tissues and in Biological Fluids. Basis Aspects and Clinical Application*. Torino. Edizioni Minerva Medica; 1993.p. 399-412.
132. Marcillac I, Troalen F, Biart JM, et al. Free human chorionic gonadotropin beta subunit and gonadal and no gonadal neoplasms. *Cancer Res* 1992;52:3901-7.
133. Goodarzi MO, Van Herle AJ, Thyrotoxicosis in a male patient associated with excess human chorionic gonadotropin production by germ cell tumor. *Thyroid* 2000;10:611.
134. von Eyben FE, Blaabjerg O, Hyltoft-Petersen P, Madsen EL, Amato R, Lin F, et al. Serum Lactate dehydrogenase isoenzyme I and prediction of death in patients with metastatic testicular germ cell tumors. *Clin chem Lab Med* 2001 Jan;39(1):38-44.
135. von Eyben FE, Lin F, Amato R, Fritsche HA. Lactate dehydrogenase isoenzyme I is the most important LDH isoenzyme in patients with testicular germ cell tumor. *Acta Oncol* 2000;39(4):509-17.
136. Von Eyben FE, Blaabjer O, Madsen EL, Petersen PH. Serum lactate dehydrogenase isoenzyme I and tumour volume are indicators of response to treatment and predictors of prognosis in metastatic testicular germ cell tumours. *Eur J Cancer* 1992;8:410-5.

137. Von Eyben FE, Madsen EL, Fritsche H, Suciú G, Liu F, Amato R. A new prognostic model for testicular germ cell tumours. *APMIS* 2003 Jan;111(1):100-5.
138. Peckham MJ, McElwain TJ, Barret A, et al. Combined management of malignant teratoma of the testis. *Lancet* 1979;2:267.
139. International Union Against Cancer (UICC): TNM Atlas. Illustrated Guide to the TNM/p TNM Classification of Malignant Tumours 1997.
140. UICC. TNM Classification of Malignant Tumours 2002. 6th Edition: Wiley & Sons: New York.
141. Cruceyra G, Martínez V, Gonzalez V, Leiva O. Tratamiento quirúrgico de los tumores de testículo de células germinales. *Rev Cancer* 2003;17(5):191-8.
142. Carver BS, Motzer RJ, Varuni Kondagunta G, Sogani PG, Sheinfeld J. Late relapse of testicular germ cell tumors. *Urol Oncol* 2005 Nov-Dec;23(6):441-5.
143. Sternberg CN. The management of stage I testis cancer. *Urol Clin North Am* 1998;25:435.
144. Einhorn LH. Chemotherapeutic and surgical strategies for germ cell tumors. *Chest Surg Clin N Am* 2002 Nov;12(4):695-706.
145. Schrader AJ, Ohlmann CH, Rossmanith S, Hofmann R, Heidenreich A. Impact of evidence-based interdisciplinary guidelines on testis cancer management. *Cancer* 2005 Dec;7:152-7.

146. Carver BS, Sheinfeld J. Germ cell tumors of the testis. *Ann Surg Oncol* 2005 Nov;12(11):871-80.
147. Fernandez T, Minana B, Chaves A, Guzman P, Hita G, Cuesta FJ, et al. Conservative treatment of germ cell tumor of the testis. *Actas Urol Esp* 2000 Nov-Dec;24(10):810-5.
148. Huyghe E, Soulie M, Escourrou G, Mieuxset R, Plante P, Thonneau P. Conservative management of small testicular tumors relative to carcinoma in situ prevalence. *The Journal of Urology* 2005;173:820-3.
149. Mottet N, Petit M. Conservative surgery for testicular tumours. *Prog Urol* 2004 Feb;14(1):15-18.
150. Kliesch S. Diagnosis and primary treatment of testicular tumor. *Urologe* 2004 Dec;43(12):494-9.
151. Rubio J, Solsona E. Tratamiento quirúrgico del tumor germinal de testículo estadio I. *Arch Esp de Urol* 2000;53(6):491-9.
152. Foster R, Donohue JP. Retroperitoneal lymph node dissection for the management of clinical stage nonseminoma. *J Urol* 2000;163:1788-92.
153. Donohue JP, Thornhill JA, Foster RS, et al. Primary retroperitoneal lymph node dissection in clinical stage I nonseminomatous germ cell testis cancer: a review of the Indiana University experience (1965-1989). *Br J Urol* 1993;71:326-35.
154. Hernández C, Castaño I, Escribano G. Linfadenectomía laparoscópica en el tratamiento de los tumores germinales no seminomatosos en estadio I. *Arch esp de Urol* 2000;53(6):500-4.

155. Stephenson AJ, Bosl GJ, Motzer RJ, Catan MW, Stasi J, Bajorin DF, Sheinfeld J. Retroperitoneal lymph node dissection for nonseminomatous germ cell testicular cancer: impact of patient selection factors on outcome. *J Clin Oncol* 2005 (23):2781-8.
156. Steyeberg EW, Gerl A, Fossa SD, et al. Validity of predictions of residual retroperitoneal mass histology in nonseminomatous testicular cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:269-74.
157. Gospodarowicz MK, Sturgeon JFG, Jewett MAS. Early stage and advanced seminoma: role of radiation therapy, surgery and chemotherapy. *Semin Oncol* 1998;25:160-73.
158. Kuczyk M, Machtens S, Stief C, Jonas U. Management of the post – chemotherapy residual mass in patients with advanced stage non-seminomaous germ cell tumors. *Int j Cancer* 1999;83:852-5.
159. Colpi GM, Contalbi GF, Nerva F, Sagone P, Piediferro G. Testicular function following chemo-radiotherapy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004 Apr 5;113 suppl 1:82-6.
160. Colpi GM, Grugnetti C, Mancini M. Management of infertility following treatment of testicular tumors. *Arch Ital Urol Androl* 2000 Apr;72(1):1-5.
161. Heidenreich A, Vorreuther R, Neubauer S. Paternity in patients with bilateral testicular germ cell tumors. *Eur Urol* 1997;31:246.
162. Dodds L, Marrett LD, Tomkins DJ et al. Case-control study of congenital anomalies in children of cancer patients. *BMJ* 1993;307:164.
163. Durán I, Robles L, Paz-Ares L, Cortés-Funes H. Tratamiento del cáncer de testículo recurrente. *Rev Cancer* 2003 17(5):219-28.

164. Josefsen D, Fossa S. The management strategies for stage I seminoma. *Clin Oncol* 2005 oct;17(7):539-42.
165. Mirimanoff RO. Radiotherapy of testicular seminoma: changes over the past 10 years. *Cancer Radiother* 2003 Nov;7 suppl 1:70-7.
166. Bauduceau O, Souleau B, Le-Moulec S, Houlgatte A, Bernard O. Radiotherapy in stage I testicular seminoma: retrospective study and review of literature. *Cancer Radiother* 2003 Dec;7(6):386-94.
167. Niazi TM, Souhami L, Sultanem K, Duclos M, Shenouda G, Freeman C. Long-term results of para-aortic irradiation for patients with stage I seminoma of the testis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005 Mar 1;61(3):741-4.
168. Jones WG, Fossa SD, Mead GM, Roberts JT, Sokal M, Naylor S, et al. A randomised trial of two radiotherapy schedules in the adjuvant treatment of stage I seminoma (MRC TE 18) *Eur J Cancer* 2001;37(suppl 6) S 157.
169. Power RE, Kennedy J, Crown J, Fraser I, Thornhill JA. Pelvic recurrence in stage I seminoma: a new phenomenon that questions modern protocols for radiotherapy an follow-up. *Int J Urol* 2005 Apr;12(4):378-82.
170. Osterlind A, Rorth M, Prener A. Second cancer following cancer of the male genital system in Denmark, 1943-80. *Natl Cancer Inst Monogr* 1985;68:341-3.
171. Fossa SD, Aass N, Kaalhus O. Long term morbidity after infradiaphragmatic radiotherapy in young men with testicular cancer. *Cancer* 1989;64:404-8.

172. Servagi-Vernat S, Crehange G, Lorchel F, Bontemps P, Bosset JF. Second malignancies after radiotherapy for testicular seminoma: 2 cases. *Cancer Radiother* 2006 May;10(3):145-7.
173. Browne TJ, Richie JP, Gilligan TD, Rubin MA. Intertubular growth in pure seminomas: associations with poor prognostic parameters. *Hum Pathol* 2005 Jun;36(6):640-5.
174. Warde P, Specht I, Horwich A. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance a pooled analysis. *J Clin Oncol* 2002;21:4448-4452.
175. Alomary I, Samant R, Gallart V. Treatment of stage I seminoma: a 15-year review. *Urol Oncol* 2006 May-Jun;24(3):180-3.
176. Antoni R, Barbera F, Bertoni F, et al. Stage I seminoma of the testis: a bi-institutional retrospective analysis of patients treated with radiation therapy only. *BJU Int* 2003 Jul;92(1):47-52.
177. Garcia-Serra AM, Zlotecki RA, Morris CG, Amdur RJ. Long-term results of radiotherapy for early-stage testicular seminoma. *Am J Clin Oncol* 2005 Apr;28(2):119-24.
178. Krege S, Kalund G, Otto T, Goepel M, Rubben H, Phase II study: adjuvant single-agent carboplatin therapy for clinical stage I seminoma. *Eur urol* 1997;31(4):405-7.
179. Warde P, Gospodarowicz M. Adjuvant carboplatin in stage I seminoma. *Lancet* 2005 Jul 23-29;366 (9482):293-300.

180. Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, et al. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial. *Lancet* 2005 jul 23-29;366(9482):293-300.
181. Aparicio J, Germa JR, Garcia X, Maroto P, Arranz JA, Saenz A, et al. The Second Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group. Risk-adapted management for patients with clinical stage I seminoma: the second spanish germ cell cancer cooperative group study. *J Clin Oncol* 2005 Dec 1;23(34):8717-23.
182. Rowland RG. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, de Wit R, Aass N, Graham JD, Coleman R, Kira SJ, Stenning SP, MRC TE19 Collaborators and the EORTC 30982 Collaborators, Department of Medical Oncology, St. Bart's and the London Hospital, London, United Kingdom. *Urol Oncol* 2006 Mar-Apr;24(2):175.
183. Christoph F, Weikert S, Miller K, Schrader M. New guidelines for clinical stage I testicular seminoma?. *Oncology* 2005; 69(6):455-62.
184. Classen J, Schmidberger H, Meisner C, et al. Radiotherapy for stages IIA/IIB testicular seminoma: final report of a prospective multicenter clinical trial. *J Clin Oncol* 2003 Mar15;21(6):1101-6.
185. Bezares S, Lianes P, Villar L, Cardona T, Badía A. Quimioterapia en pacientes con tumores de células germinales. *Rev Cancer* 2003;17(5):205-18.

186. Bhala N, Coleman JM, Radstone CR, Horsman JM, George J, Hancock BW. The management and survival of patients with advanced germ-cell tumours: Improving outcome in intermediate and poor prognosis patients. *Clinical Oncology* 2004;16:40-7.
187. Bohlen D, Borner M, Sonntag RW, Fey MF, Studer UE. Long-term results following adjuvant chemotherapy in malignant germ cell tumors with high risk factors. *J Urol* 1999 Apr;161(4):1148-52.
188. Jones RH, Vasey PA. Testicular cancer-management of early disease. *The Lancet Oncology* 2003;4:730-7.
189. Stephenson AJ, Sheinfeld J. Management of patients with low-stage nonseminomatous germ cell testicular cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2005 Sep;6(5):367-77.
190. Sternberg CN. Tratamiento del cancer testicular en estadio I. En: *Clínicas de Urología de Norteamérica* Eds, Meter R, Carroll MD, Joseph C, Presti Jr MD. Editorial McGraw-Hill Interamericana;1998. p. 473-89.
191. Al Ghamdi AM, Jewett MA. Stage I nonseminomatous germ cell tumours: the case for management by risk stratification. *Can J Urol* 2005 Feb;12 suppl 1:62-5.
192. Read G, Stenning SP, Cullen MH, et al. Medical Research Council Prospective study of surveillance for stage I testicular teratoma. *J Clin Oncol* 1992; 10:1762-8.
193. Sogani PC, Perrotti M, Herr HW, et al. Clinical stage I testis cancer: long-term outcome of patients on surveillance. *J Urol* 1998;159:855-62.

194. Vergouve Y, Steyerberg EW, Eijkemans MJ, Albers P, Habbema JD. Predictors of occult metastasis in clinical stage I nonseminoma: a systematic review J Clin Oncol 2003 Nov15,21;22:4092-9.
195. Dixon FJ, Moore RA. Tumors of the male sex organs. En: Atlas of tumor Pathology. Washington DC. AFIP; 1952.
196. Mostofi FK, Price EB. Tumors of the male genital system. En: Atlas of tumor Pathology. Washington DC. AFIP; 1973.
197. Mostofi FK, Sobin LH. Tipos histológicos de Tumores del Testículo. Clasificación Histológica Internacional de Tumores. Ginebra, OMS 1977 n° 16.
198. Collins DH, Pugh RC. The pathology of testicular tumours. Br J Urol 1964;136(suppl):1-112.
199. Bredael JJ, Vugrin D, Whitmore WF. Autopsy findings in 154 patients with germ cell tumors of the testis. Cancer. 1982;50:548-51.
200. Johnson DE, Appelt G, Samuels ML, Luna M. Metastases from testicular carcinoma. Study of 78 autopsied cases. Urology 1976;8:234-9.
201. El-Naggar AK, Ro JY, McLemore D, Ayala AG, Batsakis JG. DNA ploidy in testicular germ cell neoplasms. Histogenetic and clinical implications. Am J Surg Pathol 1992;16:611-8.
202. Lachman MF, Ricci A, Kosciol C. DNA ploidy in testicular germ cell tumors: can an atypical seminoma be identified? Conn Med 1995;59:133-6.

203. Oosterhuis JW, Castedo SM, de Jong B, et al. Ploidy of primary germ cell tumors of the testis. Pathogenetic and clinical relevance. *Lab Invest* 1989;60:14-21.
204. Mostofi FK. Pathology of germ cell tumors of testis: a progress report. *Cancer* 1980;45:1735-54.
205. Boseman FT, Giard RW, Kruseman AC, Knijnenburg G, Spaander PJ. Human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein in testicular germ cell tumors: a retrospective immunohistochemical study. *Histopathology* 1980;4:673-84.
206. Nistal M, Paniagua R. Tumores germinales testiculares. En: Algaba F, editor. *Patología del cáncer urogenital. Actualizaciones Urológicas: Pulso ediciones, Barcelona; 1990. p. 109-75.*
207. Damjanov I. Is seminoma a relative or a precursor of embryonal carcinoma? *Lab Invest* 1989;60:1-3.
208. Srigley JR, Mackay B, Toth P, Ayala A. The ultrastructure and histogenesis of male germ cell neoplasia with emphasis on seminoma with early carcinomatous features. *Ultrastr Pathol* 1988;12:67-86.
209. Czaja JT, Ulbright TM. Evidence for the transformation of seminoma to yolk sac tumor, with histogenetic considerations. *Am J Clin Pathol* 1992;97:468-77.
210. Skakkebaek NE. Possible carcinoma in situ of the testis. *Lancet* 1972; 1:516-7.
211. Serrano A, González-Peramato P, Regadra J, Nistal M. Carcinoma in situ testicular. *Actualidad en Urología. Publicaciones acción médica. 2003.*

212. Ulbright TM, Roth LM. Testicular and paratesticular neoplasms. In: Sternberg SS, Ed. Diagnostic surgical pathology. New York: Raven Press; 1994. p.1885-1974.
213. Algaba F. Claves morfológicas para la interpretación de la biología de los tumores germinales de testículo. Arch Esp Urol 2000;53:407-21.
214. Chechile GE, Algaba F, Solsona, Villavicencio H, Vicente J. Lesiones premalignas de los tumores germinales testiculares. En : Lesiones premalignas de los tumores urológicos. Valoración clínico-patológico-molecular. Tema Monográfico LXIII Congreso Nacional de Urología. ENE ediciones, Madrid, 1998;107-16.
215. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the testis, adnexa, spermatic cord and scrotum. In: Atlas of Tumor Pathology, third Series, Fascicle 25, Washington (DC). AFIP; 1999. p.1-173.
216. Azzopardi JG, Mostofi FK, Theiss EA. Lesions of the testes observed in certain patients with widespread choriocarcinoma and related tumors. Am J Pathol 1961;38:207-25.
217. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology, vol. 1, Mosby St Louis 1981:889.
218. Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Muller J. Carcinoma in situ of the undescended testis. Urol Clin North Am 1982;9:377-385.
219. Nistal N, González-Peramato P, Regadera J. Anatomía Patológica de las neoplasias testiculares. En: Tratado de oncología urológica. Luis Resel Estévez, Jesús Moreno Sierra. Sanidad y Ediciones SL; 2003. p.977-96.
220. Montironi R. Intratubular germ cell neoplasia of the testis: testicular intraepithelial neoplasia. Eur Urol 2002 Jun;41(6):651-4.

221. Linke J, Loy V, Dieckmann K. Prevalence of testicular intraepithelial neoplasia in healthy males. *The Journal of Urology* 2005 May;173:1577-9.
222. Skakkebaek NE, Berhelsen JG, Giwecman A, Muller J. Carcinoma in situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *Int J Androl* 1987;10:19-28.
223. Hu LM, Phillipson J, Barsky SH. Intratubular germ cell neoplasia in infantile yolk sac tumor. Verification by tandem repeat sequence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* 1992;1:118-28.
224. Stamp IM, Barlebo H, Rix M, Jacobser GK. Intratubular germ cell neoplasia in an infantile testis with immature teratoma. *Histopathology* 1993;22:69-72.
225. Looijenga LH, Oosterhuis JW. Pathogenesis of testicular germ cell tumours. *Rev Reprod* 1999;4:90-100.
226. von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:1398-401.
227. Dieckmann KP, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features. *Int J Cancer* 1999 Dec 10;83(6):815-822.
228. Jacobsen GK, Henriksen OB, von der Maase H. Carcinoma in situ of testicular tissue adjacent to malignant germ-cell tumors: a study of 105 cases. *Cancer* 1981;47:2660-2.

229. Cheville JC. Clasificación y anatomía patológica de los tumores testiculares de células germinales y el estroma. En: Clínicas de Urología de Norteamérica. Bostwick MD, ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana 1999. p.629-45.
230. Giwercman A, von der Maase H, Skakkebaek NE. Epidemiological and clinical aspects of carcinoma in situ of the testis. *Eur Urol* 1993;23:104-14.
231. Gillis AJ, Looijenga LH, de Jong B, Oosterhuis JW. Clonality of combined testicular germ cell tumors of adults. *Lab Invest* 1994;71:874-8.
232. van Echten J, van Gurp RJ, Stopker M, Looijenga LH, de Jong J, Oosterhuis W. Cytogenetic evidence that carcinoma in situ is the precursor lesion for invasive testicular germ cell tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;85:133-7.
233. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Cheng L. OCT4: A sensitive and specific biomarker for intratubular germ cell neoplasia of the testis. *Clin Cancer Res* 2004 Dec 15;10(24):8544-7.
234. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Baldrige LA, Cheng L. OCT4 staining in testicular tumors: a sensitive and specific marker for seminoma and embryonal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2004 Jul;28(7):935-40.
235. Hong SM, Frierson HF Jr, Moskaluk CA. AP-2gamma protein expression in intratubular germ cell neoplasia of testis. *Am J Clin Pathol* 2005 Dec;124(6):873-7.
236. Hoei-Hansen CE, Rajpert-De Meyts E, Kaugaard G, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ testis, the progenitor of testicular germ cell tumours: a clinical review. *Ann Oncol* 2005 Jun;16(6):863-8.

237. Giwercman A, Müller J, Skakkebaek NE. Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes from 399 men who died suddenly and unexpectedly. *J Urol* 1991;145:77-80.
238. Cruz NA, Mayayo T, Cuesta C, Arias, Sanchez M, Escudero A. Testicular embryonal carcinoma with contralateral synchronous intratubular germ cell neoplasia: analysis of a case. *Actas Urol Esp* 2000 Jun;24(6):491-5.
239. Tabernero J, Paz-Ares L, Salazar R, Lianes P, Guerra J, Borrás J, et al. Incidence of contralateral germ cell testicular tumors in South Europe: report of the experience at 2 Spanish university hospitals and review of the literature. *J Urol* 2004 Jan;171(1):164-7.
240. Kliesch S, Thomaidis T, Schutte B, Puhse G, Kater B, Roth S, Bergmann M. Update on the diagnostic safety for detection of testicular intraepithelial neoplasia. *APMIS* 2003 Jan;111(1):70-4.
241. Dieckmann KP, Classen J, Loy V. Diagnosis and management of testicular intraepithelial neoplasia (carcinoma in situ) surgical aspects. *APMIS* 2003 Jan;111(1):64-8.
242. Ramani P, Yeung CK, Habeebu SS. Testicular intratubular germ cell neoplasia in children and adolescent intersex. *Am J Surg Pathol* 1993 Nov;17(11):1124-33.
243. Oosterhuis JW, Kersemaekers AMF, Jacobsen GK, Timmer A, Steryberg EW, Molier M, et al. Morphology of testicular parenchyma adjacent to germ cell tumours. An interim report. *APMIS* 2003;11:32-42.
244. Scully RE. Testis. In: Henson DE, Albores-Saavedra J, eds. *The pathology of incipient neoplasia*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders;1993. p.384-400.

245. Soosay GN, Bobrow L, Happerfield L, Parkinson MC. Morphology and immunohistochemistry of carcinoma in situ adjacent to germ cell tumours in adults and children: implications for histogenetic. *Histopathology* 1991 Dec;19(6):537-44.
246. Berney DM, Lee A, Randle SJ, Jordan S, Shamash J, Oliver RT. The frequency of intratubular embryonal carcinoma: implications for the pathogenesis of germ cell tumours. *Histopathology* 2004 Aug;45(2):155-61.
247. Giwercman A, Cantell L, Marks A. Placental-like alkaline phosphatase as a marker of carcinoma in situ of the testis. Comparison with monoclonal antibodies A2A and 43-9F. *APMIS* 1991;99:586-94.
248. Burke AP, Mostofi FK. Intratubular malignant germ cells in testicular biopsies: clinical course and identification by staining for placental alkaline phosphatase. *Mod Pathol* 1988;1:475-9.
249. Schreiber L, Lifschitz-Mercer B, Paz G, Yavetz H, Elliott DJ, Kula K, et al. Double immunolabeling by the RBM and the PLAP markers for identifying intratubular (in situ) germ cell neoplasia of the testis. *Int J Surg Pathol* 2003 Jan;11(1):17-20.
250. Slowikowska-Hilczer J, Walczad-Jedrzejska R, Kula K. Immunohistochemical diagnosis of preinvasive germ cell cancer of the testis. *Folia Histochem Cytobiol* 2001; 39(2):67-72.
251. Burke AP, Mostofi FK. Placental alkaline phosphatase immunohistochemistry of intratubular malignant germ cells and associated testicular germ cell tumours. *Human Pathol* 1988;19:663-70.

252. Yarden Y, Kuang W-J, Yang-Feng T, Coussens L, Munemits S, Dull TJ. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987;6:3341-51.
253. Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, Besmer P, Bernstein A. The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. *Nature* 1988;335:88-9.
254. Izquierdo MA, van der Valk P, van Ark-Otte J, Rubio G, Germa-Lluch JR, Ueda R, et al. Differential expresión of the c-kit proto-oncogene in germ cell tumours. *J Pathol* 1995;177:253-8.
255. Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Expresión of the c-kit protein product in carcinoma in situ and invasive testicular germ cell tumours. *Int J Androl.* 1994 Apr;17(2):85-92.
256. Bokemeyer C, Kuczyk MA, Dunn T, Serth J, Hartmann K, Jonasson J, et al. Expression of ítem-cell factor and its receptor c-kit protein in normal testicular tissue and malignant germ-cell tumours. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996;122(5):301-6.
257. Jorgensen N, Rajpert-De-Meyts E, Graem N, Muller J, Giwercman A, Skakkebaek NE. Expression of immunohistochemical markers for testicular carcinoma in situ by normal human fetal germ cells. *Lab Invest* 1995; 72: 223-31.
258. Rajpert-De-Meyts E, Jorgensen N, Brondum-Nielsen K, Müller J, Skakkebaek NE. Developmental arrest of germ cells in the pathogenesis of germ cell neoplasia. *AMPIS* 1998;106:198-206.

259. Looijenga LH, Stoop H, de Leeuw HP, et al. POU5F1(OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res* 2003;63:2244-50.
260. Jones TD, Maclennan GT, Bonnin JM, Varsegi MF, Blair JE, Cheng L. Screening for Intratubular Germ Cell Neoplasia of the Testis Using OCT4 Immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol* 2006 Nov;30(11):1427-31.
261. de Jong J, Stop H, Dohle GR, Bangla CH, Kliffen M, van Esser JW, van den Bent M, Kros JM, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Diagnostic value of OCT3/4 for pre-invasive and invasive testicular germ cell tumors. *J Pathol* 2005 Jun;206(2):242-249.
262. Emerson RE, Ulbright TM. The use of immunohistochemistry in the differential diagnosis of tumors of the testis and paratestis. *Semin Diagn Pathol* 2005 Feb;22(1):33-50.
263. Müller J, Skakkebaek NE. Microspectrophotometric DNA measurements of carcinoma in situ germ cells in the testis. *Int J Androl (suppl 4)* 1981;211-20.
264. De Graaff W, Oosterhuis JW, De Jong B, Dam A, Van Putten WL, Castedo SM, Sleijfer DT, Scharaffordt Koops H. Ploidy of testicular carcinoma in situ. *Lab Invest* 1992;66:166-8.
265. Looijenga LH, Zafarana G, Grygalewicz B, Summersgill B, Debiec-Rychter M, Veltman J. Role of gain of 12p in germ cell tumour development. *APMIS* 2003 Jan;111(1):161-71.

266. Chaganti RSK, Mrty V, Bolsi GJ. Molecular Genetics of male germ cell tumors. In: Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology. Vogelzang, Scardino, Shipley and Coffey Eds., Williams and Wilkins, Baltimore, USA; 1996. p.932-40.
267. Voss AM, Ossterhuis JW, de Jong B, Buist J, Schraffordt Koops H. Cytogenetics of carcinoma in situ of the testis. *Cancer Genet Cytogenetics* 1990;48:143-67.
268. Vorechovsky I, Mazanec K. Cytogenetic investigation of gonadal carcinomas in situ in syndromes of abnormal sexual differentiation. *Recent Results Cancer Res* 1991;123:45-9.
269. Rosenber C, van Gurp RJ, Geelen E, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Overrepresentation of the short arm of chromosome 12 is related to invasive growth of human testicular seminoma and nonseminomas. *Oncogene* 2000;19:5858-62.
270. Looijenga LH, Rosenberg C, van Gurp RJ, Geelen E, Echten_Arends J, de Jong B, Mostert M, Oosterhuis WJ. Comparative genomic hybridization of microdissected samples from different stages in the development of a seminoma and a non-seminoma. *J Pathol* 2000;191:187-92.
271. Summersgill B, Osin P, Lu YJ, Huddart R, Shipley J. Chromosomal imbalances associated with carcinoma in situ and associated testicular germ cell tumours of adolescents and adults. *Br J Cancer* 2001 Jul 20;85(2):213-20.
272. Skotheim RI, Lothe RA. The testicular germ cell tumour genome. *APMIS*. 2003 Jan;111(1):136-50.

273. Chaganti RSK, Houldsworth J. The cytogenetic theory of the pathogenesis of human adult male germ cell tumours. *APMIS* 1998;106:80-4.
274. Roelofs H, Mostert MMC, Pompe K, Zafarana G, van Oorschot M, van Gurp R, et al. Restricted 12p-amplification and RAS mutation in the development and clinical behaviour of human testicular germ cell tumors of adult testis. *AMJ Pathol* 2000;157:1155-66.
275. Almstrup K, Ottesen AM, Sonne SB, Hoei-Hansen CE, Leffers H, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Genomic and gene expression signature of the pre-invasive testicular carcinoma in situ. *Cell Tissue Res* 2005 Apr; 22:150-6.
276. Ottesen AM, Skakkebaek NE, Lundsteen C, Leffers H, Larsen J, Rajpert-de Meyts E. High-resolution comparative genomic hybridization detects extra chromosome arm 12p material in most cases of carcinoma in situ adjacent to overt germ cell tumors, but not before the invasive tumor development. *Genes Chromosomes Cancer* 2003 Oct;38(2):117-25.
277. Lenz S, Skakkebaek NE, Hertel NT. Abnormal ultrasonic pattern in contralateral testes in patients with unilateral testicular cancer. *World J Urol* 1996;14 Suppl (1):55-58.
278. Herr HW, Sheinfeld J. Is biopsy of the contralateral testis necessary in patients with germ cell tumors?. *J Urol* 1997;158:1331-4.
279. Rorth M, Rajpert-De Meyts E, Anderson L. Carcinoma in situ in the testis. *Scand J Urol Nephrol* 2000;205 (Suppl.):166-86.

280. Winstanley AM, Mikuz G, Debruyne F, Schulman CC, Parkinson M, and European Association of Pathologists, Uro pathology Division in Florence: Handling and reporting of biopsy and surgical specimens of testicular cancer. *Eur Urol* 2004;45:564.
281. Dieckmann KP, Heinemann V, Frey U, Pichlmeier U. How Harmful is contralateral testicular biopsy?. An analysis of serial imaging studies and a prospective evaluation of surgical complications. *European Urology* 2005;48:662-72.
282. Dieckmann KP, Loy V. False negative biopsies for the diagnosis of testicular intraepithelial neoplasia. *Eur Urol* 2003;43:516-21.
283. Kliesch S, Thomaidis T, Schutte B, Puhse G, Kater B, Roth S, et al. Update on the diagnostic safety for detection of testicular intraepithelial neoplasia. *APMIS* 2003 Jan;111(1):70-4.
284. Souchon R, Gertenbach U, Dieckmann KP, Hahn E, Ruwe M, Stambolis C, Loy V, Classen J. Contralateral testicular cancer in spite of TIN-negative double biopsias and interval cisplatin chemotherapy. *Strahlenther Onkol* 2006 May;182(5):289-92.
285. Brunn E, Frimodt-Moller C, Giwercman A, Lenz S, Skakkebaek NE. Testicular biopsy as an outpatient procedure in screening for carcinoma in situ: complications and patient's acceptance. *Int J Androl* 1987;10:99.
286. Manning M, Junnermann KP, Alken P. Decrease in testosterone blood concentrations after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic men. *Lancet* 1998;352:37-43.

287. Harland SJ, Cook PA, Fossa SD, Horwich A, Mead GM, Parkinson MC, et al. Intratubular germ cell neoplasia of contralateral testis in testicular cancer: defining high risk group. *J Urol* 1998;160:1353-7.
288. Heidenreich A, Moul JW. Contralateral testicular biopsy procedure in patients with unilateral testis cancer: is it indicated? *Sem Urol Oncol* 2002;20(4):234-8.
289. Nagler HM, Kaufman DG, O'Toole KM, Sawczuk IS. Carcinoma in situ of the testes: diagnosis by aspiration flow cytometry. *J Urol* 1990;143:359-61.
290. Heikkila R, Heilo A, Stenwig AE, Fossa SD. Testicular ultrasonography and 18 G biopsy for clinically undetected cancer or carcinoma in situ in patients with germ cell tumours *Br J Urol* 1993;71:214-6.
291. Lorenzo Gomez MF. Usefulness of fine needle aspiration puncture in the diagnosis of testicular neoplasms and in the study of testicular physiopathology. *Arch Esp Urol* 2000 Jul-Aug;53(6):433-42.
292. Dieckmann KP, Classen J, Souchon R, Loy V. Management of testicular intraepithelial neoplasia (TIN) a review principles of evidence-based medicine. *Wien Klin Wochenschr* 2001 Jan 15;113(1-2):7-14.
293. Dieckmann KP, Classen J, Loy V. Diagnosis and management of testicular intraepithelial neoplasia (carcinoma in situ) surgical aspects. *APMIS* 2003 Jan;111(1):64-8.
294. Classen J, Dieckmann K, Bamberg M, Souchon R, Kliesch S, Kuehn M, et al. German Testicular Cancer Study Group. Radiotherapy with 16 Gy may fail to eradicate testicular intraepithelial neoplasia: preliminary communication of a dose reduction trial of the German Testicular Cancer Study Group. *Br J Cancer* 2003 Mar 24;88(6):828-31.

295. Petersen PM, Daugaard G, Rorth M, Skakkebaek NE. Endocrine function in patients treated for carcinoma in situ in the testis with irradiation. *APMIS* 2003 Jan;111(1):93-98.
296. Dieckmann KP, Lauke H, Michl U, Winter E, Loy V. Testicular germ cell cancer despite previous local radiotherapy to the testis. *Eur Urol* 2002 Jun;41(6):643-9.
297. Dieckmann KP, Loy V. Intratesticular effects of cisplatin-based chemotherapy. *Eur Urol* 1995;28(1):25.
298. Christensen TB, Daugaard G, Geertsen PF, von der Maase H. Effect of chemotherapy on carcinoma in situ of the testis. *Ann Oncol* 1998;9:657-60.
299. Dieckmann KP, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features. *Int J Cancer* 1999 Dec 10;83(6):815-22.
300. Fernández JM, Guate JL, Martín A, Fresno F, Bramada S, García J. Presentación clínica del cáncer germinal de testículo. *Arch Esp Urol* 2002;55(8):915-22.
301. Mostofi FK, Spaander P, Grigor K, et al. Consensus on pathological classifications of testicular tumours. *Prog Clin Biol Res* 1990;357:267.
302. Gudbjartsson T, Magnusson K, Bergthorsson J. A population-based analysis of increased incidence and improved survival of testicular cancer patients in Iceland. *Scand J Urol Nephrol* 2003;37(4):292-308.
303. Horwich A. Testicular germ cell tumours: an introductory overview. In: Horwich A, ed. *Testicular Cancer: Investigation and Management*. Baltimore: Williams and Wilkins;1991. p.1-13.

304. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Lohrs U. Prognostic factors in seminomas with special respect to HCG:results of a prospective multicenter study Seminoma Study Group. *Eur Urol* 1999;36:601-8.
305. Hori K, Uematsu K, Yasoshima H, Yamada A, Sakurai K, Ohya M. Testicular seminoma with human chorionic gonadotropin production. *Pathol Int* 1997 Sep;47(9):592-9.
306. Damjanov I, Osborn M, Miettinen M. Keratin 7 is a marker for a subset of trophoblastic cells in human germ cell tumors. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114:81-3.
307. Percarpio B, Clements JC, McLeod DG, Sorgen SD, Cardinale FS. Anaplastic seminoma. An analysis of 77 patients. *Cancer* 1979;43:2510-3.
308. Zuckman MH, Williams G, Levin HS. Mitosis counting in seminoma: an exercise of questionable significance. *Hum Pathol* 1988;19:329-35.
309. Hartmann M, Pottek T, Bussar-Maatz R, Wissbach L. Elevated human chorionic gonadotropin concentrations in the testicular vein and in peripheral venous blood in seminoma patients: An analysis of various parameters. *Eur Urol* 1997; 31:408-13.
310. Ruther U, Rothe B, Grunert K, Bader H, Sessler R, Nunnensiek C, et al. Role of human chorionic gonadotropin in patients with pure seminoma. *Eur Urol* 1994;26(2):129-33.
311. Nazeer T, Ro YY, Amato RJ, Park YW, Ordoñez NG, Ayala AG. Histologically pure seminoma with elevated alpha-fetoprotein: a clinicopathologic study of ten cases. *Oncol Rep* 1998 Nov-Dec;5(6):1425-6.

312. Yuasa T, Yoshiki T, Ogawa O, Tanaka T, Isono T, Mishina M, et al. Detection of alpha-fetoprotein mRNA in seminoma. *J Androl* 1999 May-Jun;20(3):336-40.
313. Juretic A, Spagnoli GC, Schultz-Thater E, Sarcevic B. Cancer testis tumour associated antigens: immunohistochemical detection monoclonal antibodies. *Lancet Oncol* 2003 Feb;4(2):104-9.
314. Manivel JC, Jessurun J, Wick MR, Dehner LP. Placental alkaline phosphatase immunoreactivity in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 1987;11:21-9.
315. Wick MR, Swanson PE, Manivel JC. Placental-like alkaline phosphatase reactivity in human tumors: an immunohistochemical study of 520 cases. *Hum Pathol* 1987;18:946-54.
316. Leroy X, Augusto D, Leteurtre E, Gosselin B. CD30 and CD117(c-kit) used in combination are useful for distinguishin embryonal carcinoma from seminoma. *J Histochem Cytochem* 2002 Feb;50(2):283-5.
317. Nakai Y, Nonomura N, Oka D, Shiba M, Arai Y, Nakayama M et al. KIT (c-kit oncogene product) pathway is constitively activated in human testicular germ cell tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 Nov 11;337(1):289-96.
318. Tickoo SK, Hutchinson B, Bacik J, Mazumdar M, Motzer RJ, Bajorin DF, et al. Testicular seminoma a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 cases with special reference to seminomas with atypical features. *Int J Surg Pathol* 2002;10:23-32.

319. Teng LLH, Lu DH, Xu QZ, Fu YJ, Yang H, He ZL. Expresión and diagnostic significance of OCT4, CD117 and CD30 in germ cell tumors. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2005 Nov;34(11):711-5.
320. Cheville JC, Sudha Rao MD, Iczhowski MD, Lohse CM, Pankratz S. Cytokeratin Expression in Seminoma of the Human Testis. *Am J Clin Pathol* 2000;113:583-8.
321. Hittmair A, Rogatsch H, Hobisch A, Mikuz G, Geichtinger H. CD30 expression in seminoma. *Hum Pathol* 1996;27:1166-71.
322. Franke FE, Pauls K, Serkman L, Steger K, Fink L, Burkhardt E et al. CD143 expression in testicular germ cell tumors. *Verh Dtsch Ges Pathol* 2000;84:199-209.
323. Masson P. Etude sur le seminoma. *Rev Can Biol* 1946;5:361-87.
324. Talerman A. Spermatocytic seminoma: clinicopathological study of 22 cases. *Cancer* 1980;45:2169-2176.
325. Burke AP, Mostofi FK. Spermatocytic seminoma: A clinicopathologic study of 79 cases. *J Urol Pathol* 1993;1:21-32.
326. Jacobsen GK, Barlebo H, Olsen J. Testicular germ cell tumors in Denmark 1976-1980: pathology of 1058 consecutive cases. *Acta Radiol Oncol* 1984;23:293-347.
327. Rajpert-De Meyts E, Jacobsen GK, Bartkova J, Aubry F, Samson M, Basted J, et al. The immunohistochemical expression pattern of Chk2, p53, p19, MAGE-A4, and other selected antigens provides new evidence for the premeiótico origin of spermatocytic seminoma. *Histopathology* 2003;42:217-26.

328. Verdorfer I, Rogatsch H, Tzankov A, Steiner H, Mikuz G. Molecular cytogenetic analysis of human spermatocytic seminomas. *J Pathol* 2004;3:277-81.
329. Cummings OW, Ulbright TM, Eble JN, Roth LM. Spermatocytic seminoma: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1994;25:54-9.
330. Satie AP, Rajpert-De Meyts E, Spagnoli GC, Henno S, Olivo L, Jacobsen GK, et al. The cancer testis gene, NY-ESO-1, is expressed in normal fetal and adult testes and in spermatocytic seminomas and testicular carcinoma in situ. *Lab Invest* 2002;82:775-80.
331. Decaussin M, Borda A, Bouvier R, Ruffion A, David C, Agard C, et al. Spermatocytic seminoma. A clinicopathological and immunohistochemical study of 7 cases. *Ann Pathol* 2004 Apr;24(2):161-6.
332. Matoska J, Ondrus D, Hornak M. Metastatic spermatocytic seminoma. A case report with light microscopic, ultrastructural, and immunohistochemical findings. *Cancer* 1988;62:1197-201.
333. Steiner H, Gozzi C, Verdorfer I, Mikuz G, Bartsch G, Hobisch A. Metastatic Spermatocytic Seminoma: an extremely rare disease. *Eur Urol* 2006;24:183-6.
334. Eble JN. Spermatocytic seminoma. *Hum Pathol* 1994;25:1035-42.
335. Chelly I, Mekni A, Gargouri MM, Bellil K, Zitouna M, Horchani A, Kchir N. Spermatocytic seminoma with rhabdomyosarcomatous contingent. *Prog Urol* 2006 Apr;16(2):218-20.

336. Jacobsen GK, Jacobsen M. Alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotropin (HCG) in testicular germ cell tumours. A prospective immunohistochemical study. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1983;91:165-76.
337. Fung CY, Kalish LA, Brodsky GL, Richie JP, Garnick MB. Stage I nonseminomatous germ cell testicular tumor: prediction of metastatic potential by primary histopathology. *J Clin Oncol* 1988 Sep;6(9):1467-73.
338. Jacobsen GK, Rorth M, Osterlind K, von der Maase H, Jacobser A, Madsen EL, et al. Histopathological features in stage I nonseminomatous testicular germ cell tumours correlated to relapse. Danish Testicular Cancer Study Group. *APMIS* 1990;98: 377-82.
339. Kaplan GW, Cromie WC, Kelalis PP, Silber I, Tank ES Jr. Prepubertal yolk sac testicular tumors-report of the testicular tumor registry. *J Urol* 1988;140:1109-12.
340. Ross JH, Rybicki L, Kay R. Clinical behaviour and a contemporary management algorithm for prepuberal testis tumors:a summary of the prepuberal testis tumor registry. *J Urol* 2002;168:1675-78.
341. Nogales F, Talerman A, Kubik-Huch RA, Devouassoux-Shistogeboran M, Tavassoli FA. Ovarian germ cell tumours. WHO Classification of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Edited by FA. Tavassoli and MR. Stratton. IARC Lyon 2003.
342. Jacobsen GK. Histogenetic considerations concerning germ cell tumours. Morphological and immunohistochemical comparative investigation of the human embryo and testicular germ cell tumours. *Virchows Arch* 1986;408:509-25.

343. Ulbright TM, Roth LM, Brodhecker CA. Yolk sac differentiation in germ cell tumors: a morphologic study of 50 cases with emphasis in hepatic, enteric and parietal yolk sac features. *Am j Surg Pathol* 1986;10:151-64.
344. Terenziani M, Piva L, Spreafico F, Salvioni R, massimino M, Luksch R. Clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis in childhood and adolescence: an analysis of 31 cases. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002;24:454-8.
345. Niehans GA, Manivel JC, Copland GT, Scheithauer BW, Wick MR. Immunohistochemistry of germ cell and trophoblastic neoplasms. *Cancer* 1998;62:1113-23.
346. Eglen DE, Ulbright TM. The differential diagnosis of cytokeratin alpha-fetoprotein, and alpha-1-antitrypsin immunoperoxidase reactions. *Am J Clin Pathol* 1987;88:328-32.
347. Ro JY, Amin MB, Ayala AG. Tumors and tumorous conditions of the male genital tract. Part B. Testicular neoplasms. In: *Diagnostic Histopathology of Tumors* 2nd edition. Ed: Fletcher CDM. Churchill Livingstone; 2000. p.783-809.
348. Aass N, Klepp O, Cavallin-Stahl E, Dahl O, Wicklund H, Unsgaard B, et al. Prognostic factors in unselected patients with nonseminomatous metastatic testicular cancer: a multicenter experience. *J Clin Oncol* 1991;9:818-26.
349. Niehans GA, Manivel JC, Copland GT, Scheithauer BW, Wick MR. Immunohistochemistry of germ cell and trophoblastic neoplasms. *Cancer* 1998;62:1113-23.

350. Ordi J, Romagosa C, Tavassoli FA, Nogales F, Palacin A, Condon E, et al. CD10 expression in epithelial tissues and tumors of the gynecologic tract a useful marker in the diagnosis of mesonephric, trophoblastic, and clear cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2003 Feb;27(2):178-86.
351. Von hochstetter AR, Hedinger CE. The differential diagnosis of testicular germ cells tumors in theory and in practice: A critical analysis of two major systems of classification and review of 389 cases. *Vichows Arch (A)* 1982;396:247.
352. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. Protocol for malignant and potentially malignant neoplasms of the testis and paratestis. *Am J Clin Pathol* 2000;114:339-42.
353. Jesus L, Pena CR, Leao AP. Pre-pubertal testicular dermoid cyst treated with conservative surgery. *Int Braz j Urol* 2005 Jul-Aug;31(4):359-61.
354. Assaf G, Mosbah A, Homsy Y, Michaud J. Dermoid cyst of testis in five-year-old-child. *Urology* 1983;22:432-4.
355. Vigano P, Picozzi SC, Manganini V, Casu M, Giuberti A, Mazz L et al. A 7-year history of an intratesticular mass: patient description and review of the literature about dermoid cysts of the testis. *Urol Int* 2006;77(3):281-3.
356. Nistal M, Paniagua R. Primary neuroectodermal tumour of the testis. *Histopathology* 1985;9:1351-9.
357. Kato N, Motoyama T, Kameda N, Hiruta N, Emura I, Hasegawa G, et al. Primary carcinoid tumor of the testis: Immunohistochemical, ultrastructural and FISH analysis with review of the literature. *Pathol Int* 2003;53:680-5.

358. Reyes A, Moran CA, Suster S, Michal M, Dominguez H. Neuroendocrine carcinomas (carcinoid tumor) of the testis. A clinicopathologic and immunohistochemical study of ten cases. *Am J Clin Pathol*. 2003;120:182-7.
359. Merino J, Zuluaga A, Gutiérrez F, Serrano MM, Ciani S, Nogales F. Pure testicular carcinoid associated with intratubular germ cell neoplasia. *J Clin Pathol* 2005 Dec;58(12):1331-3.
360. Porcaro AB, Zecchini S, Novella G, Martignoni G, Bassett D, Tallarigo C, et al. Histopathologic risk factors in patients with non-seminomatous germ the testis in clinical stage 1. Restrospective study of 75 patients. *Arch Ital Urol Androl* 2001 Dec;73 (4): 177-80.
361. Lashley DB, Lowe BA. A rational approach to managing stage I non-seminomatous germ cell tumours. *Urol Clin North Am* 1998;25:405-23.
362. Azzopardi JG, Hoffbrand AV. Retrogression in testicular seminoma with viable metastases. *J Clin Pathol* 1965;18:135-41.
363. Bar W, Hedinger C. Comparison of histologic types of primary testicular germ cell tumors with their metastases: consequences for the WHO and the British Nomenclatures. *Virchows Arch (A)* 1976;370:41-54.
364. Balzer BL, Ulbright TM. Spontaneous regression of testicular germ cell tumors: an analysis of 42 casos. *Am J Surg Pathol* 2006 Jul;30(7):858-65.
365. Lopez JL, Angulo JC, Ibañez T. Burned-out tumour of the testis presenting as retroperitoneal choriocarcinoma. *Int Urol Nephrol* 1994;26:594-53.
366. Holmes AS, Klimberg IW, Stonesifer KJ, Kramer BS, Wajsman Z. Spontaneous regression of testicular seminomas. Case report. *J Urol* 1986;135:795-6.

367. Mola MJ, Gonzalvo V, Torregrosa MD, Navarro JA, Gomez-Ferrer A, Estany A, et al. Burn out bilateral testicular tumor. *Actas Urol Esp* 2005 Mar;29(3):318-21.
368. Rubio J, Iborra I, Solsona E. Biología molecular en el cáncer de testículo. *Arch Esp de Urol* 2000;53(6):565-70.
369. Strohmeyer T. Molecular biologic investigations of proto-oncogenes and growth factors in human testicular tumors. *World J Urol* 1994;12:74-8.
370. Heidenreich A, Srivastava S, Moul JW, hofmann R. Molecular genetic parameters in pathogenesis and prognosis of testicular germ cell tumors. *Eur Urol* 2000;37:121-35.
371. Sandberg AA, Meloni AM, Suijkerbuijk RF. Reviews of chromosome studies in urological tumors. *Cytogenetics and genes in testicular tumors. J Urol* 1998;155:1531-56.
372. Looijenga LH, Zafarana G, Grygalewicz B, Summersgill B, Debiec-Rychter M, Veltman J, et al. Role of gain of 12p in germ cell tumour development. *APMIS* 2003 Jan;111(1):161-71.
373. Peltomaki P, Lothe RA, Borrasen AL, Fossa SD, Brogger A, Chapelle A. Chromosome 12 in human testicular cancer: dosage changes and their parental origin. *Cancer Genet Cytogenet* 1992;64:21-6.
374. Atkin NB, Baker MC. Specific chromosome change, i(12p), in testicular tumours?. *Lancet* 1982 Dec 11;2(8311):1349.
375. Solé F, Chechile G, Algaba F, Villavicencio H, Cerdón-Cardo C. Biología molecular de los tumores urológicos. ENE ediciones. Madrid 1995.

376. Rapley EA, Crockford GP, Easton DF, Stratton MR, Bishop DT. Localisation of susceptibility genes for familial testicular germ cell tumour. *APMIS* 2003 Jan;111(1):128-3.
377. Ezech UI, Turek PJ, Reijo RA, Clark AT. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer* 2005 Nov 15; 104(10):2255-65.
378. Hoei-Hansen CE, Almstrup K, Nielsen JE, Brask S, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E. Stem cell pluripotency factor NANOG is expressed in human fetal gonocytes, testicular carcinoma in situ and germ cell tumors. *Histopathology* 2005 Jul;47(1):48-56.
379. Hart AH, Hartley L, Parker K, Ibrahim M, Looijenga LH, Pauchnik M, et al. The pluripotency homeobox gene NANOG is expressed in human germ cell tumors. *Cancer* 2005 Nov 15;104(10):2092-8.
380. Bonner MR, Mc Cann SE, Moysich KB. Dietary factors and the risk of testicular cancer. *Nutr Cancer* 2002;44(1):35-43.
381. Diaz R, Virseda M, Paños P, Cabrera JA, Arance I, Alpuente C. Tumores testiculares. Evaluación de la experiencia durante 25 años en un hospital militar. *Actas Urológicas Españolas* 2005 mayo;5:457-64.
382. Schrader AJ, Ohlmann CH, Rossmanith S, Hofmann R, Heidenreich A. Impact of evidence based interdisciplinary guidelines on testis cancer management. *Cancer* 2006 Jan 15;106(2):313-9.
383. Delaney RJ, Sayers CD, Walker MA, Mead GM, Theaker JM. The continued value of central histopathological review of testicular tumours. *Histopathology* 2005 Aug;47(2):166-9.

384. Pauls K, Pager R, Weber S, wardelmann E, Koch A, Buttner R, et al. Transcription factor AP-2gamma a novel marker of gonocytes and seminomatous germ cell tumors. *Int J Cancer* 2005 Jun 20;115(3):470-7.
385. Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the patogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update* 2006 May-Jun;(3):303-23.
386. del Vecchio MT, Epistolato MC, Tripodi SA, Montironi R, Giordano A. Intratubular germ cell neoplasia of unclassified type. *Anal Quant Cytol Histol* 2006 Jun;28(3):157-70.
387. Nistal M, Gonzalez-Peramato P, Regadera J, Serrano A, Tarin V, De Miguel MP. Primary testicular lesions are associated with testicular germ cell tumors of adult men. *Am J Surg Pathol* 2006 Nov;30(10):1260-8.
388. Nogales F, Merino J, Musto ML, Botticelli L. Los tumores de células germinales del ovario. Avances anatomoclínicos en los últimos tres lustros. *Rev Cancer* 2003;17(5):175-83.
389. Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonadas: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial sigues. *Mod Pathol* 2005 Feb;18 suppl 2:61-79.