



11201 32
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
SUBDIVISION DE ESPECIALIDADES MEDICAS
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZALEZ"

EXPRESION INMUNOHISTOQUIMICA DE p53 Y c-erbB-2 EN LOS
DIFERENTES TIPOS HISTOLOGICOS DE TUMORES GERMINALES
TESTICULARES COMO FACTORES ASOCIADOS EN EL DESARROLLO DE
METASTASIS EN LOS CASOS OCURRIDOS DE ENERO DE 1992
A DICIEMBRE DEL 2001 EN EL HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL
GEA GONZALEZ."

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO EN LA ESPECIALIDAD DE:

ANATOMIA PATOLOGICA

PRESENTA:

DRA. YANIRA MUÑOZ CRUZ

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



MEXICO, D. F.

OCTUBRE DEL 2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

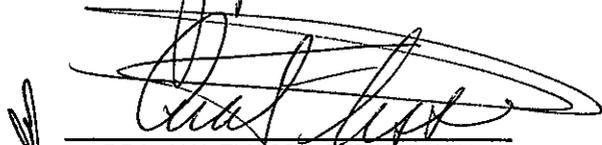
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

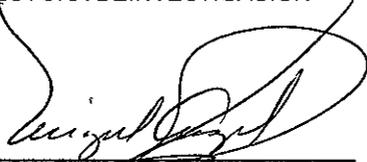
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



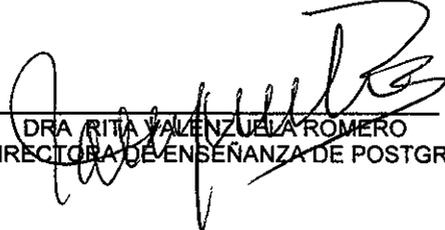
DR GERMAN FAJARDO DOLCI
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



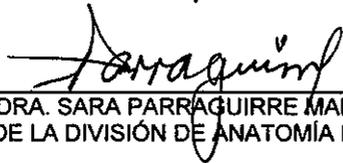
DRA ANA FLISSER STEINBRUCH
DIRECTORA DE INVESTIGACION



DR MIGUEL ANGEL GARCIA GARCIA
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA



DRA RITA VALENZUELA ROMERO
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA DE POSTGRADO



DRA. SARA PARRAGUIRRE MARTINEZ
JEFE DE LA DIVISION DE ANATOMIA PATOLOGICA

INDICE

TITULO	1
ANTECEDENTES	2
MATERIAL Y METODO	8
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN	12
CONCLUSIONES	12
REFERENCIAS	13
ANEXOS	15

ANTECEDENTES

Las neoplasias testiculares comprenden un gran grupo de variedades anatomopatológicas que pueden dividirse en dos grandes grupos: tumores de células germinales y tumores no germinales derivados del estroma o cordones sexuales. El 90 al 95% de las neoplasias son del primer grupo y el resto pertenecen a las neoplasias del estroma, cordones sexuales o a los provenientes de tejidos paratesticulares.

Los tumores de células germinales a su vez se dividen en seminomatosos y no seminomatosos; esta distinción sigue siendo relevante por la diferencia en el tipo de tratamiento y pronóstico de los pacientes. Los tumores de células germinales ocurren predominantemente en hombres jóvenes, más frecuentemente entre los 15 y 45 años, aunque existe un pico de edad en la infancia, también se conoce que son más frecuentes en raza blanca que en la negra en una relación 5:1 (1,2)

Se ha descrito en la literatura que la incidencia de éstos tumores se ha incrementado progresivamente, verificándose esto en diferentes países. Ha sido estimada la incidencia anual de 9 casos por 100 000 hombres en Suiza que es uno de los países con más alto índice de tumores testiculares de células germinales, en Estados Unidos es del 5 a 6 por 100 000 hombres. (1) En México la mortalidad por neoplasias malignas testiculares reportada en 1999 fue del 0.5%, con tasa de 0.86% (x100000 hombres de 15 y más años) que correspondió a 274 defunciones; ocupando el vigésimo lugar dentro de las 20 neoplasias más frecuentes en nuestro país (3)

Estos tumores ocurren más frecuentemente en pacientes de nivel socioeconómico alto y existen reportes aislados de que la exposición a algunos agentes como los estrógenos in útero o la asociación con ocupaciones en particular tienen una importancia etiológica potencial para el desarrollo de estas neoplasias (1)

Las asociaciones bien definidas son: criptorquidia, historia familiar de tumores germinales, antecedente de tumor previo y ciertos síndromes intersexuales (ambigüedad somatosexual en presencia de un cromosoma Y), siendo la criptorquidia el mejor establecido, en algunas series hasta en el 10% de criptorquidia presente o corregida calculándose un riesgo mayor de 10 a 14 veces más que la población general, es por ello que a los pacientes con estos antecedentes deben realizarse biopsias para determinar la presencia de neoplasia intratubular germinal. (1,2)

El término de neoplasia intratubular germinal se refiere al carcinoma in situ del testículo así como a la forma de tumor germinal intratubular y ésta se relaciona con el espectro entero de tumores germinales con excepción del seminoma espermatocítico. Se ha descrito que el 50% de pacientes con neoplasia intratubular germinal seguidos prospectivamente desarrollan tumor invasor a 5 años de seguimiento y ésta puede observarse virtualmente en todos los casos de tumores germinales invasores de adultos cuando túbulos seminíferos residuales están presentes, identificándose microscópicamente como células con núcleo basal hiper cromático agrandado y con citoplasma claro.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La histogénesis de éstos tumores continúa siendo interesante y controversial; teniendo en cuenta que las células germinales son pluripotenciales y al malignizarse no pierden su línea de diferenciación, anteriormente la histogénesis provenía de dos líneas celulares seminoma y carcinoma embrionario; Actualmente evidencia ultraestructural y citogenética sugieren que el seminoma puede actuar como una lesión precursora común desarrollada a partir de la neoplasia intratubular germinal y transformándose en carcinoma embrionario o directamente en otras formas de tumores germinales como senos endodérmicos o coriocarcinoma

Más aún la identificación ultraestructural de diferenciación epitelial en algunos seminomas y la presencia común de la distintiva anomalía cario típica (isocromosoma 12p) en neoplasia intratubular germinal, seminoma y tumores no seminomatosos implica una secuencia de origen común.

Existen varias clasificaciones de los tumores testiculares de células germinales, sin embargo se expone la clasificación de la Organización Mundial de La Salud.

Lesión precursora

Neoplasia Intratubular germinal

Tumores de células germinales

Tumores de un solo tipo histológico

Seminoma

 Variante seminoma con células de sincitiotrofoblasto

Seminoma espermatocítico

 Variante con componente sarcomatoso

Carcinoma embrionario

Tumor de senos endodérmicos

Tumores trofoblásticos

 Coriocarcinoma

 Variante monofásica

 Tumor trofoblástico del sitio placentario

Teratoma

 Teratoma maduro

 Teratoma inmaduro

 Teratoma con un componente secundario maligno

 Variantes monodérmicas

 Carcinoide

 Tumor neuroectodérmico primitivo

 Otros

Tumores de más de un tipo histológico

Carcinoma embrionario con teratoma

Coriocarcinoma con cualquiera de los otros tipos

Otras combinaciones

Tumores de los cordones sexuales

Formas bien diferenciadas

Tumor de células de Leydig

Tumor de células de Sertoli

Tumor de células de la granulosa

Formas mixtas

La túnica albugínea es una barrera difícil de penetrar para los cánceres testiculares, muchas de las neoplasias se extienden hacia estructuras paratesticulares, extensión hacia la rete testis has sido observada en el 80% de los seminomas y el involucro de piel escrotal es inusual y tardío.

Las metástasis ocurren vía linfática o hematógica, los sitios de metástasis a ganglios linfáticos dependen del lado al que corresponde el testículo afectado y si existe extensión paratesticular; las neoplasias del lado derecho metastatizan a ganglios linfáticos interaortocavales y retroperitoneales con ausencia el general de ganglios supraclaviales, las neoplasias del testículo izquierdo tienden a producir metástasis retroperitoneales y región paraaórtica izquierda y en el área adyacente a uréter izquierdo, vena renal y aorta así como nacimiento de la arteria mesentérica inferior

Dada esta tendencia selectiva de involucro ganglionar en los estadios tempranos de la enfermedad, las disecciones retroperitoneales son limitadas y dirigidas. (2)

El involucro a los ganglios inguinales puede ser vista en consecuencia de la extensión del tumor primario a la piel escrotal o posterior a cirugía escrotal. Las metástasis a distancia son usualmente consecuencia de diseminación hematógica, en estudios de autopsia se ha encontrado hasta 89% de involucro pulmonar, 73% hepático 31% cerebral, 30% hueso (4).

Un fenómeno peculiar que se ha encontrado en autopsias o en orquiectomías es una regresión de los tumores malignos de células germinales generalmente focos de cicatrices que ocasionalmente contienen elementos residuales de tumor germinal, neoplasia intratubular germinal o restos nucleares, los pacientes con coriocarcinoma son los que más frecuentemente presentan éste hallazgo (2)

Grandes avances se han tenido dentro del campo de la oncología testicular. Ahora existen tratamientos efectivos para casi todas las neoplasias germinales mientras que en 1973 el seminoma era el único tipo histológico que podía ser efectivamente tratado después del desarrollo de metástasis

La iniciación y progresión de los cánceres en el humano son dependientes de mutaciones en genes clave los cuales regulan el crecimiento y división celular, muchos de estos genes llamados oncogenes o genes supresores de tumor están involucrados en procesos básicos del ciclo celular comunes a todas las células en el cuerpo, el p53 es un factor de transcripción que es activado en respuesta a muchos acontecimientos ambientales encontrados por una célula tumoral; su activación resulta en un alto en el crecimiento o en apoptosis celular (5)

El gen p53 se ha encontrado en el brazo corto del cromosoma 17 y produce una proteína de 53 kilo bases, ésta proteína es expresada en muchas de las células del cuerpo pero es inestable, tiene una vida media de sólo 20 a 30 minutos. Durante la fase G1 del ciclo celular se acumula en el citoplasma de la célula y entra en el núcleo al comienzo de la fase S, permaneciendo ahí por 3 horas, bloqueando la progresión de las células durante la fase tardía del G1 y entrando en la interfase de G1/S un proceso relacionado con la replicación del DNA

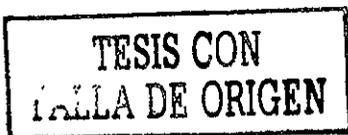
Estudios realizados para conocer si p53 incrementaba la tumorigénesis en ciertas líneas celulares transformándolas en un fenotipo maligno subsecuentemente establecieron la presencia de una versión mutante del p53 original que no sólo perdió su función normal de monitorizar la integridad del genoma, también actuaba como un inhibidor del p53 original. La proteína mutante p53 forma un complejo oligomérico con el original manteniéndose en el citoplasma celular haciendo posible la inhibición de la síntesis de ADN seguida por daño a éste, proceso que es crucial para las lesiones genéticas que pueden contribuir con la transformación celular; también posee una vida media más prolongada elevando los niveles de ésta en células transformadas y tumores. (6)

El gen c- erbB-2 fue encontrado por primera vez en el DNA del genoma humano como una secuencia la cual era homóloga en la secuencia de nucleótidos de V-erbB, esto demostrado por hibridación in situ bajo condiciones específicas, el producto de este gen es receptor del tipo de la proteína tirosina-cinasa, la cual tiene una estructura altamente relacionada con el receptor del factor de crecimiento epidérmico, también es llamado gen HER-2.(13)

Los tumores de células germinales son usualmente muy sensibles a agentes quimioterápicos como el cisplatino y se ha reportado que el p53 juega un rol importante en la quimiosensibilidad, sin embargo mutaciones en este gen u otros pueden ser responsables de la quimioresistencia; por otro lado se ha referido que la resistencia a radio y quimioterapia de los teratomas maduros puede ser resultado de una sobre expresión de bcl-2 y carencia de sobre expresión de p53 (7,8)

Se han realizado estudios de inmunohistoquímica y Western blott para determinar la influencia del p53 en la sensibilidad o resistencia del tratamiento con cisplatino de las neoplasias testiculares de células germinales, demostrándose que niveles altos no son relacionados directamente con la sensibilidad al tratamiento en estos tumores y que la inactivación del p53 no es un evento común en el desarrollo de resistencia del cisplatino (9)

También se ha evaluado si la expresión inmunohistoquímica de p53 en tumores germinales testiculares puede ser usado como factor predictivo en pacientes con tumor de células germinales metastásico, comparándolo con bcl-2, y se ha concluido que la incidencia de inmunoreactividad de p53 es más alta que la de bcl-2, pudiéndose utilizar como factor predictivo de la respuesta a la quimioterapia, pero no como un factor pronóstico significativo para la sobrevida después de la quimioterapia. (10)



Otros estudios han sido enfocados en medir la extensión de la apoptosis en tumores germinales utilizando como parámetros p53 y bcl 2; encontrando positividad con inmunohistoquímica hasta el 62% de los 53 tumores estudiados en esa serie y que contenían tumores puros y mixtos, la negatividad se encontró sólo en los teratomas maduros. (11) Otras series han utilizado en factor de crecimiento endotelial en pacientes con tumores germinales testiculares como un indicador de enfermedad metastásica, encontrando mayor expresión de este en los tumores de células germinales que en los testículos no neoplásicos, demostrando que la expresión de éste juega un rol importante en la progresión de los tumores de células germinales; otros análisis revelan que la invasión vascular y linfática no son predictores significativos de metástasis en estadios tempranos cuando el paciente tiene además alto índice de recurrencia. (12)

Se ha estudiado extensamente la expresión de p53 como factor predictivo de respuesta al tratamiento, se ha medido con relación a la extensión de la apoptosis y se sabe que su presencia es importante en la sensibilidad o resistencia a la quimioterapia, sin embargo su expresión no ha sido utilizada para evaluar el desarrollo de metástasis utilizando como parámetro la expresión medida en los diferentes estudios. Como se mencionó previamente la sobre expresión del oncogén p53 y su fracción mutada no han sido reconocida en tumores benignos y tejido normal, la clona utilizada en este estudio reacciona con p53 nativo y su mutación, tñiendo el núcleo de las células neoplásicas

Otros estudios han utilizado las proteínas p53, c-erbB-2 y ki-67 como factores con valor pronóstico en el carcinoma ovárico encontrando que el p53 y el c-erbB-B-2 se correlacionan con enfermedad residual, el segundo asociado con una mejor sobrevida sin embargo no se encontró como factor pronóstico independiente. (14)

El c-erbB-2, ampliamente utilizado en tumores de mama mostrando en algunos estudios que niveles elevados de esta oncoproteína se asocian con riesgo de recurrencia temprana en pacientes con receptores de estrógeno positivos y negativos; también ha sido utilizado como factor pronóstico con enfermedad de Hodgkin, carcinoma de vejiga unna, enfermedad trofoblástica gestacional persistente, carcinoma de próstata, carcinomas pulmonares y carcinomas colorectales; en general asociado con otros marcadores; sin embargo su uso asociado con p53 como factor pronóstico en tumores germinales testiculares no ha sido estudiado ampliamente (15,16, 17) En los cortes de rutina la tinción se localiza en la membrana celular y ocasionalmente en el citoplasma de las células neoplásicas.

Se planteó el siguiente problema

¿La expresión inmunohistoquímica de p53 y c-erbB-2 en los diferentes tipos de tumores germinales testiculares se relaciona con el desarrollo de metástasis?

La justificación del estudio se basa en que a pesar de que el tratamiento convencional es en una buena proporción suficiente para curar algunos tipos de neoplasias germinales testiculares y el aumento en la detección de estas neoplasias ha aumentado según la literatura mundial, el 20 al 30% de pacientes jóvenes aún mueren por esta enfermedad, es por ello que los avances en el campo de genética molecular son importantes para conocer las alteraciones que llevan al desarrollo de la neoplasia intratubular, invasora o en su caso proveer de biomarcadores que permitan detectar metástasis para el mejor tratamiento y pronóstico de estos pacientes.

Desde hace varios años algunos marcadores inmunohistoquímicos han sido ampliamente utilizados como índices pronósticos de tumores, principalmente carcinomas; éstos marcadores incluyen oncogenes y oncoproteínas como C-erbB-2, bcl-2, genes supresores como p53, receptores de estrógenos y progesterona, marcadores de proliferación como Ki-67, antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), ciclinas, marcadores del grado de angiogénesis, moléculas de adhesión, algunos utilizados como factores de invasión y metástasis. Muchos de éstos marcadores son índices pronósticos independientes y u detección inmunohistoquímica puede ser más informativa que la identificación bioquímica o biológica por lo que el amplio uso de ésta da al patólogo un rol más activo en el diagnóstico y tratamiento de los tumores.

Como se ha descrito el p53 es un gen que se consideraba hasta hace algunos años como potencialmente importante en la carcinogénesis testicular, actualmente se sabe que más del 50% de los cánceres humanos desarrollan mutaciones en el p53 y expresan una proteína p53 inactiva, incluso se ha estudiado a éste como factor pronóstico de respuesta a la quimioterapia en tumores germinales testiculares, sin embargo su expresión no ha sido utilizada como marcador para el desarrollo de metástasis, punto que es importante desde el punto de vista pronóstico y de manejo, pudiendo utilizarse como parámetro de comportamiento biológico que apoye estudios de extensión con los que usualmente se detectan metástasis.

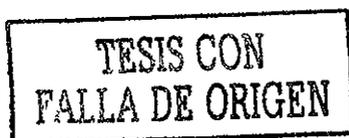
El protooncogen c-erbB-2 aunque ha sido mas utilizado para tumores de mama se ha usado también en otro tipo de tumores, se expresa normalmente en los embriones humanos en mucosas y glándulas, su alta expresión o amplificación genética en los tumores humanos parece funcionar como un indicador de alto riesgo de metástasis o alto grado de malignidad, aunque no se ha descrito aún en tumores germinales testiculares.

El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de expresión inmunohistoquímica de p53 y c-erbB-2 en los diferentes tipos histológicos de tumores germinales testiculares y determinar su importancia como factor asociado al desarrollo de metástasis.

Los objetivos específicos fueron:

1. Cuantificar intensidad de expresión inmunohistoquímica de p53 y c-erbB-2
2. Determinar su asociación en los tumores con metástasis.

El diseño del estudio fue Casos y controles, Abierto, Observacional, Retrospectivo y Transversal



MATERIAL Y METODOS

Universo de estudio.

Todos los casos de neoplasias germinales testiculares comprendidos en el tiempo establecido

Tamaño de la muestra

Número de casos de neoplasias germinales testiculares de enero de 1992 a diciembre del 2001, aproximadamente 80 casos.

El tamaño de la muestra se calculó con .05 de significancia, con 0.80 de potencial de la prueba, teniendo 0.50 como prevalencia de expresión de p53 en pacientes con tumores germinales testiculares sin metástasis, requiriendo al menos 10 casos con un mínimo de 20 controles.

Forma de asignación Secuencial de acuerdo a la presentación de los pacientes para la captación de los casos y posteriormente asignados como

Casos de tumores germinales testiculares con metástasis

Casos de tumores germinales testiculares sin metástasis

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Todos los casos de neoplasias testiculares germinales ocurridos en tiempo referido
- Edad mínima 12 años
- Edad máxima 65 años
- Tratados con orquiectomía

Criterios de exclusión

- Casos en los que no se cuente con expediente clínico
- Casos en los que no se cuente con bloques de parafina

Criterios de eliminación

- Casos sin edad referida
- Casos con número de registro equivocado

Los casos en los que se contó con bloques de parafina y expediente pero no se pudo valorar el seguimiento, se incluyeron para realización de inmunorreacción tomando en cuenta la edad y lado afectado pero especificando la duda de existencia o no de metástasis

Variables

Independientes

Edad

Lado afectado

Estado socioeconómico
Tiempo de evolución
Niveles de enzimas y hormonas en suero
Estadio Clínico
Fecha de la cirugía
Ocupación
Expresión inmunohistoquímica de p53 y c-erbB-2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Dependientes

Tipo de neoplasia *germinal*
Tumores seminomatosos
Tumores no seminomatosos (Incluyendo tumores mixtos)
Desarrollo de metástasis

Parámetros de Medición

La expresión de p53 y c-erbB-2 se detectó por medio de inmunohistoquímica determinando positividad o negatividad de acuerdo al número de células positivas dentro de un campo microscópico a 10x, estandarizado de la siguiente manera.

Negativa	=	0
Menos de 5 células	=	+
De 5 a 25 células	=	++
Más de 25 células	=	+++

De acuerdo a la expresión, se designaron como NEGATIVOS los casos hasta con 5 células positivas y POSITIVOS los casos con 5 a 25 células positivas para la inmunorreacción.

Procedimiento de Captación de Información

Se determinó el número de pacientes con neoplasias *germinales testiculares* que fueron manejados con orquiectomía de acuerdo a los archivos y registros del departamento de Anatomía Patológica. Se identificaron los números de expediente obteniendo edad, reporte histológico de neoplasia testicular, lado afectado y si ha desarrollado o no metástasis.

Posteriormente se realizó revisión histológica de los casos seleccionando las laminillas de acuerdo a la cantidad de tumor y necrosis existente

De los bloques de parafina de las laminillas seleccionadas se realizaron cortes de 3 a 4 micras para contar con laminillas para testigo negativo, laminillas con corte para testigo positivo y laminillas con corte problema para marcadores.

El método para inmunotinción se realizó de la siguiente forma:

ESTA TESIS NO SALE⁹
DE LA BIBLIOTECA

1. Desparafinado en horno de incubación a 56 grados centígrados.
 2. Remoción de parafina en xilol en dos tiempos y 15 baños.
 3. Secado de los cortes en forma horizontal
 4. Hidratado del corte con alcohol absoluto, alcohol de 96 grados, agua y agua destilada.
 5. Colocar en vasos de Kopic las laminillas con Buffer pH 9
 6. Recuperación antigénica en microondas por 5 minutos.
 7. Enfriado y enjuagado
 8. Inhibición de peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% diluido en metanol por 10 minutos
 9. Enjuagado en agua corriente
 10. Restauración en buffer salino (PBS)
 11. Incubación de laminillas en cámara húmeda con anticuerpo primario a 4 grados centígrados por 12 horas utilizando como anticuerpo primario proteína p53 marca Dako
 12. Enjuagado de cada laminilla con PBS
 13. Incubación con anticuerpo de enlace
 14. Enjuagado con PBS en incubar nuevamente con anticuerpo secundario por 15 minutos, utilizando es Streptavidina-biotina y peroxidasa.
 15. Enjuagado con PBS y revelado con Diaminobencidina (DAB)
 16. Revisión en microscopio grado de Impregnación del cromógeno
 17. Enjuagado en agua corriente y contratinción con hematoxilina de Harris para contraste de 10 a 15 baños.
 18. Enjuagado en agua corriente y azul con carbonato de litio 3 segundos.
 19. Nuevo enjuagado en agua corriente.
 20. Deshidratado con alcohol de 96 grados, alcohol absoluto y xilol.
 21. Montado con resina sintética
- La misma técnica será empleada para la inmunorreacción con el anticuerpo primario c-erbB-2.

Posterior a la técnica de inmunotinción se revisaron microscópicamente las laminillas testigo y problema correspondientes valorando la expresión alta o baja de p53 y c-erbB-2 de acuerdo a la intensidad, tomando como testigo interno negativo las zonas del tumor que no marquen con el inmunoreactante en ambas reacciones; en cuanto a c-erbB-2 testigos internos como células endoteliales y células inflamatorias se tomaron en cuenta para la valoración de las laminillas y se registraron los datos en las hojas de cálculo previamente diseñada para el registro de datos.

VALIDACION DE DATOS

Se realizaron cálculos de frecuencias y promedios, Prueba de Chi cuadrada para determinar significancia estadística y fuerza de asociación entre la expresión de p53 y c-erbB-2 con la prueba de Chi cuadrada y coeficiente de correlación de Pearson.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

RESULTADOS

En este estudio la edad de presentación de las neoplasias germinales fue de 15 a 62 años, con un promedio de 28.8. El lado más frecuentemente afectado fue el izquierdo con 47.1% (33 casos), el lado derecho en 45.7% (32 casos) y bilateralidad se observó en 7.1% (4 casos).

La neoplasias germinales más frecuentes en nuestro estudio fueron el seminoma con 44.3%, y los tumores mixtos con el mismo porcentaje, el teratoma con 8.6%, y sólo se encontraron dos casos de tumores germinales puros no seminomatosos.

La expresión de p53 en cada uno de esto fue de 22.6% en seminoma, tumores mixtos 54.8% y en teratoma de 16.7%, es importante señalar que el componente intratubular del seminoma fue positivo en la mayoría de los tumores seminomatosos estudiados en los cuales se pudo valorar parénquima testicular residual, lo cual no se incluyó como variable en este estudio.

La expresión inmunohistoquímica de c-erbB-2 en los tumores seminomatosos fue de 35.5%, teratoma 100% y 61.3% para los tumores mixtos, encontrándose la positividad en el componente epitelial de los tumores teratomatosos con mayor grado de maduración

La expresión de p53 en los tumores con metástasis fue positiva en el 53.1% encontrándose 46.9% de negatividad, en los tumores sin metástasis se encontró en el 27.3% con 72.2% de negatividad. La expresión de c-erbB-2 fue positiva en el 59.4% de los tumores con metástasis y en los que no las desarrollaron fue del 40.9%. En los casos sin seguimiento la positividad de expresión para p53 fue del 25%, para c-erbB-2 fue positiva en el 50% de los casos.

La asociación de ambas oncoproteínas con el desarrollo de metástasis no fue estadísticamente significativa por la variabilidad de expresión tanto en los tumores con metástasis como sin éstas y por el tamaño de la muestra.

De los 80 casos encontrados 9 fueron excluidos por no contarse con expediente clínico y 1 por no contarse con bloques de parafina.

Se encontraron 53 con seguimiento de 6 meses que correspondió al 75.7% y 17 casos en los cuales a pesar de el diagnóstico no se pudo realizar el seguimiento con el 24.3% restante, por lo tanto no se pudo valorar la existencia de metástasis o no en estos casos y cuya expresión se observó de esta forma; el 45.7% de los casos las presentaron, el 31.4% no desarrollaron y en el 22.9% no se pudo valorar por falta de seguimiento.

Es importante señalar que la frecuencia de éstos tumores se incrementó según lo observado en este estudio, encontrando 6 casos en 1992 y 22 casos en el 2001 con incremento paulatino en años intermedios.

DISCUSIÓN

La edad de presentación de las neoplasias germinales testiculares refrenda en la literatura no fue diferente a la que se encontró en este estudio, aunque se encontró un caso de un paciente de 62 años lo cual es infrecuente pero ha sido reportado ampliamente.

No se ha referido que este tipo de neoplasias tenga relación con el lado afectado y de acuerdo a los porcentajes obtenidos en el estudio que se presenta el sitio de afectación es indistinto, se encontraron cuatro casos con afectación bilateral el los cuales se contó con antecedente de criptorquidia en dos casos y los dos restantes se estudiaban en el momento del diagnóstico por infertilidad, encontrándose neoplasia intratubular

En cuanto a la frecuencia del tipo histológico los hallazgos son similares a los descritos en la literatura, siendo los tumores seminomatosos los más frecuentes

En la literatura se ha referido la expresión de p53 como factor pronóstico de respuesta al tratamiento con quimioterapia, además de la poca o nula expresión de éste en los tumores germinales no seminomatosos, específicamente teratoma, corroborándose en este estudio el patrón de expresión y reconociendo además la expresión en neoplasias poco diferenciadas como Carcinoma embrionario y Tumor de senos endodérmicos sin relación de ésta oncoproteína con el desarrollo de metástasis

La oncoproteína c-erbB-2 estudiada ampliamente como factor pronóstico en carcinomas de mama, ovario, útero y tracto gastrointestinal por expresarse en neoplasias de estirpe epitelial; en este estudio mostró también el mismo patrón de expresión en el componente epitelial de los tumores germinales testiculares sin existir referencia en este aspecto ya que no se cuenta con estudios de la expresión de c-erbB-2 en neoplasias testiculares, sin embargo su expresión fue variable y no significativa estadísticamente por el tamaño de la muestra

El incremento en la incidencia de éstas neoplasias es reportado en la literatura mundial sin explicarse los factores que se asocian a este fenómeno, aunque probablemente la educación y medios de difusión para la salud en la población han tenido impacto en el diagnóstico de éstos tumores.

CONCLUSIONES

Aunque la revisión realizada para este estudio recaba la información de 10 años, no se contó con un número de casos que dieran apoyo estadístico al mismo, se observó correlación de Pearson de 0.07, que sin llegar a ser estadísticamente significativa, si sugiere cierto grado de asociación, sin embargo si se eleva el tamaño de la muestra podrá llegar a ser significativo, teniendo en cuenta que el número de casos de tumores germinales aumenta año con año según lo referido en la literatura y lo observado en este estudio, es importante señalar que el seguimiento en estos pacientes no se realiza adecuadamente ya que ameritan referencia a centros de atención de Tercer nivel.

DISCUSIÓN

La edad de presentación de las neoplasias germinales testiculares refrenda en la literatura no fue diferente a la que se encontró en este estudio, aunque se encontró un caso de un paciente de 62 años lo cual es infrecuente pero ha sido reportado ampliamente.

No se ha referido que este tipo de neoplasias tenga relación con el lado afectado y de acuerdo a los porcentajes obtenidos en el estudio que se presenta el sitio de afectación es indistinto, se encontraron cuatro casos con afectación bilateral el los cuales se contó con antecedente de criptorquidia en dos casos y los dos restantes se estudiaban en el momento del diagnóstico por infertilidad, encontrándose neoplasia intratubular

En cuanto a la frecuencia del tipo histológico los hallazgos son similares a los descritos en la literatura, siendo los tumores seminomatosos los más frecuentes

En la literatura se ha referido la expresión de p53 como factor pronóstico de respuesta al tratamiento con quimioterapia, además de la poca o nula expresión de éste en los tumores germinales no seminomatosos, específicamente teratoma, corroborándose en este estudio el patrón de expresión y reconociendo además la expresión en neoplasias poco diferenciadas como Carcinoma embrionario y Tumor de senos endodérmicos sin relación de ésta oncoproteína con el desarrollo de metástasis

La oncoproteína c-erbB-2 estudiada ampliamente como factor pronóstico en carcinomas de mama, ovario, útero y tracto gastrointestinal por expresarse en neoplasias de estirpe epitelial; en este estudio mostró también el mismo patrón de expresión en el componente epitelial de los tumores germinales testiculares sin existir referencia en este aspecto ya que no se cuenta con estudios de la expresión de c-erbB-2 en neoplasias testiculares, sin embargo su expresión fue variable y no significativa estadísticamente por el tamaño de la muestra

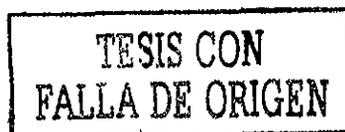
El incremento en la incidencia de éstas neoplasias es reportado en la literatura mundial sin explicarse los factores que se asocian a este fenómeno, aunque probablemente la educación y medios de difusión para la salud en la población han tenido impacto en el diagnóstico de éstos tumores.

CONCLUSIONES

Aunque la revisión realizada para este estudio recaba la información de 10 años, no se contó con un número de casos que dieran apoyo estadístico al mismo, se observó correlación de Pearson de 0.07, que sin llegar a ser estadísticamente significativa, si sugiere cierto grado de asociación, sin embargo si se eleva el tamaño de la muestra podrá llegar a ser significativo, teniendo en cuenta que el número de casos de tumores germinales aumenta año con año según lo referido en la literatura y lo observado en este estudio, es importante señalar que el seguimiento en estos pacientes no se realiza adecuadamente ya que ameritan referencia a centros de atención de Tercer nivel.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ulbrigh TM, Roth LM, Testicular and paratesticular tumors in. Sternberg.S S, Diagnostic Surgical Pathology; 1999, Third edition . Lippincot Willams and Wilkins. Cap. 47-1973-2033.
2. Ulbrigh TM, Amin MB, Young RH, Testicular tumors: General considerations in Tumors of the testis, adnexa, spermatic cord, and scrotum; 1999, Third Series, fascicle 25. Armed Forces Institute of Pathology. Cap 1:10-31.
3. Dirección General de Epidemiología. Registro histopatológico de neoplasias malignas. Compendio de Mortalidad y Morbilidad 1999.
4. Bredael JJ, Vugrin D, Whitmore WF Jr. Autopsy findings in 154 patients with germ cell tumors of the testis. *Cancer* 1982;50:548-551
5. Blaydes JP, Craig AL, Wallace M, Traynor N, Gibs NK. Synergistic activation of p53 dependent transcription by two co-operating damage recognition pathways. *Oncogene* 2000 19:3829-40.
6. Wolff JM, Habib FK, Tumor suppressor genes in Urologic tumors. *Urology* 1993,42 (4) 461-67
7. Nonomura N, Okuyama A. A prospect of molecular biology en the field of urologic oncology: Mechanisms of carcinogénesis or tumor development in testicular cancer. *Hinyokika kyo* 2001 Nov;47(11).803-7.
8. Heidenreich A, Schenkam NS, Sesterhenn IA, Mostofi KF. Immunohistochemical and mutational analysis of the p53 suppressor gene and the bcl-2 oncogene in primary testicular germ cell tumors. *APMIS* 1998 Jan, 106(1) 90-100.
9. Kersemaekers AM, Mayer F, Molier M, Van Weeren PC, Oosterhuis JW, Bokemeyer C, Loojenga LH. Role of p53 and MDM2 in treatment response of human germ cell tumors. *Journal Clinical Oncology* 2002 Mar 15,20(6):1551-61
10. Baltacı S, Orhan D, Turkolmez K, Yesilli C, Beduk Y, Tulunay O. p53, bcl-2 and bax immunoreactivity as predictors of response and outcome after chemotherapy for metastasis germ cell testicular tumors. *British Journal Urology Int* 2001 May; 87(7) 661-6.
11. Soini Y, Paakko P. Extent of apoptosis in relation to p53 en bcl-2 expresion in germ cell tumors. *Human Pathology* 1996 Nov;27(11) 1221-6
12. Souichirou F, Tsutomu S, Yoshiharu I, Tomoyasu T, Hiroyuku O. Expression of vascular endothelial Grow factor in patients with testicular germ cell tumors as an indicator of metastasis disease. *Cancer* March 15, 1999,85 (6):1323-1329.
13. Toyoshima K. Protooncogen C-erbB-2 y cáncer humano. *Gan To Kagaku Ryoho* 1990 Mar;17 (3 Pt):309-14.



- 14 Fructoso C, Silva MR, Amaral N, Martins I, De Oliveira C. Valor pronóstico de las proteínas p53, C-erbB-2 y Ki67 en carcinoma de ovario. *Acta Médica Portugal* 2001 Mayo-Junio;14(3):277-83
- 15 Smoleswski P, Niewradomska H, Blonski JZ, Robak T, Krykowski E. Expresión del antígeno PCNA y proteínas p53 o C-erbB-2 en las células de Redd-Sternberg: Significancia pronóstica en enfermedad de Hodgkin. *Neoplasma* 1998,45(3):140-7.
16. CameronB, Guwn AM, Tamimi HK Expresión del oncogén c-erbB-2 producido en la enfermedad trofoblástica gestacional persistente. *American Journal of Obstetric Gynecology*. 1994 Junio; 170(6):1616-21.
- 17 Hirashima N, Takahashi W, Yoshii S, Yamane T. Sobreexpresión de proteína y gen amplificador de c-erbB-2 en carcinomas pulmonares. *Modern Pathology* 2001; Junio14(6).556-62

DIAGNOSTICO

	Frecuencia	%
SEMINOMA	31	44.3
TERATOMA	6	8.6
SENOS ENDODERMICOS	1	1.4
CA EMBRIONARIO	1	1.4
MIXTOS	31	44.3
Total	70	100.0

METASTASIS

	Frecuencia	%
SI	32	45.7
NO	22	31.4
NO SE SABE	16	22.9
Total	70	100.0

SEGUIMIENTO

	Frecuencia	%
SI	53	75.7
NO	17	24.3
Total	70	100.0

LADO AFECTADO

	Frecuencia	%
DERECHO	32	45.7
IZQUIERDO	33	47.1
BILATERAL	5	7.1
Total	70	100.0

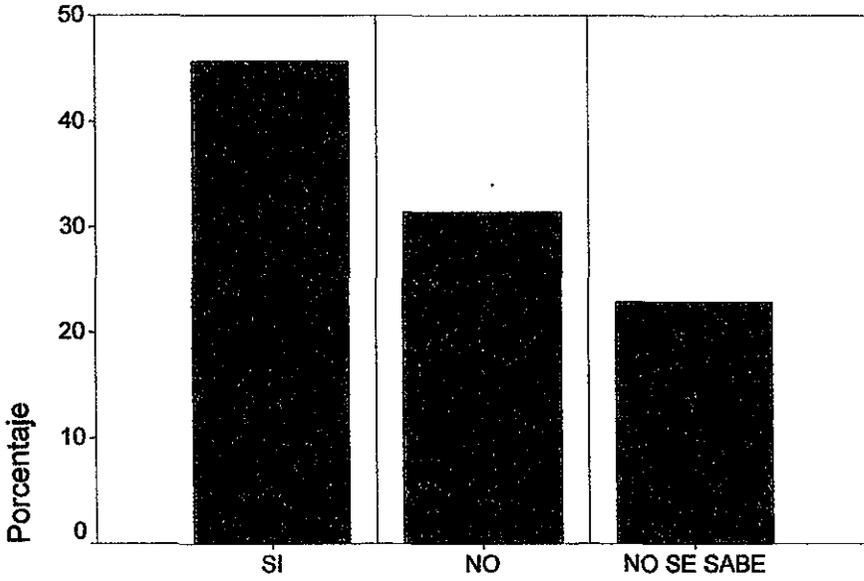
P53

	Frecuencia	%
NEGATIVO	43	61.4
POSITIVO	27	38.6
Total	70	100.0

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

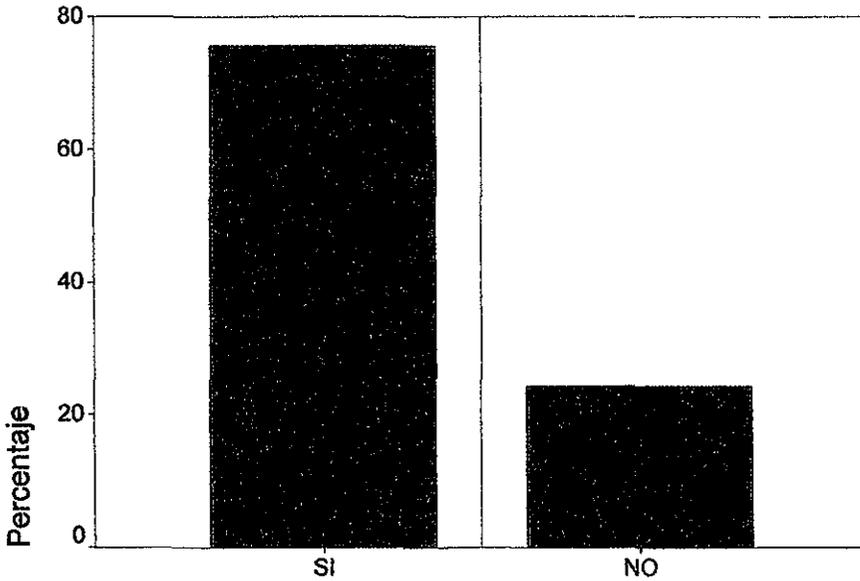
15

METASTASIS



METASTASIS

SEGUIMIENTO

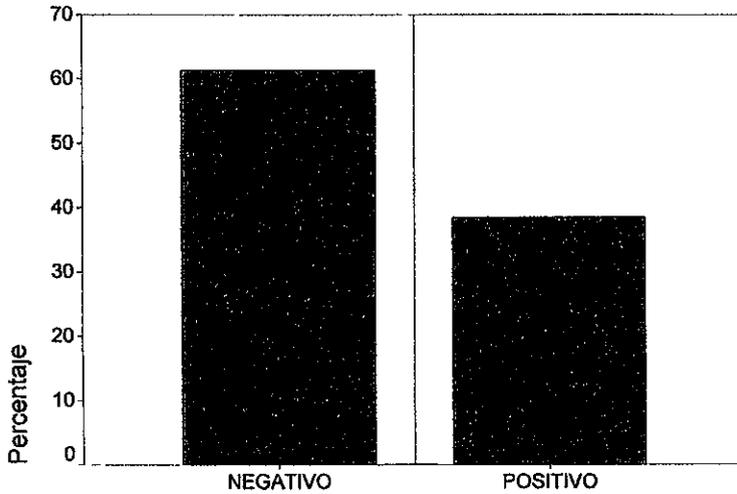


SEGUIMIENTO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

P53



P53

Relación de p53 con metástasis de tumores germinales testiculares

			P53		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
METASTASIS	SI	Número	15	17	32
		%	46.9%	53.1%	100.0%
	NO	Número	16	6	22
		%	72.7%	27.3%	100.0%
	NO SE SABE	Número	12	4	16
		%	75.0%	25.0%	100.0%
Total		Número	43	27	70
		%	61.4%	38.6%	100.0%

Relación de cerbB-2 con metástasis de tumores germinales testiculares

			cerbB-2		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
METASTASIS	SI	Número	13	19	32
		%	40.6%	59.4%	100.0%
	NO	Número	13	9	22
		%	59.1%	40.9%	100.0%
	NO SE SABE	Número	8	8	16
		%	50.0%	50.0%	100.0%
Total		Número	34	36	70
		%	48.6%	51.4%	100.0%

Relación de p53 con los tipos histológicos de tumores germinales

			P53		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
DIAGNOSTICO	SEMINOMA	Count % within DIAGNOSTICO	24 77.4%	7 22.6%	31 100.0%
	TERATOMA	Count % within DIAGNOSTICO	5 83.3%	1 16.7%	6 100.0%
	SENOS ENDODERMICOS	Count % within DIAGNOSTICO		1 100.0%	1 100.0%
	CA EMBRIONARIO	Count % within DIAGNOSTICO		1 100.0%	1 100.0%
	MIXTOS	Count % within DIAGNOSTICO	14 45.2%	17 54.8%	31 100.0%
Total		Count % within DIAGNOSTICO	43 61.4%	27 38.6%	70 100.0%

Relación de p53 con cerbB-2 en tumores germinales testiculares

			cerbB-2		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
P53	NEGATIVO	Número %	24 55.8%	19 44.2%	43 100.0%
	POSITIVO	Número %	10 37.0%	17 63.0%	27 100.0%
Total		Número %	34 48.6%	36 51.4%	70 100.0%

Relación de cerbB-2 con los tipos histológicos de tumores germinales testiculares

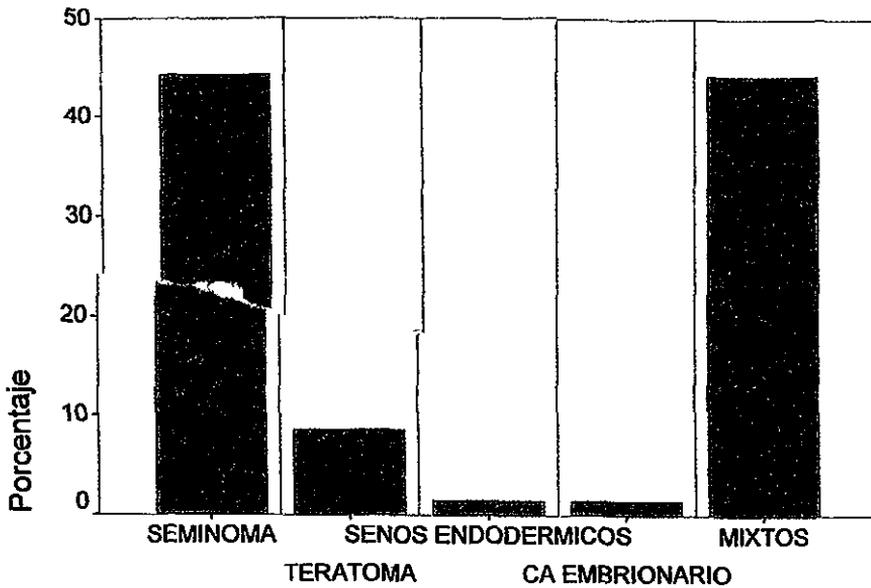
			Cerb2		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
DIAGNOSTICO	SEMINOMA	Número %	20 64.5%	11 35.5%	31 100.0%
	TERATOMA	Número %		6 100.0%	6 100.0%
	SENOS ENDODERMICOS	Número %	1 100.0%		1 100.0%
	CA EMBRIONARIO	Número %	1 100.0%		1 100.0%
	MIXTOS	Número %	12 38.7%	19 61.3%	31 100.0%
Total		Número %	34 48.6%	36 51.4%	70 100.0%

88

Cerb2

	Frecuencia	%
NEGATIVO	34	48.6
POSITIVO	36	51.4
Total	70	100.0

DIAGNOSTICO



DIAGNOSTICO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN