



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**



**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y
EVALUACIÓN DE LOS MARCADORES
INMUNOHISTOQUÍMICOS OCT3/4,
PODOPLANINA Y CD30 EN LA CLASIFICACIÓN
DE LAS NEOPLASIAS TESTICULARES
GERMINALES.**

**TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**PRESENTADOR DE TESIS:
DR. ALFONSO GILBERTO RAMÍREZ RISTORI.**

**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. TERESA CRISTINA CUESTA MEJÍAS.**

**ASESOR DE TESIS:
DR. JOSÉ RAFAEL PEÑAVERA HERNÁNDEZ**

CIUDAD DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



AUTORIZACIÓN DE TESIS:



DR. JAIME MELLADO ABREGO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

HOSPITAL JUÁREZ DE MEXICO
ENSEÑANZA
POSGRADO



DR. VÍCTOR MANUEL FLORES MÉNDEZ
JEFE DE POSGRADO

NÚMERO DE REGISTRO DE TESIS: HJM 0501/18-R



DRA. TERESA CRISTINA CUESTA MEJÍAS
DIRECTOR DE TESIS

DR. JOSÉ RAFAEL PEÑAVERA HERNÁNDEZ
ASESOR DE TESIS

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

NÚMERO DE REGISTRO DE TESIS: HJM 0501/18-R



A mis amados padres

A la mujer de mi vida

A mis muy queridos maestros

A mis estimados y verdaderos amigos

A los libros que me han inspirado



ÍNDICE

CONTENIDO	NÚMERO DE PÁGINA
ANTECEDENTES.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	8
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	8
OBJETIVOS:	
• OBJETIVO GENERAL.....	8
• OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
METODOLOGÍA:	
• DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	9
• TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	9
• MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
• CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	10
• DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	10
• TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	11
ASPECTOS ÉTICOS.....	11
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD.....	12
RESULTADOS:.....	13
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	31
RECOMENDACIONES.....	31
BIBLIOGRAFÍA.....	32
ANEXO 1.....	34
ANEXO 2.....	35
ANEXO 3.....	39



1. ANTECEDENTES:

Los cánceres genitourinarios representan el 26% de incidencia global de cáncer y el 13% de mortalidad por cáncer global. En los países en vías de desarrollo, estas neoplasias malignas representan un problema de salud pública mayor; 36% de todos los casos de cáncer genitourinario y 52% de todas las muertes por cáncer ocurren en regiones en vías de desarrollo. Según la Global Task Force on Expanded Access to Cancer Care and Control, sólo el 5% de los recursos globales destinados al cáncer se invierten en lugares en vías de desarrollo.

La relación entre el desarrollo económico y la incidencia global y tasas de mortalidad no se ha entendido bien del todo, pero se hipotetiza que se asocia principalmente a la limitación del acceso a atención médica para diagnóstico temprano y la disponibilidad de tratamiento así como a factores de riesgo modificables y exposiciones (laborales, ambientales, etc.) ⁽¹⁾.

México carece de registros fidedignos de incidencia nacional de cáncer y solo cuenta con cifras relacionadas con mortalidad. Existe el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (creado en 1995), con un retraso importante en la recolección de datos en México.

El cáncer de testículo es la decimocuarta causa de muerte en México, lo que equivalió al 2,7% de todos los cánceres (incidencia de 2,8), con 443 muertes en 2012 (tasa de 0,7%). 1 a 2% de casos son bilaterales al momento del diagnóstico. Del 90 al 95% son tumores de células germinales, con pico de incidencia en la tercera década de la vida para los no seminomatosos, y la cuarta década para los seminomatosos.

Los factores de riesgo epidemiológicos en México son: antecedente de criptorquidia, síndrome de disgenesia testicular, síndrome de Klinefelter, historia familiar, tumor contralateral o neoplasia intraepitelial e infertilidad.

Es importante señalar la variabilidad de incidencias como ejemplo de susceptibilidad genética, así como también lo son los factores ambientales asociados a estilo de vida industrializado (probablemente causando infravirilización del desarrollo genital embrionario) ⁽²⁾.

Los tumores testiculares de células germinales (seminomas y no seminomas) constituyen más del 90% de todos los tumores testiculares; representan apenas el 1% de los cánceres en hombres a nivel mundial, siendo los cánceres más frecuentes en los hombres de raza blanca entre la pubertad y los 40 años en países industrializados, con una incidencia mundial por 100.000 habitantes de 1,5 casos (0,5 en África y Asia y > 12 casos en Noruega y Suiza). En Estados Unidos la incidencia promedio es de 6,6 casos por 100.000 habitantes (1,2 en raza negra) y la incidencia ha incrementado en los últimos 30 años.



Más de la mitad de los tumores testiculares de células germinales (TTCG) son seminomas, el resto corresponden a tumores de células germinales no seminomatosos (TCGNS) y de éstos al menos un tercio poseen un componente seminomatoso.

La distribución etaria se refleja como: 35 años para los seminomas, 25 años para los tumores no seminomatosos y 30 años para los tumores no seminomatosos con componente de seminoma. 25% de casos se asocian a susceptibilidad genética, sin haber genes de alta penetrancia identificados en estudios de familias.

Se han identificado algunas alteraciones, como la microdelección gr/gr de la región AZFc del cromosoma Y, presente en 2-3% de tumores testiculares de células germinales, incrementando el riesgo familiar 2 a 3 veces (asociado a infertilidad).

Otros factores de riesgo familiares son la historia familiar, antecedente de TTCCG, subfertilidad, testículos no descendidos y microlitiasis testicular en pacientes subfértiles. Factores de riesgo perinatales como: hemorragia materna, orden de nacimiento, cantidad de hermanos, criptorquidia, hernia inguinal, hermanamiento, bajo peso al nacer. La exposición a dietilestilbestrol in útero puede aumentar el riesgo ⁽³⁾.

La clasificación actual de la OMS del año 2016 ⁽³⁾ sobre los tumores testiculares de células germinales se divide de la siguiente manera:

1.- Tumores testiculares germinales derivados de neoplasia germinal in situ:
a) Neoplasia de células germinales no invasiva:
1) Neoplasia germinal in situ.
2) Formas específicas de neoplasia germinal intratubular.
b) Tumores de un solo tipo histológico (puros):
1) Seminoma.
2) Seminoma con células sincitiotrofoblásticas.
1) Tumores germinales no seminomatosos.
2) Carcinoma embrionario.
3) Tumor del saco vitelino, tipo postpuberal.
4) Tumores trofoblásticos:
a) Coriocarcinoma.
b) Tumores trofoblásticos no coriocarcinomatosos.
c) Tumor trofoblástico del lecho placentario.
d) Tumor trofoblástico epiteliode.
e) Tumor trofoblástico quístico.
5) Teratoma, tipo postpuberal.
6) Teratoma con transformación somática (maligna).
c) Tumores germinales no seminomatosos con más de un tipo histológico:



1) Tumores germinales mixtos.
d) Tumores germinales de origen desconocido: 1) Tumores germinales con regresión.
2.- Tumores de células germinales sin relación con neoplasia germinal in situ:
a) Tumor espermatocítico. b) Teratoma tipo prepuberal: 1) Quiste dermoide. 2) Quiste epidermoide. 3) Tumor neuroendocrino bien diferenciado (teratoma monodérmico). c) Teratoma y tumor del saco vitelino, tipo prepuberal. d) Tumor del saco vitelino, tipo prepuberal.

La presencia de neoplasia germinal in situ (NGIS), (antes denominada neoplasia intratubular de células germinales/carcinoma in situ) como precursor de los TTCG es fundamental; deriva de células germinales primordiales (gonocitos) y no siempre se asocia a defectos genéticos que derivan en desordenes del desarrollo sexual.

Morfológicamente la NGIS es similar a los gonocitos fetales. Así mismo, las células de la NGIS expresan los mismos marcadores embrionarios y tiene perfiles de transcripción similares, así como características epigenéticas. El retraso en la maduración de los gonocitos puede deberse a función insuficiente de las células testiculares somáticas, células de Sertoli o de Leydig.

Se cree que la falla de los gonocitos para suprimir la expresión de OCT3/4 (que normalmente ocurre cuando se recolocan en el centro de los túbulos seminíferos) es un evento temprano en la patogénesis de la NGIS porque se coexpresa OCT3/4 (función antiapoptósica) y la proteína específica testicular codificada en Y (TSPY) (que estimula la proliferación), así como el ligando KIT (factor de célula madre) por las células de Sertoli, y juntos conducen a la transformación neoplásica de los gonocitos con retraso en la maduración.

Las etapas de progresión temprana se definen morfológicamente como: (1) retraso en la maduración de gonocitos (expresión de OCT3/4 en gonocitos localizados centralmente posterior a la edad de 6 meses), (2) lesión pre-NGIS (gonocitos localizados en la membrana basal, con coexpresión de OCT3/4 y TSPY con patrón heterogéneo, acompañados de expresión focal del ligando KIT en las células de Sertoli de los túbulos); (3) NGIS (gonocitos atípicos en la membrana basal con expresión de OCT3/4 acompañada por ligando KIT en las células de Sertoli y los gonocitos atípicos, con coexpresión de TSPY).

La neoplasia germinal in situ es el precursor común de los seminomas y los tumores no seminomatosos, compuestos por gonocitos transformados con características neoplásicas de desarrollo embrionario ⁽³⁾.

Las formas específicas de neoplasia intratubular germinal incluyen el seminoma intratubular y carcinoma embrionario intratubular, y raramente, tumor del saco vitelino y teratoma intratubular. La presencia de células trofoblásticas intratubulares ocurre ocasionalmente asociadas a seminoma, sin embargo, un componente intratubular de coriocarcinoma u otros tumores trofoblásticos no se ha descrito; pueden derivar de la transformación directa de células primordiales o de la diferenciación intratubular de una neoplasia germinal in situ ^(3, 4).

La heterogeneidad de los tumores testiculares germinales es responsable de muchos dilemas diagnósticos. El diagnóstico correcto y caracterización de dichos tumores se convierte en un reto para los patólogos, desde la manera de inclusión de los especímenes, la correlación con elevación de marcadores séricos y la interpretación cautelosa de los parámetros histológicos (como invasión linfovascular) ⁽⁴⁾.

Los tumores testiculares germinales más frecuentes relacionados con neoplasia in situ germinal son los seminomas, seguidos de los tumores mixtos, dentro de los cuales los componentes más frecuentemente encontrados son: carcinoma embrionario, tumor de saco vitelino y teratoma ^(4, 5) (figura 1).

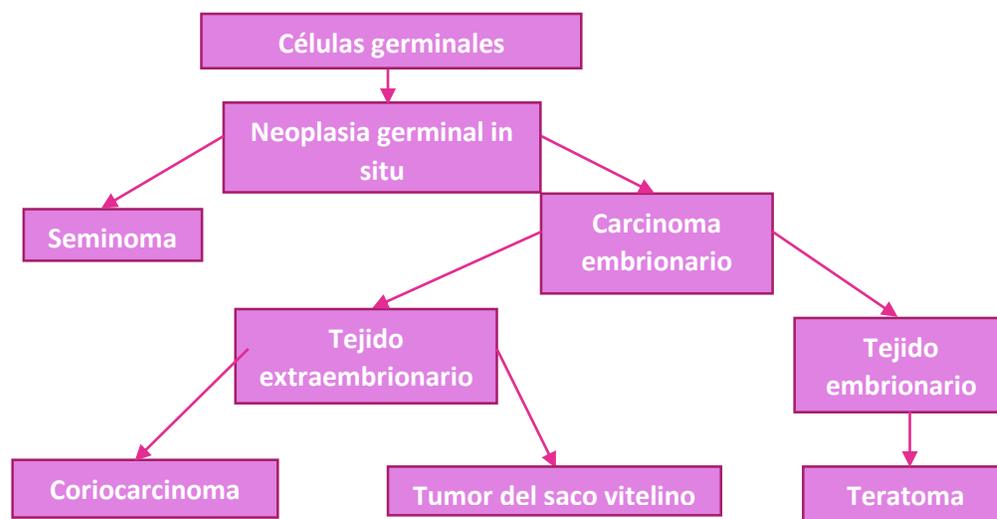


Figura 1. Algoritmo de la clasificación de los tumores germinales testiculares y su origen histológico.

En los últimos años, se han identificado muchos biomarcadores con la finalidad de discriminar entre los distintos tipos de tumores testiculares de células germinales. Además de su utilidad como marcadores que permiten la identificación histológica de dichos tumores, dichos biomarcadores pueden representar dianas terapéuticas moleculares ⁽⁶⁾.

El primer marcador de inmunohistoquímica utilizado para identificar las neoplasias germinales in situ y los tumores testiculares germinales derivados de éstas fue la fosfatasa alcalina placentaria (PLAP), utilizada en animales para detección de



células germinales primordiales ⁽⁴⁾. Otros marcadores de inmunohistoquímica de gran utilidad en el diagnóstico de neoplasias testiculares germinales han sido: OCT4, NANOG, SOX2, REX1, UTF1 y LIN28, así como podoplanina, AP-2 γ Y KIT (CD117) ^(6,7).

Los marcadores más útiles para distinguir los seminomas son: OCT3/4, NANOG, AP-2 γ , D2-40, KIT y PLAP. En el caso de los tumores no seminomas se puede ocupar un panel amplio para identificar distintos componentes histológicos; para distinguir el carcinoma embrionario son útiles OCT4, NANOG, SOX y CD30.

El tumor del saco vitelino produce y secreta α -fetoproteína (AFP), que se puede detectar en el suero del paciente y en el tejido tumoral, también son de utilidad Glypican-3 (GPC3) y SALL4. El coriocarcinoma contiene sincitios de células trofoblásticas que secretan gonadotropina coriónica humana, fracción β (β -hCG) ⁽⁷⁾.

OCT3/4 (también conocido como POU5F1) es un factor de transcripción nuclear de dominio POU y unión a octámero que se expresa en células pluripotenciales indiferenciadas, incluyendo las células madre embrionarias y células germinales humanas. El gen OCT3/4 se localiza en el cromosoma humano 6p21.3, y codifica una proteína fundamental en el mantenimiento de la pluripotencialidad de las células madre embrionarias y en las células germinales primordiales, cuya expresión disminuye en todos los tipos de células somáticas. También participa como factor de supervivencia de células madre (con función antiapoptósica), y se expresa fundamentalmente en la neoplasia germinal in situ, los seminomas y los carcinomas embrionarios ⁽⁸⁾.

También se ha reportado su utilidad como marcador para definir la presencia de lesiones metastásicas correspondientes a tumores germinales testiculares desde el 2004 ⁽⁸⁾, así como su utilidad clínica en el diagnóstico temprano de neoplasia germinal in situ. Se ha recomendado la utilización de OCT3/4 en la búsqueda de neoplasia germinal in situ en los paciente con antecedente de criptorquidia, independientemente de la edad en que se realizara orquidopexia; en pacientes infértiles o subfértiles con atrofia testicular y oligospermia con microlitiasis testicular bilateral asociada (por ultrasonografía), en pacientes con ambigüedad sexual somática con tejido testicular, y en pacientes con antecedente de tumor testicular o extragonadal de células germinales ⁽⁹⁾.

En otros estudios se ha valorado la utilidad de identificar cambios en la expresión de OCT3/4 asociados con la edad o bien la expresión de células germinales inmunopositivas para podoplanina en los túbulos seminíferos de niños prepúberes con criptorquidia, pues dicha expresión puede ser de utilidad en la detección de neoplasia germinal in situ ⁽¹⁰⁾. Estos argumentos son controversiales, pues otros autores han concluido que los marcadores inmunohistoquímicos que se utilizan en adultos para detectar neoplasia germinal in situ no pueden utilizarse en los niños con criptorquidia debido a que la marcación positiva es común que se detecte en tal grupo de edad, a la edad en que la mayoría de las orquidopexias se realizan, y



que es poco probable que se desarrolle una neoplasia germinal intratubular (in situ) durante el desarrollo fetal en los pacientes con criptorquidia ⁽¹¹⁾.

Otros estudios que se han realizado en la búsqueda de neoplasia germinal in situ implican la utilización de métodos no invasivos, como la evaluación de la expresión de OCT3/4 en el semen de pacientes con factores de riesgo para el desarrollo de neoplasia germinal in situ y tumor testicular germinal ⁽¹²⁾. Se logró demostrar que se pueden identificar células OCT3/4 positivas en el semen de la mayoría de los pacientes con neoplasia germinal in situ, en pacientes con diagnóstico de microlitiasis testicular, de masa testicular identificada por ultrasonido, y en pacientes postorquiectomía con muestras de semen preservadas para fines de tratamientos de fertilidad. Estos resultados ofrecen la posibilidad de un diagnóstico oportuno y la oferta de un tratamiento curativo en pacientes con potencial riesgo de desarrollo de neoplasia testicular germinal con los riesgos que conlleva.

Otros usos que se le ha dado a la inmunomarcación dirigida a los tumores de células germinales es la detección de metástasis en pacientes con diagnóstico de neoplasia germinal testicular, ya sea como diagnóstico de metástasis en un paciente sin tratamiento previo o en pacientes tratados con quimioterapia ^(13, 14).

El marcador OCT3/4 demostró ser altamente sensible y específico en la determinación de neoplasia metastásica en linfadenectomías retroperitoneales, para los casos de seminomas y carcinomas embrionarios, y demostrando ser de mayor utilidad diagnóstica que el uso de CD30 en los casos de carcinoma embrionario en pacientes con antecedente de quimioterapia por un tumor testicular germinal.

Es importante hacer esta distinción porque la quimioterapia que se utiliza en los pacientes diagnosticados con neoplasias germinales testiculares se ha asociado al desarrollo de neoplasias no germinales secundarias, por lo cual la determinación de neoplasia germinal residual metastásica y de una neoplasia no germinal con metástasis implica un pronóstico y estrategias terapéuticas completamente diferentes.

La podoplanina (PPN), (también conocida como AGGRUS, gp36, M2A y TIA-2) es reconocida por el anticuerpo D2-40. Es una glucoproteína transmembrana de 38 kDa codificada por un gen del brazo corto del cromosoma 1 (1p36.21), y es expresada en varios tejidos, siendo el homólogo de la proteína aggrus de los ratones (una sialoglucoproteína de 44 kDa). Breiteneder-Geleff y sus colegas la describieron originalmente en los podocitos glomerulares de la rata en 1997, y desde entonces se ha observado en el endotelio linfático, mesotelio, varios epitelios, células dendríticas hematopoyéticas, células dendríticas foliculares y células germinales de varias especies, incluyendo humanos ⁽¹⁵⁾.



El antígeno CD30 es parte de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral y tiene efectos pleiotrópicos en las células que lo expresan. CD30 puede identificarse en tejidos congelados con el anticuerpo Ki-1 o en cortes desparafinados con el anticuerpo BerH2. El patrón de tinción aceptado es membranoso o paranuclear “tipo Golgi” (dot-like). Se expresa en el linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), en la papulosis linfomatoide y se observa en 95% de casos de linfoma de Hodgkin clásico en las células HRS, así como neoplasias no hematolinfoides, como el carcinoma embrionario y melanomas, y neoplasias mesenquimatosas benignas y malignas ⁽¹⁵⁾.

La podoplanina se expresa en hasta el 95% de las neoplasias germinales in situ y el 98% de los seminomas, pero raramente se identifica en componentes no seminomatosos, siendo un marcador de alta sensibilidad y especificidad en el contexto de las neoplasias germinales testiculares ⁽¹⁶⁾.

Por su parte, CD30 se utiliza en la detección del carcinoma embrionario y su diferenciación de otros tumores germinales testiculares que morfológicamente pueden remedar su aspecto histológico, como las variantes pleomórficas del seminoma, y algunos patrones histológicos del tumor del saco vitelino ⁽¹⁷⁾.

En otros estudios se ha utilizado CD30 y KIT para diferenciar el carcinoma embrionario (CD30+, KIT-) del seminoma (KIT+, CD30-), resaltando que la inmunoreactividad para podoplanina con el anticuerpo D2-40 es altamente sensible para el seminoma, pero que puede llegar a marcar focalmente en algunos casos de carcinoma embrionario ⁽¹⁸⁾.



2. JUSTIFICACIÓN:

En México la prevalencia de neoplasias testiculares es elevada, alcanzando el 21.2% del total de casos de cáncer genitourinario en las series más recientes de epidemiología nacional ⁽³⁾. El diagnóstico morfológico ha sido complementado en los últimos años con nuevos marcadores de inmunohistoquímica.

La clasificación morfológica de los tumores testiculares de células germinales puede presentar retos diagnósticos, por lo cual es importante la valoración de recursos auxiliares, como la inmunohistoquímica para diagnóstico preciso, con implicaciones pronósticas. En el Hospital Juárez de México es frecuente la patología neoplásica testicular, respetando los mismos porcentajes descritos a nivel nacional.

Es importante evaluar las herramientas que de forma rutinaria empleamos en la caracterización morfológica e inmunofenotípica de una patología frecuente en nuestro medio.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

- ¿En qué medida la aplicación de los marcadores de inmunohistoquímica OCT3/4, podoplanina y CD30 impacta en el diagnóstico de las neoplasias testiculares germinales en nuestro medio, en el contexto de la nueva clasificación de tumores testiculares de la OMS del 2016?

4. OBJETIVOS:

4.1 OBJETIVO GENERAL:

- Describir la expresión inmunohistoquímica de nuevos marcadores de línea germinal en los tumores testiculares de células germinales en la población del Hospital Juárez de México y su utilidad para la caracterización morfológica según la nueva clasificación de la OMS de tumores testiculares.



4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Identificar el espectro morfológico y subtipo histológico más frecuente de neoplasia germinal testicular en nuestro medio.
2. Conocer la expresión de los marcadores OCT3/4, podoplanina y CD30 en la serie estudiada.
3. Correlacionar la expresión inmunofenotípica de los marcadores OCT3/4, podoplanina y CD30 y el subtipo histopatológico asignado previo a la inmunomarcación.
4. Establecer la frecuencia de neoplasia germinal in situ en la casuística estudiada.

5. METODOLOGÍA:

5.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

- Se realizó un estudio observacional, ambispectivo, descriptivo y analítico, no experimental.

5.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA:

- De los 30 casos seleccionados inicialmente para la investigación, solamente se estudiaron 27 casos, esto debido a que tres de los casos seleccionados se catalogaron como material insuficiente.

5.3 MATERIAL Y MÉTODOS:

- a. El material se obtuvo de los especímenes quirúrgicos testiculares registrados en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México así como de material de revisión remitido a esta institución con el mismo concepto (neoplasias testiculares) en el período comprendido entre enero de 2015 y enero de 2019, con el diagnóstico histopatológico de neoplasia testicular germinal.
- b. Se realizó inmunomarcación con los anticuerpos para OCT3/4, podoplanina y CD30 en el material seleccionado para la determinar la correlación morfológica y la expresión inmunofenotípica.
- c. Se categorizaron los casos utilizando los criterios diagnósticos establecidos por la clasificación de la OMS del 2016 de neoplasias testiculares germinales.



5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

a. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Material correspondiente a piezas quirúrgicas con el diagnóstico histopatológico de tumores testiculares de células germinales (seminoma, no seminoma y neoplasias mixtas).

b. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Material del archivo insuficiente, ausente o dañado para la evaluación e inmunomarcación.
2. Casos de lesiones testiculares no neoplásicas.
3. Neoplasias testiculares distintas a las referidas en los criterios de inclusión.

5.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES:

1. VARIABLES INDEPENDIENTES:

- I. Subtipo histológico (variable cualitativa nominal), según la clasificación histológica de los tumores testiculares de la OMS, 2016.
- II. Edad (variable cuantitativa), expresada en años.
- III. Neoplasia germinal intratubular (variable cualitativa), expresada como presente o ausente.

2. VARIABLES DEPENDIENTES:

- I. Parámetros histológicos (variable cualitativa, nominal): tamaño tumoral, infiltración de estructuras adyacentes, presencia o ausencia de necrosis, cambios asociados a tratamiento, extensión extracapsular, invasión linfovascular e invasión perineural, estatus de márgenes quirúrgicos, presencia de alteraciones morfológicas secundarias (hallazgos incidentales).
- II. Estado de inmunomarcación (variable cualitativa nominal), positivo o negativo, intensidad de la marcación, marcación aberrante (distinta a la esperada).
- III. Cantidad de inmunomarcación (variable cuantitativa), expresada en porcentaje con respecto al tejido evaluado.



5.6 TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS:

- Las muestras de tejido se fijaron en formol neutro al 10% para su procesamiento histológico automático (deshidratación, aclaración, inclusión en parafina) y cortes de espesor entre 2-4 micras.
- Se utilizaron cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina para observación al microscopio de luz convencional, así como tinciones de inmunomarcación automatizada con sistema AVIDINA-BIOTINA-ESTREPTAVIDINA con anticuerpos para OCT3/4, podoplanina y CD30, utilizando controles positivos y negativos.
- Se revisaron las laminillas en campos de bajo aumento (10x) y gran aumento (40x) para observar los patrones morfológicos. Las inmunoreacciones se revisaron en campos de bajo aumento (10x) y gran aumento (40x) para valorar su positividad o negatividad.

MARCADOR	NATURALEZA	DILUCIÓN	INTERPRETACIÓN	CONTROL POSITIVO	PROCEDENCIA
OCT3/4	ANTICUERPO MONOCLONAL DE RATÓN	1:50-1:100	MARCACIÓN NUCLEAR	SEMINOMA	ZETA Corporation
PODOPLANINA	ANTICUERPO MONOCLONAL DE RATÓN	1:100-1:200	MARCACIÓN DE CITOPLASMA	LINFANGIOMA / APÉNDICE	Dako
CD30	ANTICUERPO MONOCLONAL DE RATÓN	1:50-1:100	MARCACIÓN DE MEMBRANA	CÉLULAS HRS (LINFOMA DE HODGKIN)	Diagnostic BioSystems

6. ASPECTOS ÉTICOS:

- De acuerdo al artículo 17 de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, en su capítulo único y considerando como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio, este estudio se clasifica como: INVESTIGACIÓN SIN RIESGO. Se trató de una investigación observacional sobre muestras recabadas de archivos del laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México y no directamente sobre los sujetos cuyas muestras fueron estudiadas. No se tuvo acceso directo a datos personales de los pacientes, ya que se manejaron únicamente números de biopsias, a los cuales se le asignaron números consecutivos. Los resultados de la investigación no alteraron el diagnóstico, pronóstico, ni tuvieron implicaciones en el manejo de los pacientes o sus familiares. No se contactó a ninguno de los pacientes y no requirió, por todo lo antes expuesto, de consentimientos informados.



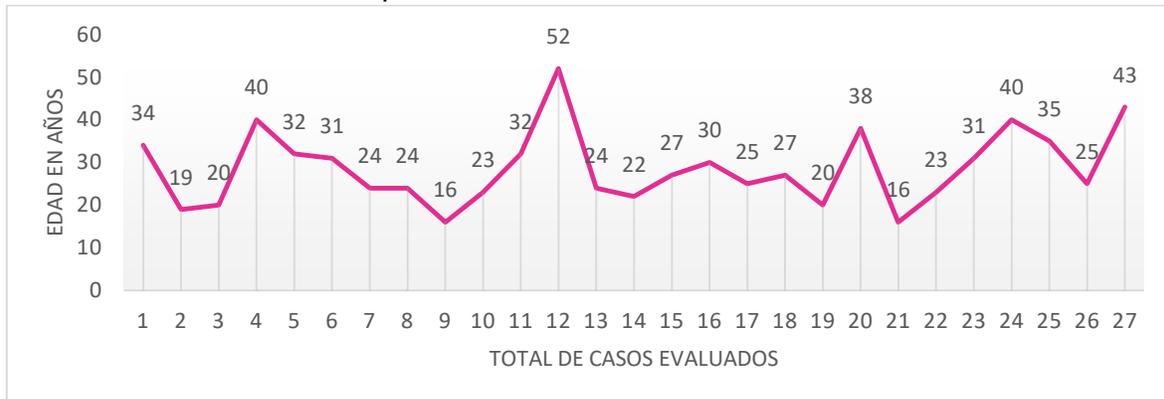
7. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD:

- El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México en concordancia con las medidas y estándares de bioseguridad normados para el funcionamiento de éstos en el país.

8. RESULTADOS:

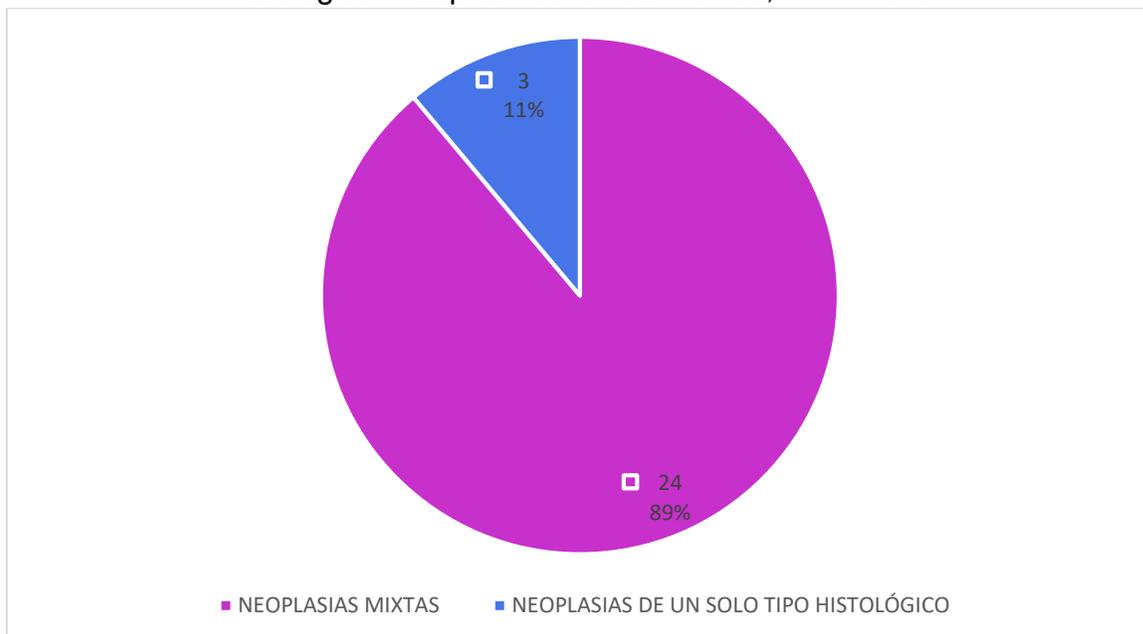
Todos los casos examinados corresponden a hombres y la edad de presentación varía desde los 16 años hasta los 52 años (gráfica 1), con una edad promedio de presentación de 28.62 años.

Gráfica 1. “Neoplasias testiculares germinales. Edad de presentación. Hospital Juárez de México. 2015-2019”.

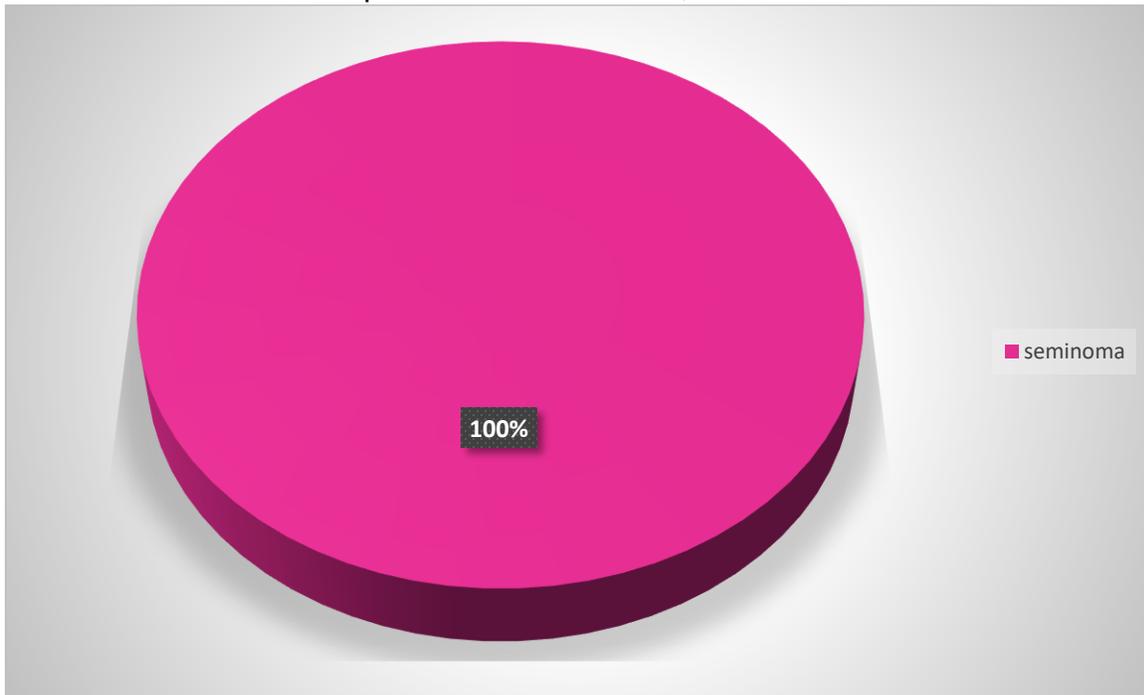


De los 27 casos examinados, 24 casos corresponden a neoplasias con más de un tipo histológico (carcinoma embrionario, seminoma, tumor del saco vitelino, teratoma, etc.), correspondiendo al 89% del total de la muestra. Los 3 casos restantes de un solo tipo histológico corresponden a seminomas (gráficas 2 y 3).

Gráfica 2. “Neoplasias Testiculares Germinales. Distribución según tipo histológico. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



Gráfica 3. “Neoplasias Testiculares Germinales con un solo tipo histológico.
Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



La lateralidad del tumor fue determinada en 17 de los 27 casos estudiados, siendo afectado el testículo derecho en 9 casos (33%) y el izquierdo en los 8 restantes (29.6%). En ninguno de los 10 casos externos (37%), la lateralidad tumoral fue remitida en la solicitud de revisión del material, por lo que se consideró como no precisada (gráfica 4).

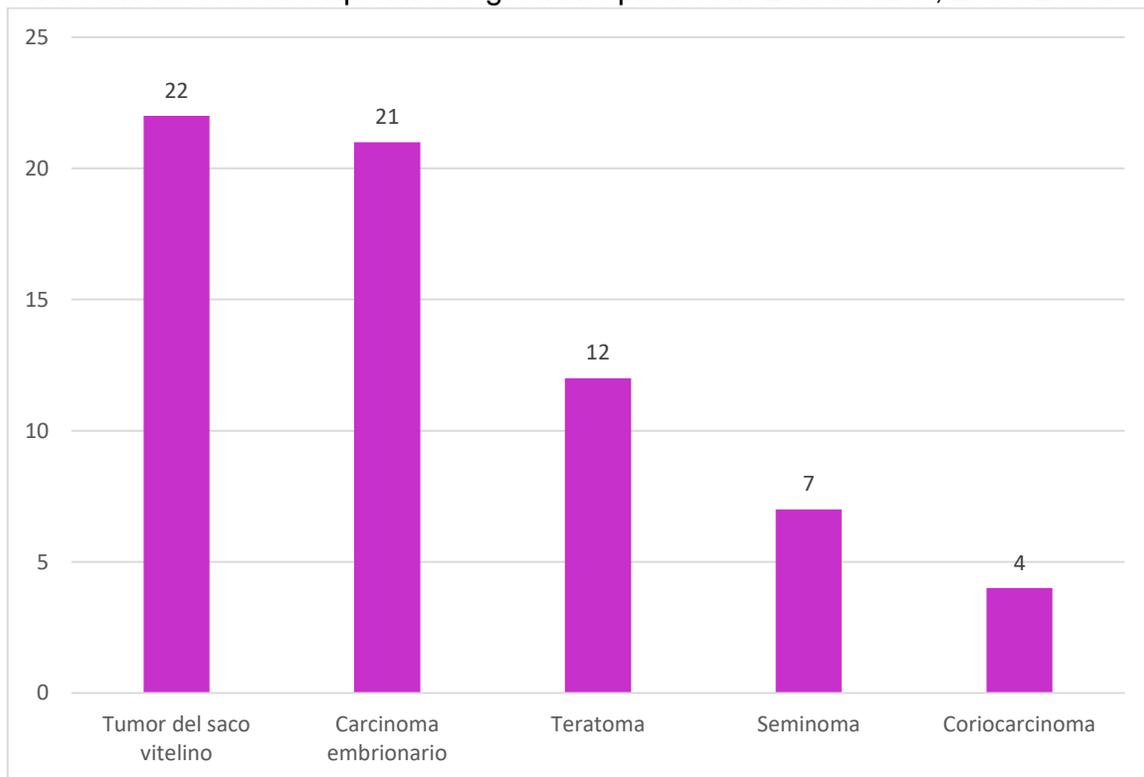
Gráfica 4. “Neoplasias Testiculares Germinales. Distribución según Lateralidad Tumoral. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



8.1 HALLAZGOS MORFOLÓGICOS:

De los 24 casos revisados que corresponden a neoplasias germinales mixtas, 21 de 24 contienen un componente de carcinoma embrionario, 22 de 24 contienen un componente de tumor del saco vitelino, 12 de 24 cuentan con un componente de teratoma, 7 de 24 cuentan con un componente de seminoma y solamente 4 de 24 contienen un componente de coriocarcinoma (gráfica 5).

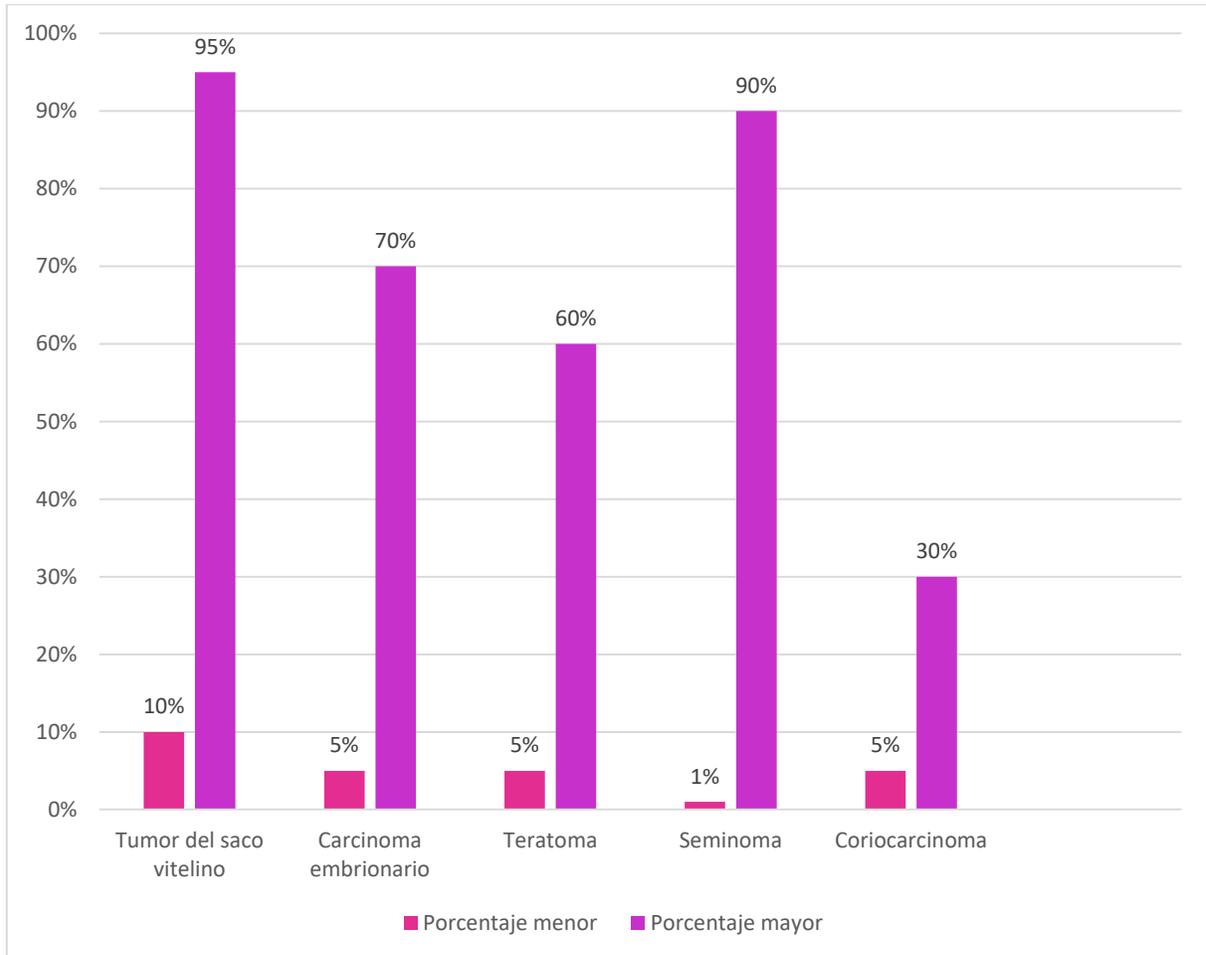
Gráfica 5. “Neoplasias Testiculares Germinales Mixtas. Distribución según Presencia de Cada Tipo Histológico. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



Los porcentajes que se determinaron para cada subtipo histológico son altamente variables, debido a que un subtipo histológico en casos mixtos puede involucrar desde un 1% hasta un 95%; por cada subtipo histológico en los casos de neoplasias mixtas se refleja la variabilidad porcentual de la siguiente manera:

Tipos histológicos:	% Máximo	% Mínimo
Tumor del saco vitelino	95	10
Carcinoma embrionario	70	5
Teratoma	60	5
Seminoma	90	1
Coriocarcinoma	30	5

Gráfica 6. “Neoplasias Testiculares Germinales Mixtas. Proporciones relativas (máximo/mínimo) para Cada Tipo Histológico. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



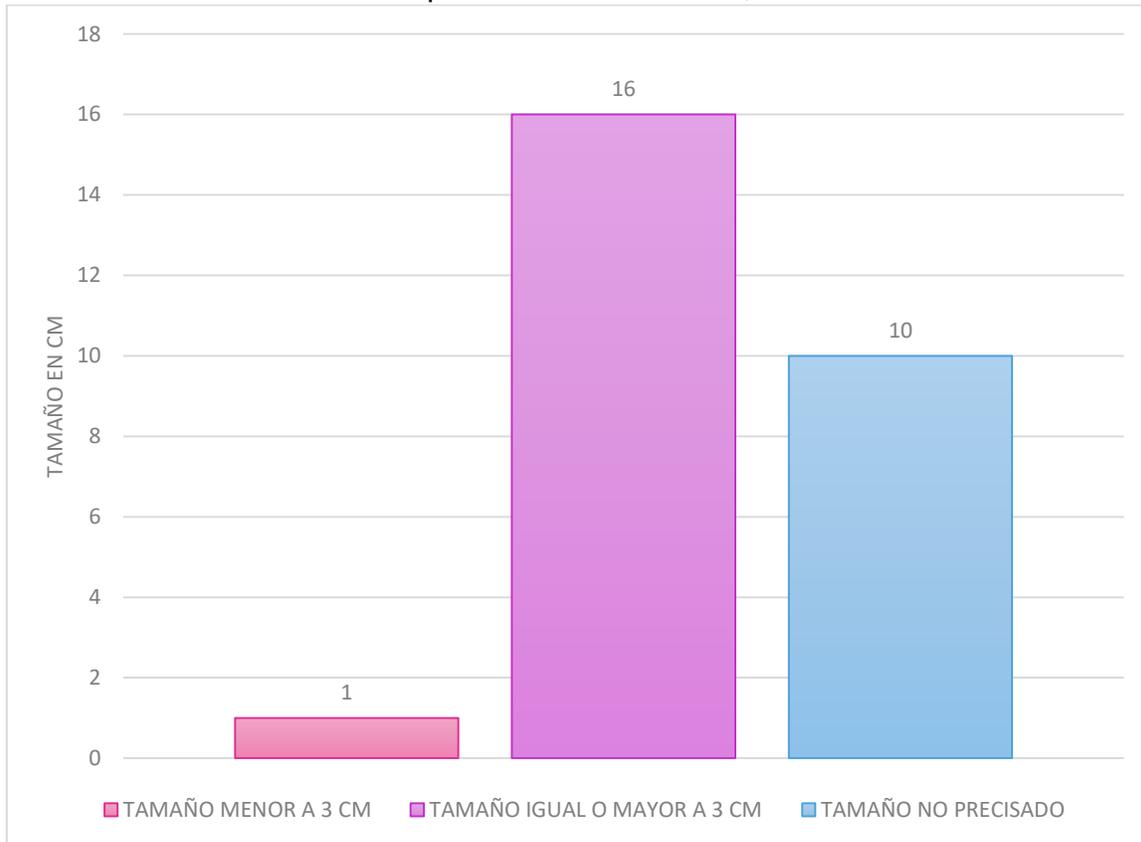
En la gráfica 6 se describen los porcentajes menor y mayor de cada subtipo histológico en los casos de neoplasias germinales mixtas estudiados.

De las piezas trabajadas en esta unidad (orquiectomías derechas o izquierdas), se tiene reporte sobre el peso y tamaño tumoral, y de todos los casos incluyendo el material de revisión se tiene reporte de los siguientes hallazgos histopatológicos:

- Presencia de necrosis.
- Estado de márgenes quirúrgicos.
- Presencia o ausencia de invasión linfovascular.
- Presencia o ausencia de invasión perineural.
- Presencia o ausencia de neoplasia germinal intratubular.
- Otros hallazgos no relacionados con la neoplasia.

Los hallazgos obtenidos se esquematizan en las siguientes gráficas:

Gráfica 7. “Neoplasias Testiculares Germinales. Distribución según tamaño tumoral. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”

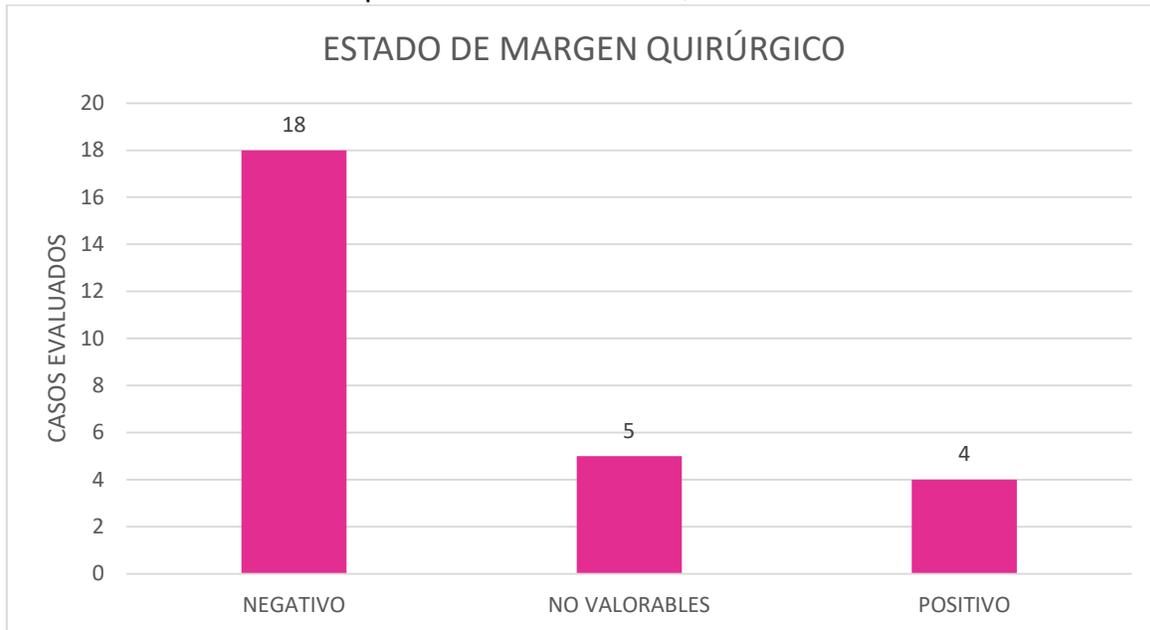


El tamaño tumoral en las piezas revisadas resultó variable, siendo el tumor de menor diámetro de 2.5cm y el mayor de 14 cm; el tamaño tumoral se promedió de la siguiente manera: tumores menores a 3 cm, tumores de 3 cm o mayor tamaño, y tamaño del tumor no precisado, esto de acuerdo a la guía de la AJCC en su octava edición sobre el estadio patológico de las neoplasias testiculares germinales (aplicable para seminomas) (gráfica 7).

Con respecto al estado de márgenes quirúrgicos, se encuentran reportados de la siguiente manera: positivos para neoplasia (positivo), negativos para neoplasia (negativo) y no valorables por corresponder a casos no procesados en el laboratorio de patología de nuestra institución (casos externos). Se representan en la gráfica 8 los resultados evaluados.

Se evaluó en todos los casos examinados el reporte de necrosis tumoral. De los 27 casos evaluados, 7 se reportaron con necrosis extensa y en los 20 restantes no se reportó necrosis tumoral. La necrosis es un factor histológico que puede interpretarse como alta actividad neoplásica, crecimiento desmesurado más allá de la capacidad de la neoplasia de generar aporte vascular, o bien como cambios que se asocian a tratamiento neoadyuvante y citorrreductor (quimioterapia/radioterapia).

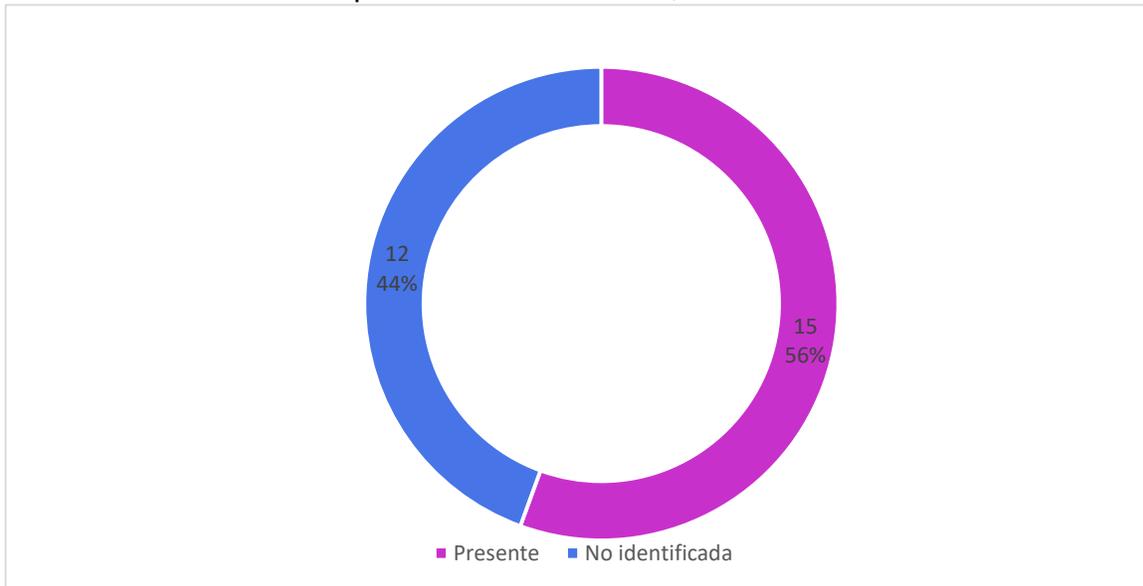
Gráfica 8. “Neoplasias Testiculares Germinales. Estado de márgenes quirúrgicos. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



El protocolo de evaluación y reporte de las neoplasias testiculares germinales basado en el modelo de College of American Pathologists modificado en junio del año 2017 ⁽¹⁹⁾ enlista las características más importantes para la estadificación de los tumores testiculares germinales, de los cuales el tamaño tumoral, la extensión tumoral y la presencia de invasión linfovascular son los factores que determinan los estadios tempranos según el modelo de estadificación internacional TNM recomendado por la AJCC en su octava edición ⁽²⁶⁾. La invasión linfovascular se define como la presencia de permeación por células neoplásicas hacia espacios vasculares ya sean linfáticos (vasos de paredes delgadas revestidos por células endoteliales) o vasos sanguíneos (venas principalmente), incluyendo también la diseminación a través de capilares sanguíneos. En múltiples estudios se ha determinado que la presencia de invasión linfovascular se correlaciona con un riesgo significativo elevado de metástasis a distancia, lo cual cobra mayor importancia diagnóstica en pacientes encontrados en un estadio clínico I de la enfermedad, por lo cual es fundamental la importancia de su descripción en el reporte histopatológico ^(20, 27).

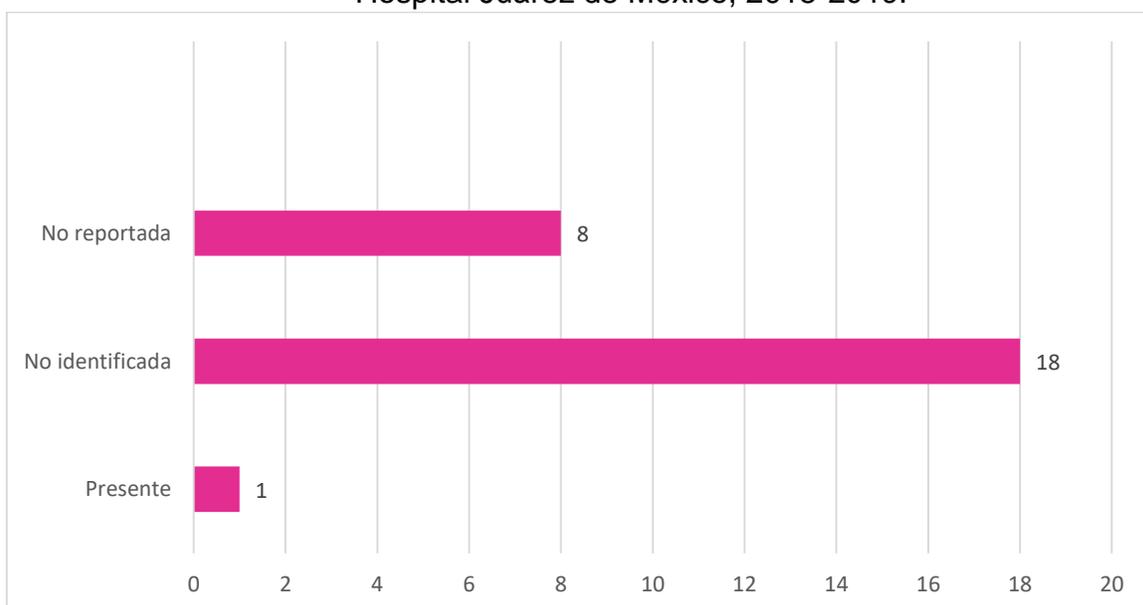
La invasión linfovascular la encontramos reportadas en los casos examinados de la siguiente manera: presente y no identificada; éste último haciendo referencia a que en el muestreo evaluado del tejido neoplásico y adyacente no se puede evidenciar histológicamente el componente de angioinvasión, pero no puede ser descartado (debido a la naturaleza propia del procesamiento de piezas quirúrgicas). En la gráfica 9 se representan los porcentajes de casos positivos y sin evidencia de invasión vascular / linfática.

Gráfica 9. “Neoplasias Testiculares Germinales. Invasión vascular/linfática.
Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



La presencia de invasión perineural es un hallazgo histomorfológico de importancia como factor pronóstico, aunque de menor impacto, por lo que es opcionalmente reportada (en la gráfica 10 se proyecta el hallazgo del estudio). La invasión perineural indica el riesgo de diseminación de la neoplasia hacia trayectos nerviosos en sentido ascendente más allá de lo valorable en la pieza quirúrgica y por ende, implica siempre posibilidad de recurrencia de neoplasia a pesar de encontrarse márgenes quirúrgicos libres de lesión en el tejido examinado ^(20, 28).

Gráfica 10. “Neoplasias Testiculares Germinales. Invasión perineural.
Hospital Juárez de México, 2015-2019.”

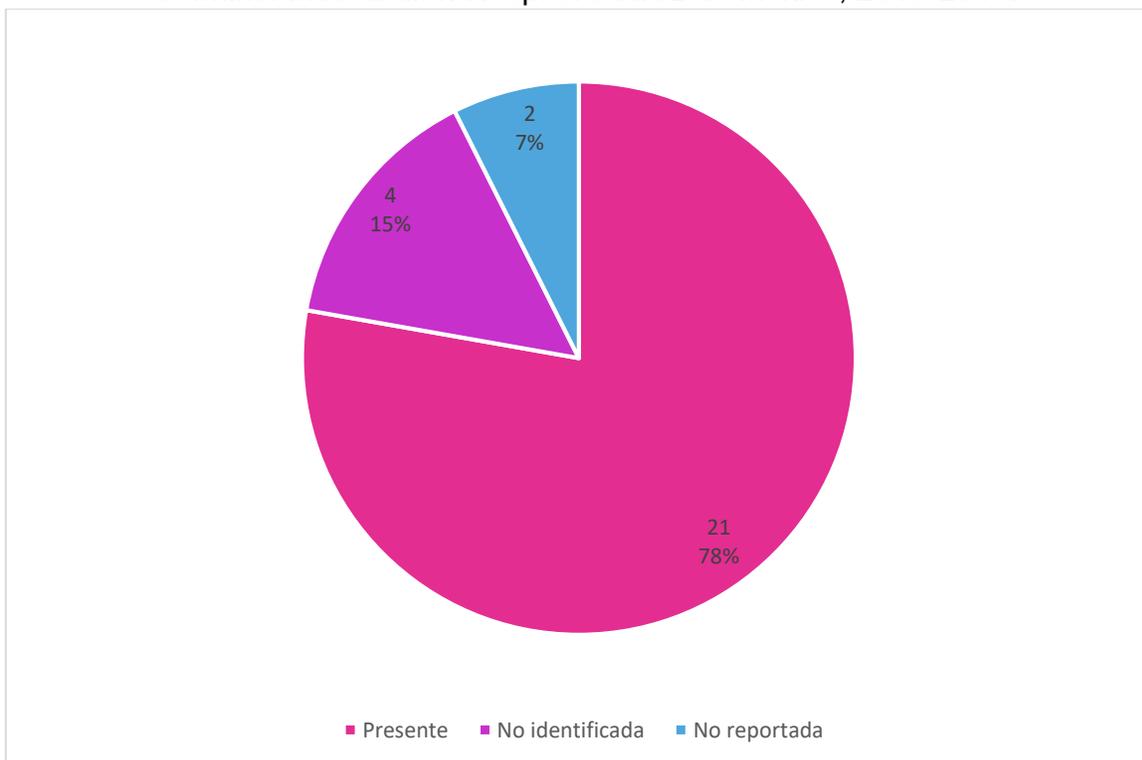


El siguiente hallazgo morfológico reportado se trata de la presencia de neoplasia germinal intratubular en los casos examinados. Como se ha mencionado, la neoplasia germinal intratubular se considera la lesión precursora que da origen a las neoplasias germinales testiculares (postpuberales), independientemente del tipo histológico, y comparten alteraciones cromosómicas como la formación de un isocromosoma del brazo corto de cromosoma 12, i(12p) ^(22, 23, 24). La neoplasia germinal intratubular se puede reportar según las guías recomendadas por el College of American Pathologists de la siguiente manera:

- Neoplasia germinal in situ.
- Seminoma in situ.
- Carcinoma embrionario in situ.
- Otra neoplasia germinal intratubular (especificar cuál).

En nuestra casuística se reporta la neoplasia germinal intratubular de la siguiente manera (gráfica 11):

Gráfica 11. “Neoplasias Testiculares Germinales. Presencia de Neoplasia Germinal Intratubular. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



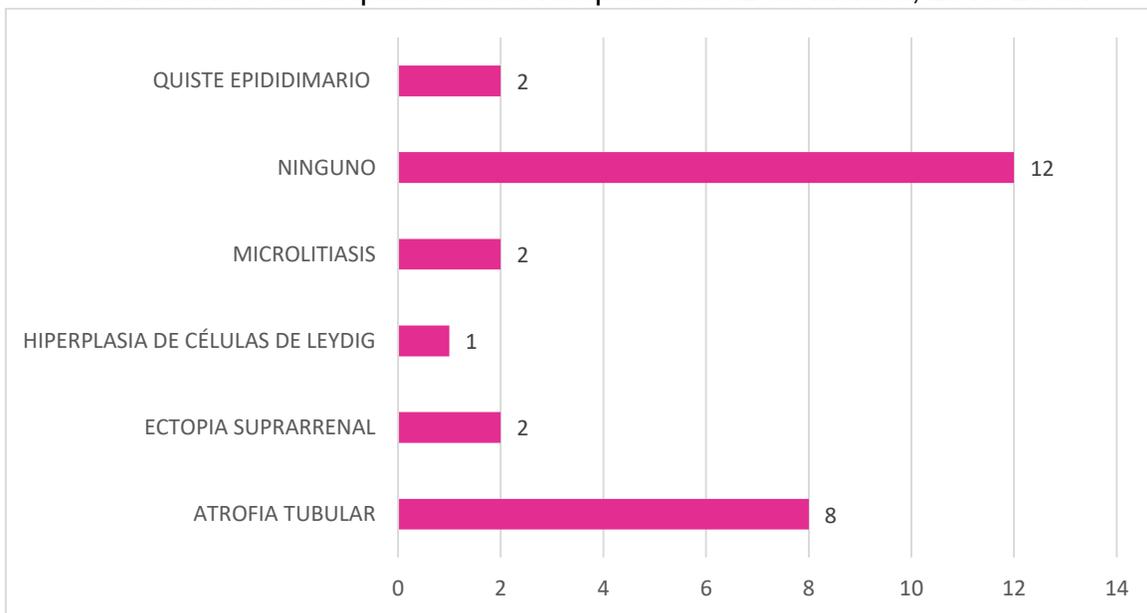
El último hallazgo morfológico que nosotros reportamos en el material examinado en laminillas teñidas de manera rutinaria (hematoxilina y eosina) es la presencia de otros hallazgos morfológicos secundarios o que no estén vinculados con la

neoplasia germinal, de los cuales se encuentran reportados los siguientes enlistados (gráfica 12):

- Atrofia de túbulos seminíferos: 8 casos (29.62%).
- Microlitiasis: 2 casos (7.40%).
- Quistes epididimarios: 2 casos (7.40%).
- Presencia de tejido suprarrenal ectópico: 2 casos (7.40%).
- Hiperplasia de células de Leydig: 1 caso (3.70%).
- Ningún hallazgo significativo: 12 casos (44.44%).

De todos los cuales la presencia de microlitiasis en los túbulos seminíferos adyacentes se considera un hallazgo histológico que se asocia con riesgo de desarrollo de neoplasia germinal intratubular ⁽²⁰⁾. Los demás hallazgos suelen ser bien secundarios a la presencia de una neoplasia germinal invasiva, o bien son hallazgos secundarios sin relación directa con la neoplasia germinal.

Gráfica 12. “Neoplasias Testiculares Germinales. Hallazgos Histológicos Coexistentes en Orquiectomías. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



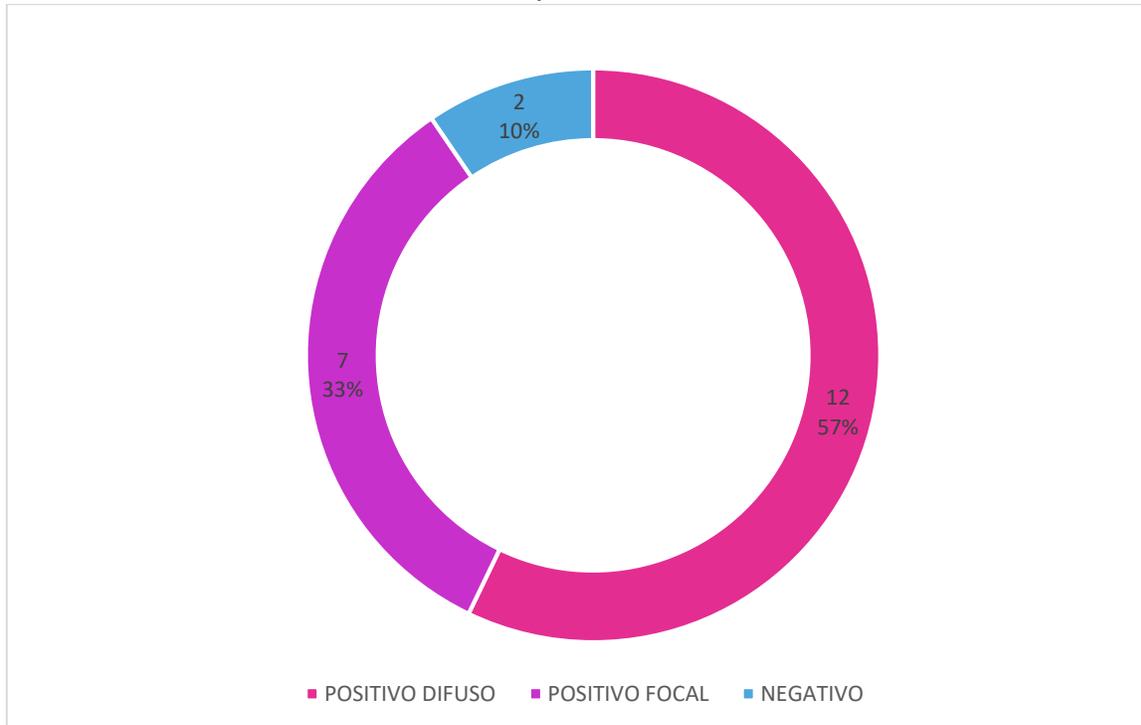
8.2 HALLAZGOS DE INMUNOHISTOQUÍMICA:

Los resultados se interpretaron de la siguiente manera:

- CD30: marcación positiva en el plasmalema de las células neoplásicas.
- OCT3/4: marcación positiva en los núcleos de las células neoplásicas.
- Podoplanina (D2-40): marcación positiva en el citoplasma de las células neoplásicas.

De los 21 casos que se diagnosticaron como neoplasia germinal mixta con componente de carcinoma embrionario, 19 casos mostraron reactividad para la inmunomarcación con CD30 (cualquier porcentaje de marcación) y 2 fueron negativos (no expresaron marcación con CD30) (gráfica 13); de los 19 casos positivos para CD30, 7 casos mostraron positividad focal y 12 casos mostraron positividad difusa de la marcación.

Gráfica 13. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de CD30 en el carcinoma embrionario. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”

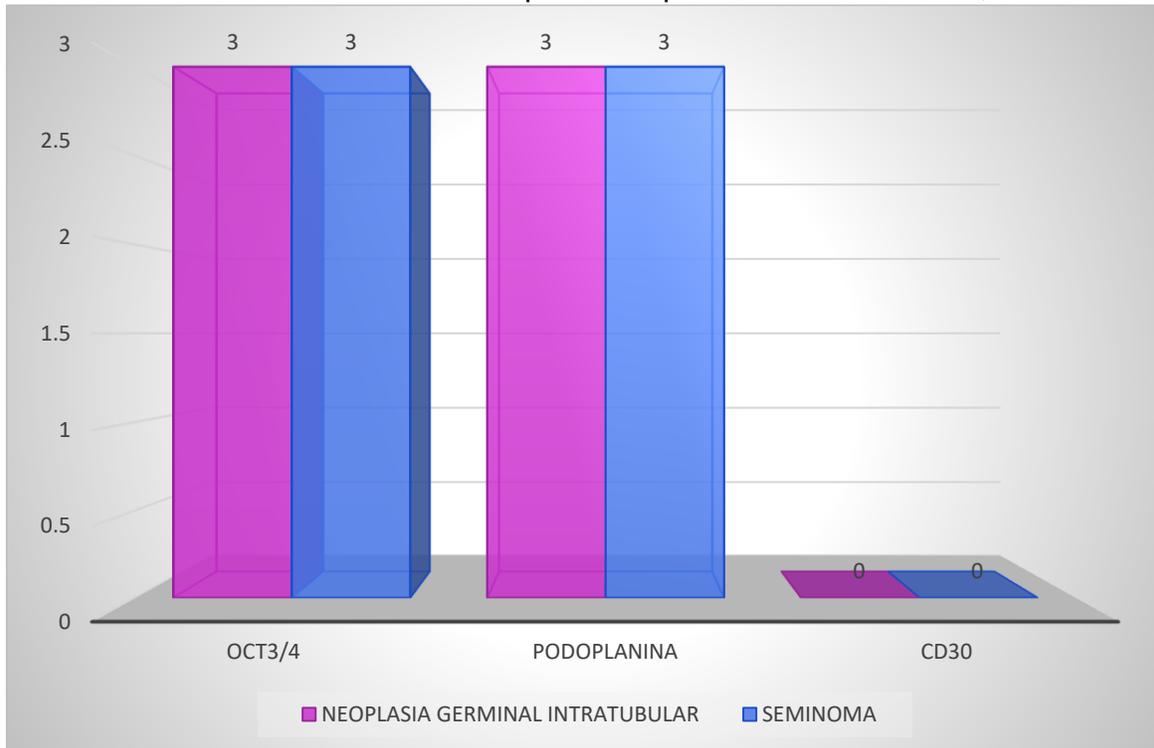


En los 2 casos que fueron negativos para CD30, uno había sido reportado con un porcentaje de 10% correspondiente a carcinoma embrionario del total de tumor examinado, el otro caso había sido reportado con un porcentaje de 5% correspondiente a carcinoma embrionario del total de tumor examinado.

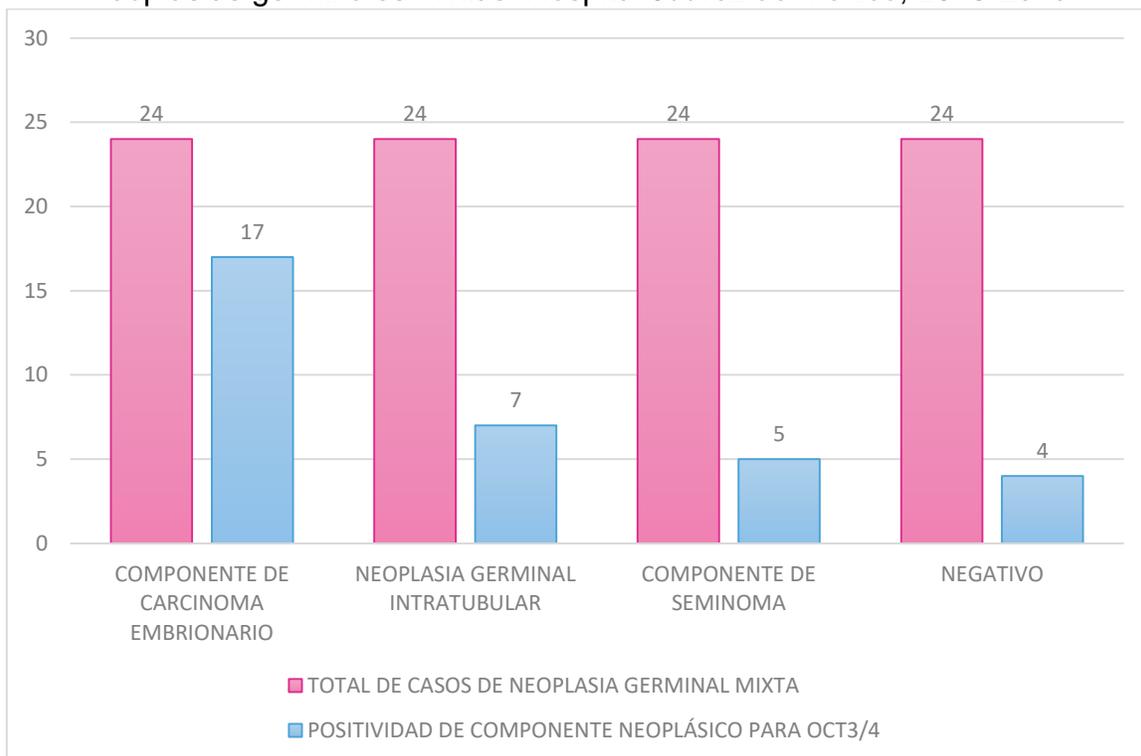
En los tres casos que fueron neoplasias puras y se diagnosticaron por morfología con hematoxilina y eosina como seminomas, se realizó inmunomarcación con CD30, OCT3/4 y Podoplanina, con los siguientes resultados (gráfica 14):

- OCT3/4: positivo difuso en los 3 casos para seminoma y N.G.I.T.
- Podoplanina: positivo difuso en los 3 casos para seminoma y N.G.I.T.
- CD30: negativo en los 3 casos.

Gráfica 14. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de inmunomarcadores en el seminoma puro. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



Gráfica 15. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de OCT3/4 en las neoplasias germinales mixtas. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”

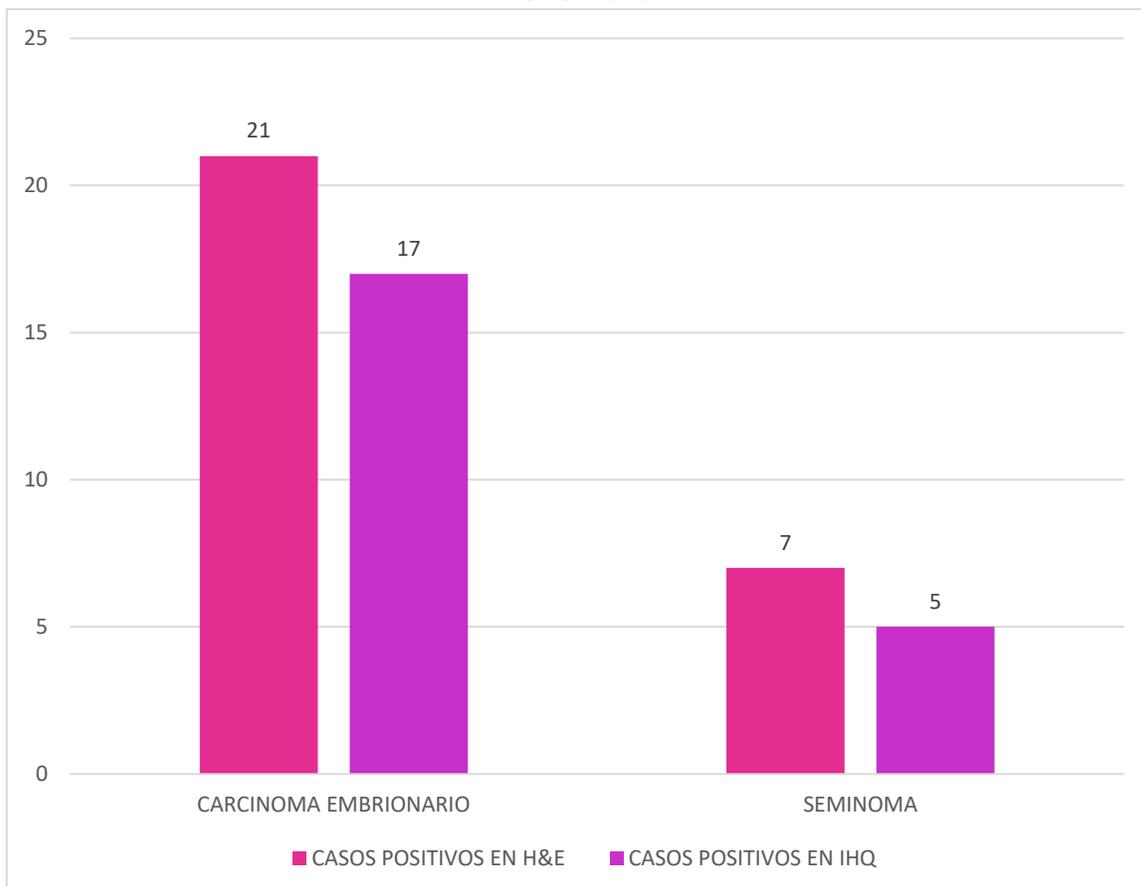


Se realizó inmunomarcación con OCT3/4 en todos los casos diagnosticados como neoplasias germinales mixtas (24 casos), de los cuales 7 casos se reportaron con un componente de seminoma en H&E. Los resultados para dichos marcadores fueron los siguientes (gráfica 15):

- OCT3/4:
 - Positivo en componente de carcinoma embrionario: 17 casos
 - Positivo en componente de seminoma: 5 casos
 - Positivo en neoplasia germinal intratubular (N.G.I.T.): 7 casos.
 - Negativo: 4 casos.

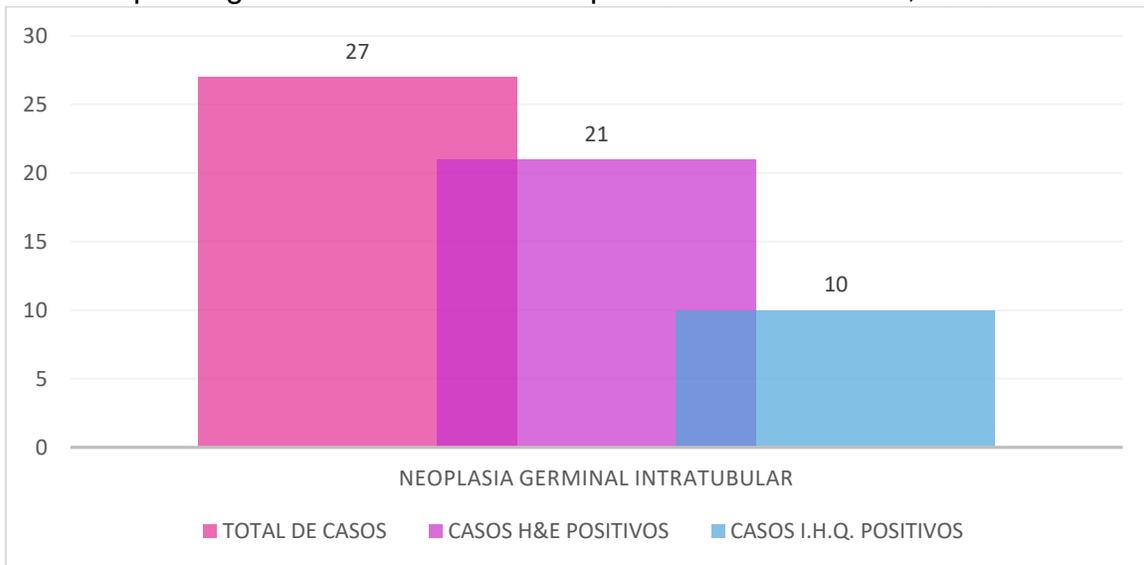
Se puede observar que, de los 21 casos diagnosticados en H&E como neoplasias germinales mixtas con componente de carcinoma embrionario, sólo 17 casos fueron positivos para OCT3/4, mientras que de 7 casos diagnosticados en H&E como neoplasias germinales mixtas con componente de seminoma, sólo 5 casos fueron positivos para OCT3/4, lo cual corresponde a un margen de sensibilidad de 80.95% para el carcinoma embrionario y de 71.42% para el seminoma (gráfica 16).

Gráfica 16. “Neoplasias Testiculares Germinales. Relación de la expresión de OCT3/4 en el carcinoma embrionario y seminoma. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



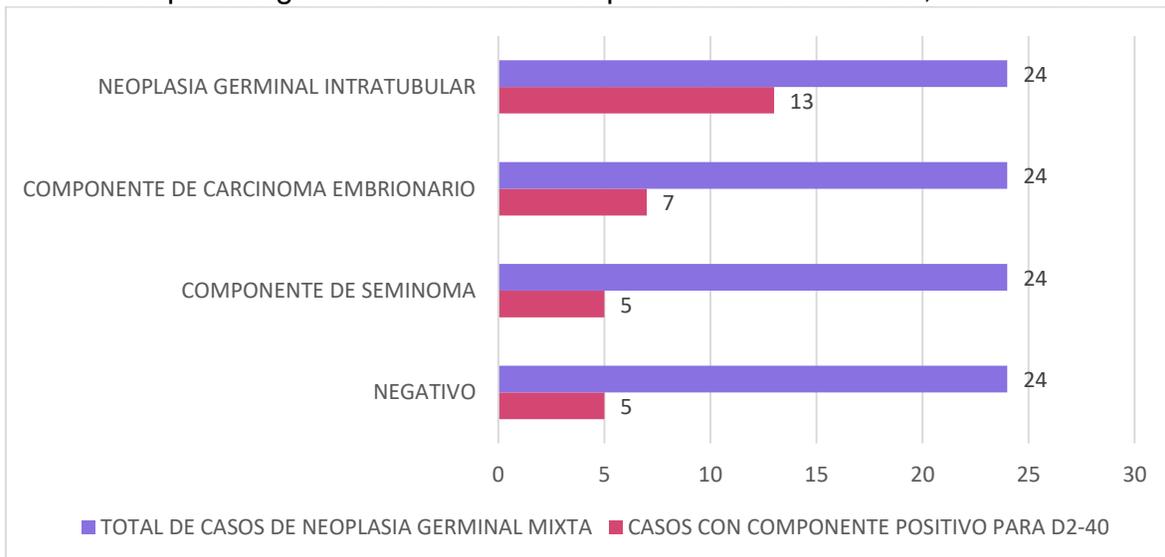
De los 27 casos examinados en totalidad (neoplasias germinales puras y mixtas), 21 se reportaron con presencia de neoplasia germinal intratubular en el material de rutina (hematoxilina y eosina) (gráfica 15); en el estudio de inmunohistoquímica solamente 10 casos fueron positivos por medio de inmunohistoquímica con OCT3/4 para neoplasia germinal intratubular (37,03%) de los 27 casos en total (Gráfica 17).

Gráfica 17. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de OCT3/4 en la neoplasia germinal intratubular. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



El tercer marcador de inmunohistoquímica evaluado es la Podoplanina (D2-40), el cual se realizó en los 24 casos examinados como neoplasias germinales mixtas del estudio y se obtuvo la siguiente bitácora de resultados (gráfica 18):

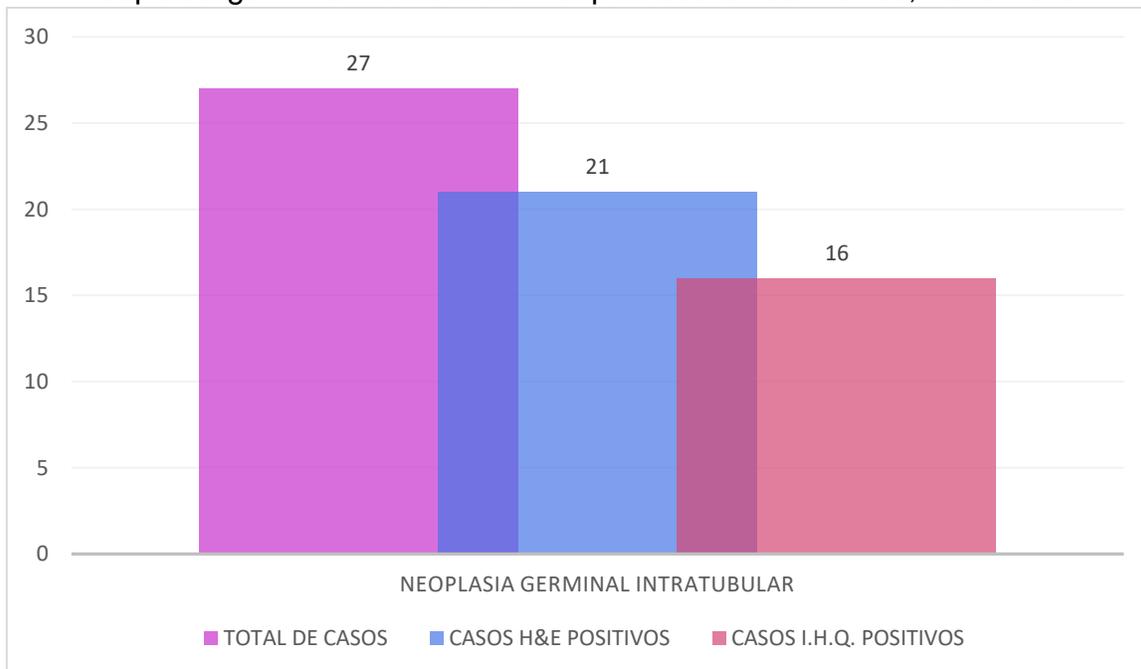
Gráfica 18. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de Podoplanina en las neoplasias germinales mixtas. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



- Podoplanina:
 - Positivo en neoplasia germinal intratubular: 13 casos.
 - Positivo en componente de seminoma: 5 casos.
 - Positivo en componente de carcinoma embrionario (apical): 7 casos.
 - Negativo: 5 casos.

De los 27 casos examinados en totalidad (neoplasias germinales puras y mixtas), 21 se reportaron con presencia de neoplasia germinal intratubular en el material de rutina (hematoxilina y eosina) (gráfica 15); en la evaluación de inmunohistoquímica que realizamos, 16 casos fueron positivos con Podoplanina para neoplasia germinal intratubular (59.25%) del total de 27 casos (Gráfica 19).

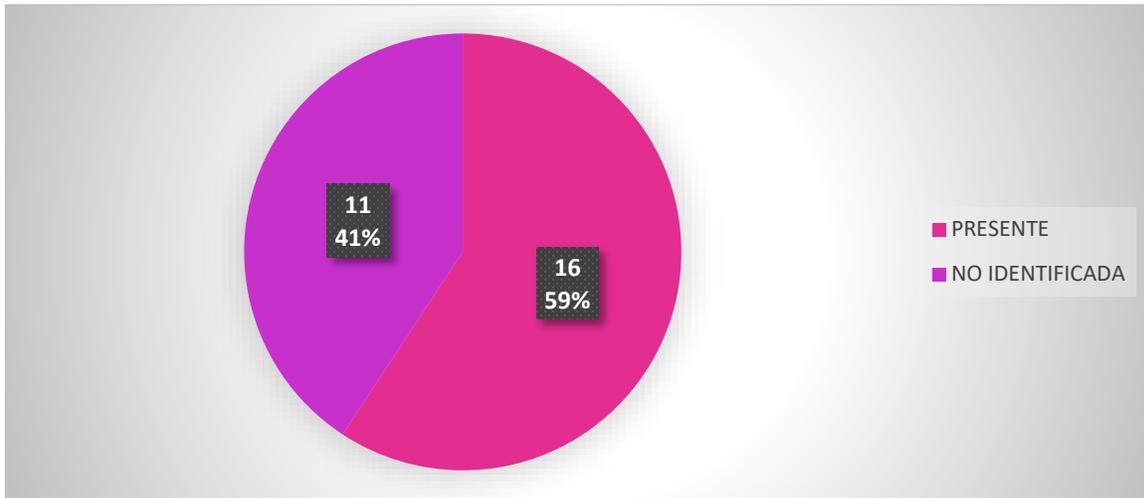
Gráfica 19. “Neoplasias Testiculares Germinales. Expresión de Podoplanina en la neoplasia germinal intratubular. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



El último parámetro a valorar en los estudios de inmunohistoquímica es la correlación que existe entre la expresión de OCT3/4 y de Podoplanina en la neoplasia germinal intratubular de nuestros casos evaluados. De los 27 casos en total examinados con hematoxilina y eosina y con OCT3/4 y D2-40, se identificó la presencia de neoplasia germinal intratubular independientemente del marcador que fuera positivo o negativo, con los siguientes hallazgos (gráfica 20):

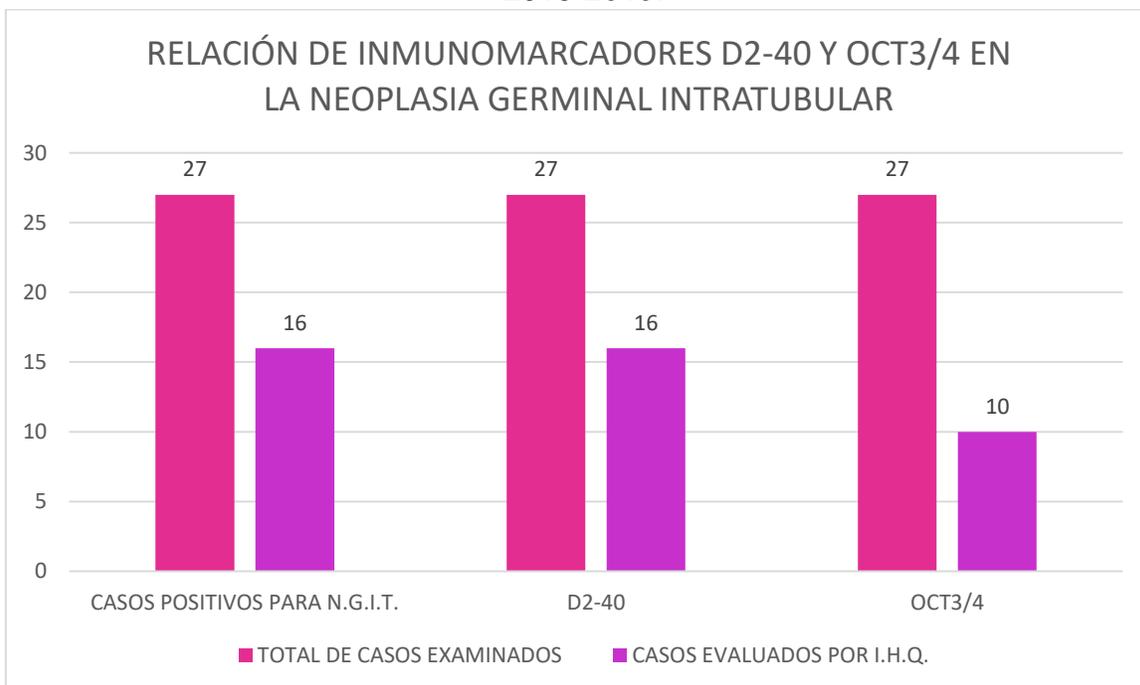
- Neoplasia germinal intratubular:
 - Presente: 16 casos.
 - No se identifica: 11 casos.

Gráfica 20. “Neoplasias Testiculares Germinales. Determinación de la neoplasia germinal intratubular por medio de inmunohistoquímica. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”



De los 16 casos que se reportaron positivos para neoplasia germinal intratubular por medio de inmunohistoquímica (utilizando los marcadores OCT3/4 y D2-40), 16 casos fueron positivos para D2-40 mientras que 10 casos fueron positivos para OCT3/4, lo cual significa expresión de D2-40 en todos los casos reportados por inmunohistoquímica como positivos para neoplasia germinal intratubular (100%), mientras que OCT3/4 se expresó en un 62,5% de los casos (gráfica 21).

Gráfica 21. “Neoplasias Testiculares Germinales. Coexpresión de OCT3/4 y Podoplanina en la neoplasia germinal intratubular. Hospital Juárez de México, 2015-2019.”





9. DISCUSIÓN:

Las neoplasias testiculares de células germinales son un problema de salud frecuente en nuestro medio. Se diagnostican entre las 3ª y 4ª décadas de vida y suelen tener una presentación clínica característica, con aumento de volumen indoloro del testículo afectado sin otros síntomas evidentes; cuando se presentan como aumento de volumen doloroso usualmente son más pequeños y pueden confundirse con una torsión testicular; en un porcentaje bajo (3-5%) de los casos de neoplasia testicular germinal (seminomas o no seminomas) pueden haber datos clínicos asociados a actividad metastásica (usualmente dolor lumbar bajo por metástasis óseas/retroperitoneales) ⁽²¹⁾.

La literatura internacional describe que los seminomas son la neoplasia testicular de células germinales más frecuente, seguida de las neoplasias mixtas y las neoplasias puras no seminomatosas. Incluso en las neoplasias germinales testiculares mixtas, se describe que hasta una tercera parte contiene un componente seminomatoso ^(3, 21). En nuestro estudio se seleccionaron casos del archivo del departamento de patología de Hospital Juárez de México de forma aleatoria, con la finalidad de analizar y describir la utilidad que ofrece el uso de marcadores de inmunohistoquímica en la distinción y diferenciación de los distintos subtipos histológicos, que por morfología en tinciones de rutina de hematoxilina y eosina pueden llegar a confundirse por sus patrones arquitecturales y características citológicas.

Los resultados con respecto a la estadística son muy claros: la edad de presentación promedio de nuestra casuística fue 28,7 años, el peso de los especímenes y el tamaño tumoral es variable dependiendo de los componentes histológicos, todos los casos se presentaron como unilaterales, todos los casos de neoplasia germinal pura correspondieron a seminomas, y de los casos de neoplasia germinal mixta los elementos histológicos más frecuentes fueron el componente de tumor del saco vitelino y el carcinoma embrionario, lo cual es concordante con la bibliografía citada ⁽²⁾.

Reportar los márgenes quirúrgicos como positivos o negativos para neoplasia es un factor pronóstico de importancia y se traduce en la presentación de recidivas y actividad neoplásica con potencial metastásico, por lo que reportar el estado de márgenes quirúrgicos es un requisito obligatorio ^(26, 28).

La neoplasia germinal intratubular no tratada progresa a neoplasias invasivas de células germinales en aproximadamente el 50% de los casos en seguimientos de hasta 5 años, y usualmente se administra tratamiento con dosis bajas de radioterapia (son extraordinariamente radiosensibles al igual que los seminomas),



que destruye las células germinales y, sin embargo, mantiene la producción de andrógenos de las células de Leydig ^(20, 22).

Con respecto a los hallazgos inmunohistoquímicos con los marcadores CD30, OCT3/4 y Podoplanina:

- La utilización de CD30 en el estudio estuvo limitada a determinar el componente de carcinoma embrionario, debido a que es un marcador específico para este subtipo histológico y no se expresa en otras neoplasias de células germinales.
- De todos los casos evaluados con componente de carcinoma embrionario, 90% fueron positivos para la marcación con CD30. Cabe recalcar que CD30 no marcó tinción positiva en ningún otro componente neoplásico de los tejidos examinados que no fuera carcinoma embrionario. Esta observación se correlaciona perfectamente con lo reportado en la literatura internacional acerca de la especificidad y sensibilidad que tiene el marcador CD30 en la evaluación de neoplasias testiculares de células germinales.
- Es posible que la ausencia de marcación en los dos casos restantes se correlacione con la carga tumoral del componente de carcinoma embrionario; de los dos casos, uno había sido reportado con un componente del 10% de carcinoma embrionario, y el otro fue reportado con un componente del 5% de carcinoma embrionario. Si bien se seleccionó el material más adecuado y representativo de la neoplasia en el contexto de que los casos corresponden a neoplasias germinales mixtas, existe la posibilidad que el componente neoplásico de carcinoma embrionario en ambos casos se encontrara localizado en otra laminilla del muestreo de la lesión, lo cual justificaría la ausencia de expresión de CD30.
- La utilización de OCT3/4 y Podoplanina tuvo varios propósitos de investigación: determinar la sensibilidad que se tiene al realizar inmunomarcación en tejido neoplásico diagnosticado como seminoma sin otro componente germinal, determinar la sensibilidad que tiene para identificar un componente seminomatoso en las neoplasias germinales mixtas, correlacionar la sensibilidad que tiene OCT3/4 en conjunto con CD30 en el componente neoplásico de carcinoma embrionario, y determinar la sensibilidad que tiene el marcador para identificar neoplasia germinal intratubular y correlacionarlo con los hallazgos morfológicos en H&E.
- En los tres casos de neoplasia germinal testicular pura correspondiente a seminoma, la marcación de OCT3/4 y para Podoplanina fue positiva y difusa en las células neoplásicas, correlacionándose con lo descrito con la literatura internacional.
- La sensibilidad de OCT3/4 en la marcación de neoplasias germinales como carcinoma embrionario y seminoma fue menor a la descrita en la literatura internacional, pues se describe positividad de OCT3/4 en hasta el 100% de



los casos de neoplasia germinal intratubular, seminoma y carcinoma embrionario. Consideramos que haya interferido algún factor independiente como la calidad del tejido examinado, la calidad del marcador de inmunohistoquímica o su dilución, o algún defecto del procesamiento.

- También nos enfrentamos a una disminución de la sensibilidad en la utilización de OCT3/4 y Podoplanina para la marcación de la neoplasia germinal intratubular con respecto a la que se tiene reportada en la literatura internacional, pues está descrita en 100% y en nuestros casos solamente fue de 37.03% con respecto al total de casos evaluados, y del 47.61% con respecto a los 21 casos positivos para N.G.I.T. en hematoxilina y eosina. Consideramos que la focalidad de la misma en especímenes de orquiectomías es variable y que debido a que los fragmentos que en cada caso se inmunomarcaron son aquellos donde la neoplasia invasora estuvo mejor representada, la neoplasia germinal intratubular pudo haber sido menos representada.
- El componente de carcinoma embrionario mostró positividad de membrana celular apical para la Podoplanina. Dicha marcación está descrita en la literatura internacional en hasta el 29% de los casos, lo cual se correlaciona con nuestra casuística, en donde 7 de 21 casos examinados con hematoxilina y eosina como componente de carcinoma embrionario (33.33%) fueron positivos con la marcación apical de membrana celular ya descrita, y en general la marcación de Podoplanina corresponde al 29.16% de los casos en total examinados con neoplasia germinal mixta.



10. CONCLUSIONES:

- El subtipo histológico de neoplasia testicular germinal más frecuente en nuestro medio es la neoplasia germinal mixta, con proporción más alta para componente de tumor del saco vitelino, seguido por el carcinoma embrionario.
- De los tres marcadores de neoplasia germinal utilizados en este estudio, CD30 y D2-40 resultaron los marcadores de mayor contribución diagnóstica.
- En las neoplasias testiculares germinales estudiadas se corroboró significativa correlación entre la expresión de marcadores germinales y el subtipo histológico, con lo cual se reafirma la reproducibilidad de los criterios histopatológicos que se aplican de rutina en el diagnóstico de éstas neoplasias en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México.
- La neoplasia germinal in situ prevalece en la serie revisada, siempre en coexistencia con neoplasia germinal invasora. La inmunomarcación con D2-40 es contribuyente para su distinción morfológica y de mayor sensibilidad diagnóstica.

11. RECOMENDACIONES:

- Los patrones arquitecturales de las neoplasias de células germinales pueden confundirse cuando se encuentran en la misma pieza quirúrgica, por lo cual, la utilización de estudios de inmunohistoquímica no se considera un lujo sino una necesidad y en general debería utilizarse de rutina junto con los estudios de hematoxilina y eosina, pues de ello puede depender en gran medida la correcta caracterización de las neoplasias germinales mixtas y sus subtipos histológicos.
- Es necesario corroborar que tanto el tejido como los reactivos y el procesamiento estén adecuadamente vigilados para resultados óptimos.

12. BIBLIOGRAFÍA:

1. Alyssa K. Greiman, James S. Rosoff, Sandip M. Prasad. *Association of Human Development Index with global bladder, kidney, prostate and testis cáncer incidence and mortality*. BJUI International (2017).
2. Sedano-Basilio J.E., Mayorga-Gómez E., Garza-Sainz G., et al. *Epidemiología de los tumores genitourinarios en una década*. Revista Mexicana de Urología (2016); 76 (3): 131-140.
3. Holger Moch, Peter A. Humphrey, Thomas M. Ulbright, Victor E. Reuter (Eds): *WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs* (4th edition). IARC: Lyon (2016); pp: 186-202.
4. João Lobo, Ana Laura Costa, Bárbara Vilela-Salgueiro, Ângelo Rodrigues, Rita Guimarães, Mariana Cantante, et al. *Testicular germ cell tumors, revisiting a series in light of the new WHO classification and AJCC staging systems, focusing on challenges for pathologists*. Yhupa (2018), doi:10.1016/j.humpath.2018.07.016.
5. Cheng Liang, Lyu Bingjian, Roth Lawrence M., *Perspectives on testicular germ cell neoplasms*, Human Pathology (2016), doi: 10.1016/j.humpath.2016.08.002
6. Paolo Chieffi. *An Overview on Predictive Biomarkers of Testicular Germ Cell Tumors*. Journal of Cellular Physiology, Wiley Online Library (2016); pp: 276-280.
7. Ewa Rajpert-De Meyts, John E. Nielsen, Niels E. Skakkebaek, Kristian Almstrup. *Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline phosphatase to micro-RNAs*. Folia Histochemica et cytobiologica (2015); 53 (3): 177-188.
8. L. Cheng, M-T Sung, P Cossu-Rocca, TD Jones, GT MacLennan, et al. *OCT4: biological functions and Clinical applications as a marker of germ cell neoplasia*. Journal of Pathology (2007); 211: 1-9.
9. Timothy D. Jones, Gregory T. MacLennan, Jose M. Bonnin, et al. *Screening for Intratubular Germ Cell Neoplasia of the Testis Using OCT4 Immunohistochemistry*. Am J Surg Pathol (2006); 30: 1427-1431.
10. Erik Clasen-Linde, Kolja Kvist, Dina Cortes, Jorgen Thorup. *The value of positive OCT3/4 and D2-40 immunohistochemical expression in prediction of germ cell neoplasia in prepuberal boys with cryptorchidism*. Scandinavian Journal of Urology (2015); Early Online: 1-6.
11. Kolja Kvist, Erik Clasen-Linde, Dina Cortes, Bodil Laub Petersen, Jorgen Thorup. *Adult Immunohistochemical Markers Fail to Detect Intratubular Germ Cell Neoplasia in Prepuberal Boys with Cryptorchidism*. THE JOURNAL OF UROLOGY (2014); pp: 1084-1089.
12. Niels J. van Casteren, Hans Stoop, Gert R. Dohle, Ronald de Wit, et al. *Noninvasive Detection of Testicular Carcinoma In Situ in Semen Using OCT3/4*. European Urology (2008); 54: 153-160.



13. Llang Cheng. *Establishing a Germ Cell Origin for Metastatic Tumors Using OCT4 Immunohistochemistry*. American Cancer Society (2004); 101: 2006-10.
14. Sung Ming-Tse, Jones Timothy D., Beck Stephen D., Foster Richard S., Cheng Liang. *OCT4 is superior to CD30 in the diagnosis of metastatic embryonal carcinomas after chemotherapy*. Human Pathology (2006); 37: 662-667.
15. Dabbs David J. *Diagnostic Immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. 3rd ed. Saunders Elsevier, (2010); p: 94.
16. M. Idrees et al. *Podoplanin, a novel marker for seminoma: A comparison study evaluating immunohistochemical expression of podoplanin and OCT3/4*. Annals of Diagnostic Pathology 14 (2010); 331-336.
17. Leroy Xavier, Augusto David, Leteurtre Emmanuelle, Gosselin Bernard. *CD30 and CD117 (c-kit) Used in Combination Are Useful for Distinguishing Embryonal Carcinoma from Seminoma*. J Histochem Cytochem (2002) 50; 283-285.
18. Lau Sean K, Weiss Lawrence M, Chu Peiguo G. *D2-40 immunohistochemistry in the Differential diagnosis of seminoma and embryonal carcinoma: a comparative immunohistochemical study with KIT (CD117) and CD30*. Modern Pathology (2007) 20; 320-325.
19. Tickoo Satish K., Zou Ming, Allan Robert, Amin Mahul B., et al. *Protocol for the Examination of Specimens From Patients with Malignant Germ Cell and Sex Cord-Stromal Tumors of the Testis*. College of American Pathologists. June 2017; 1-16.
20. Ulbright TM. *Testis Risk and Prognostic factors: the pathologist's perspective*. Urol Clin North Am. 26:611, 1999.
21. Bosl GJ, Motzer RJ. *Testicular Germ Cell Cancer*. N Engl J Med, 337:242, 1997.
22. Rorth M, et al. *Carcinoma in situ in the Testis*. Scand J Urol Nephrol Suppl. 205:166. 2000.
23. Looijenga LH, Oosterhuis JW. *Pathogenesis of testicular germ cell tumors*. Rev Reprod, 4:90. 1999.
24. Rodríguez S, et al. *Expression profile of genes from 12p in testicular germ cell tumors of adolescents and adults associated with I(12p) and amplification of 12p11.2-p12.1*. Oncogene, 22:1880. 2003.
25. Doherty AP, et al. *The role of tumor markers in the diagnosis and treatment of testicular germ cell cancers*. Br J Urol, 79:247. 1997.
26. Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY. Springer; 2017.
27. Yilmaz A, Cheng T, Zhang J, Trpkov K. *Testicular hilum and vascular invasion predict advanced clinical stage in nonseminomatous germ cell tumors*. Mod Pathol. 2013;26(4):579-586.
28. Dry SM, et al. *Extratesticular extension of germ cell tumors preferentially occurs at the hilum*. Am J Clin Pathol. 1999;111:534-538.

ANEXO 1. IMÁGENES MACROSCÓPICAS DE LAS PIEZAS ESTUDIADAS:



Fotografía 1. Caso # 21, correspondiente a un tumor testicular germinal mixto, diagnosticado con componente de carcinoma embrionario y tumor de saco vitelino.



Fotografía 2. Caso # 12, correspondiente a un tumor testicular de células germinales, en este caso una neoplasia pura diagnosticada como seminoma.

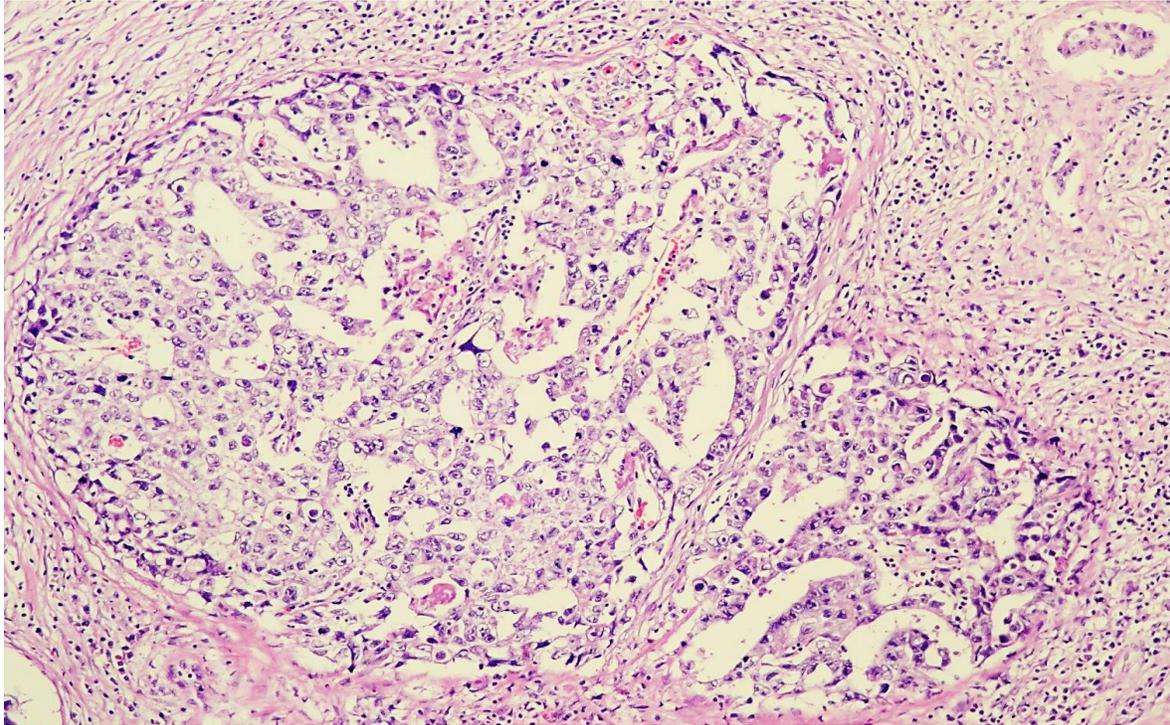


Fotografía 3. Caso # 15, corresponde a una neoplasia testicular de células germinales, mixta, diagnosticado con componente de coriocarcinoma y de seminoma.

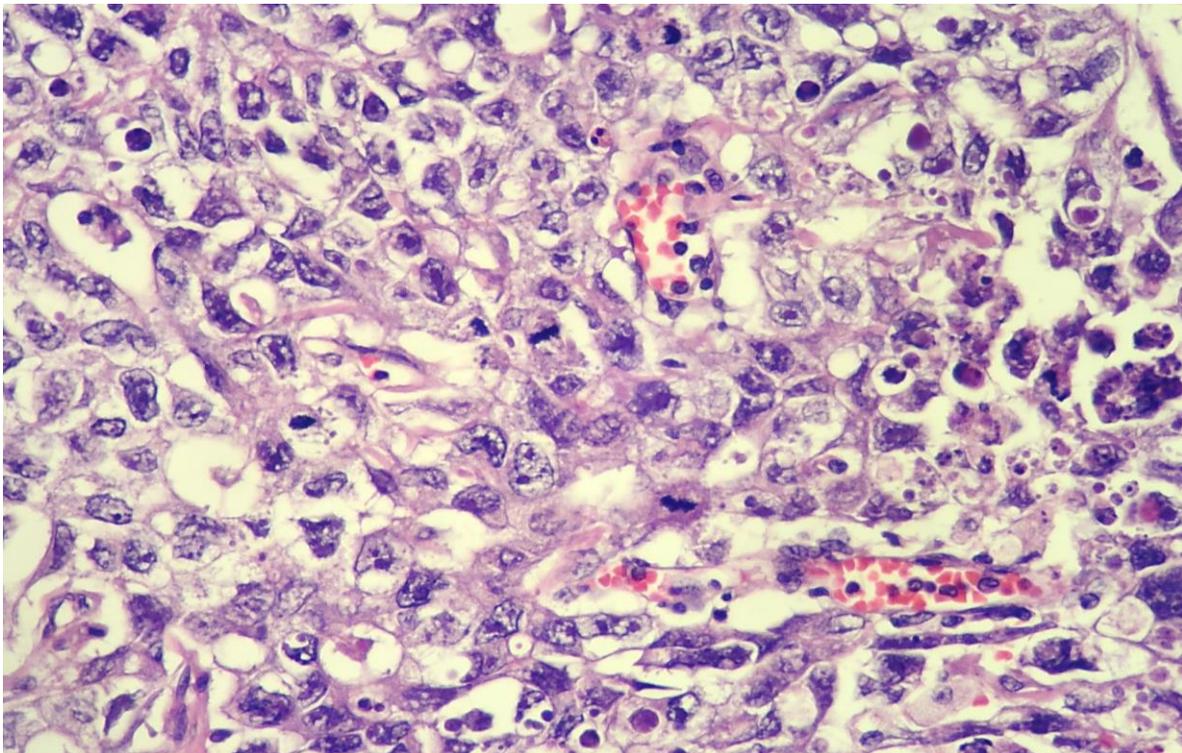


Fotografía 4. Caso # 26, correspondiente a una neoplasia testicular de células germinales, mixta, diagnosticado con componente de teratoma maduro, tumor del saco vitelino y carcinoma embrionario.

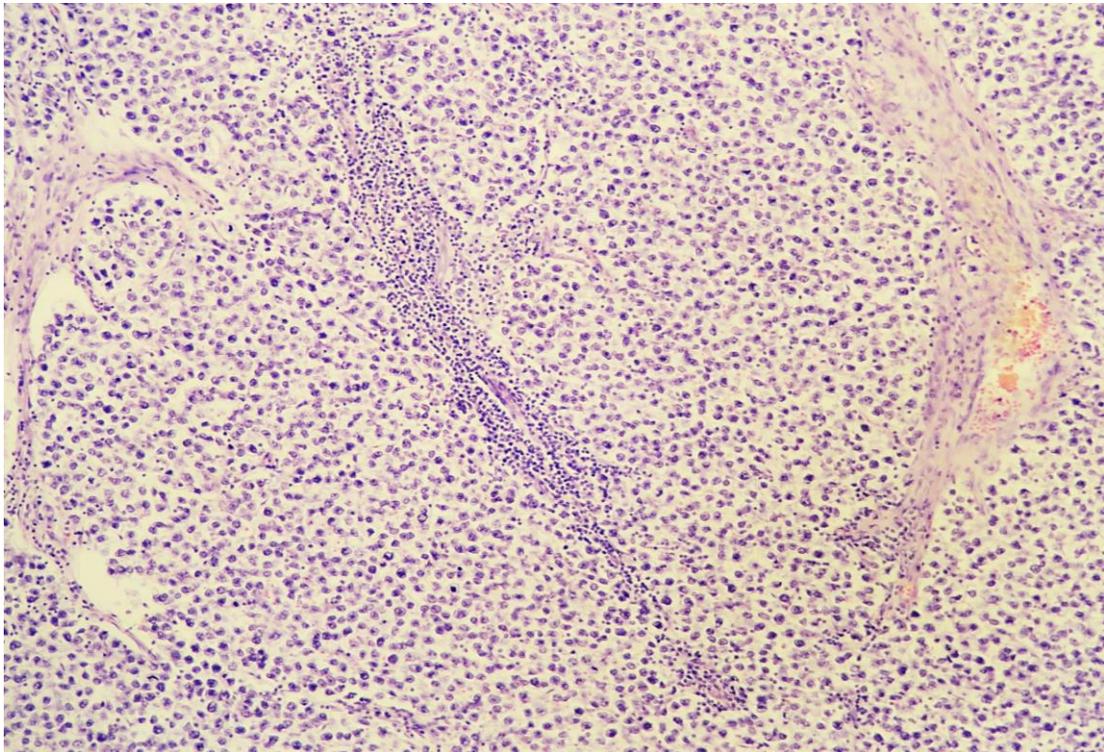
ANEXO 2. FOTOMICROGRAFÍAS DE LOS CASOS EVALUADOS CON TINCIONES DE RUTINA (HEMATOXILINA Y EOSINA):



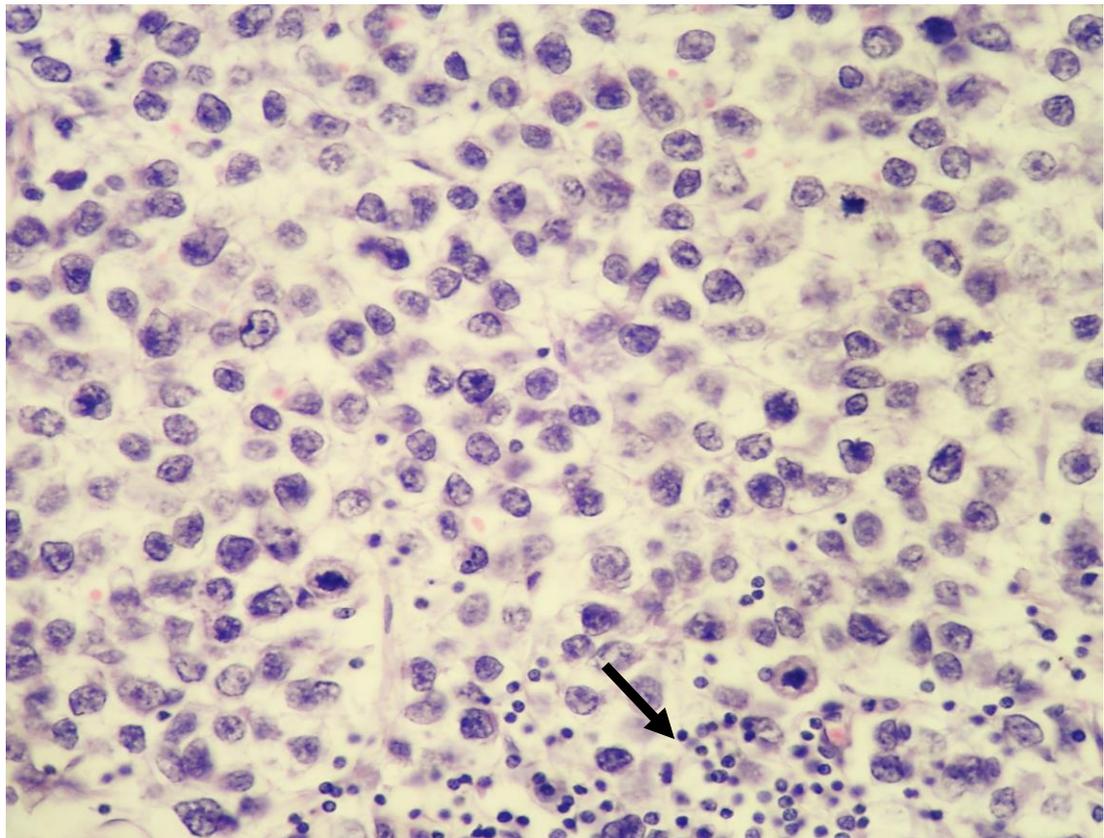
Fotografía 5 (fotomicrografía). Caso # 17. Aspecto histopatológico del carcinoma embrionario, formando diversos patrones incluyendo sólido, glandular y papilar; desde este aumento es evidente el pleomorfismo celular.



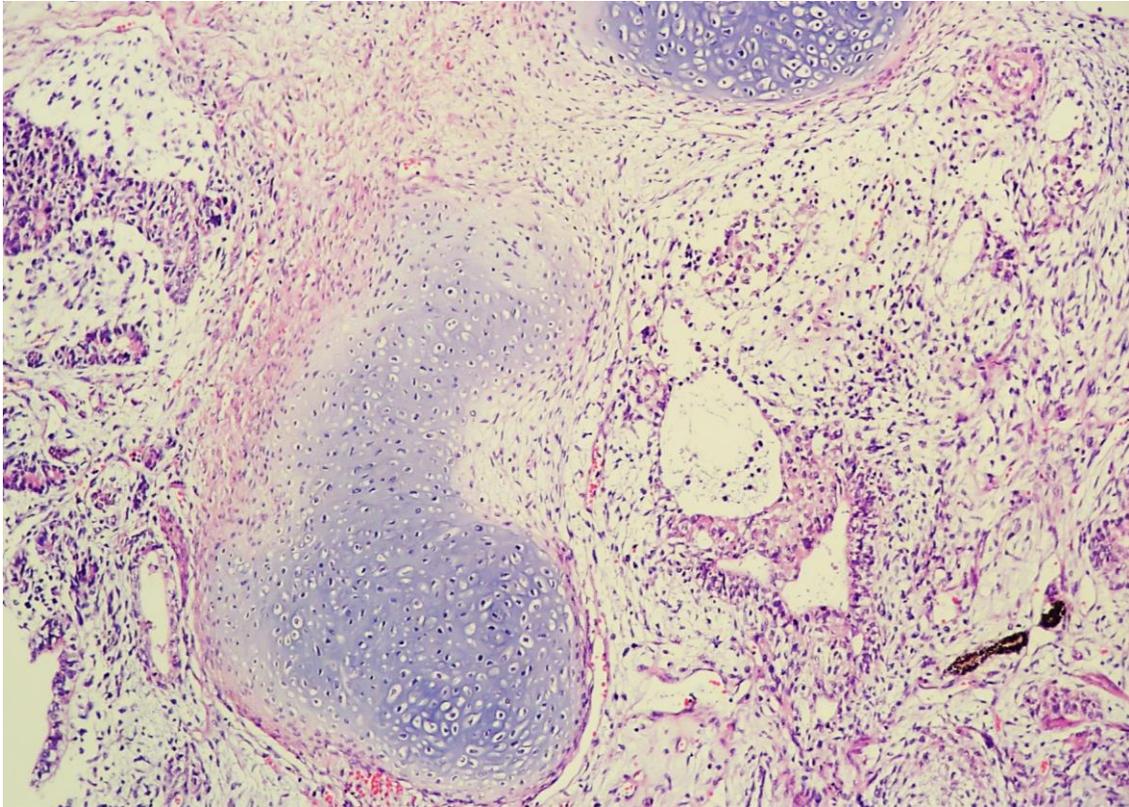
Fotografía 6 (fotomicrografía). Caso # 17. A mayor aumento se distingue el aspecto altamente pleomórfico de las células neoplásicas, algunas de aspecto anaplásico y con una actividad mitótica muy elevada.



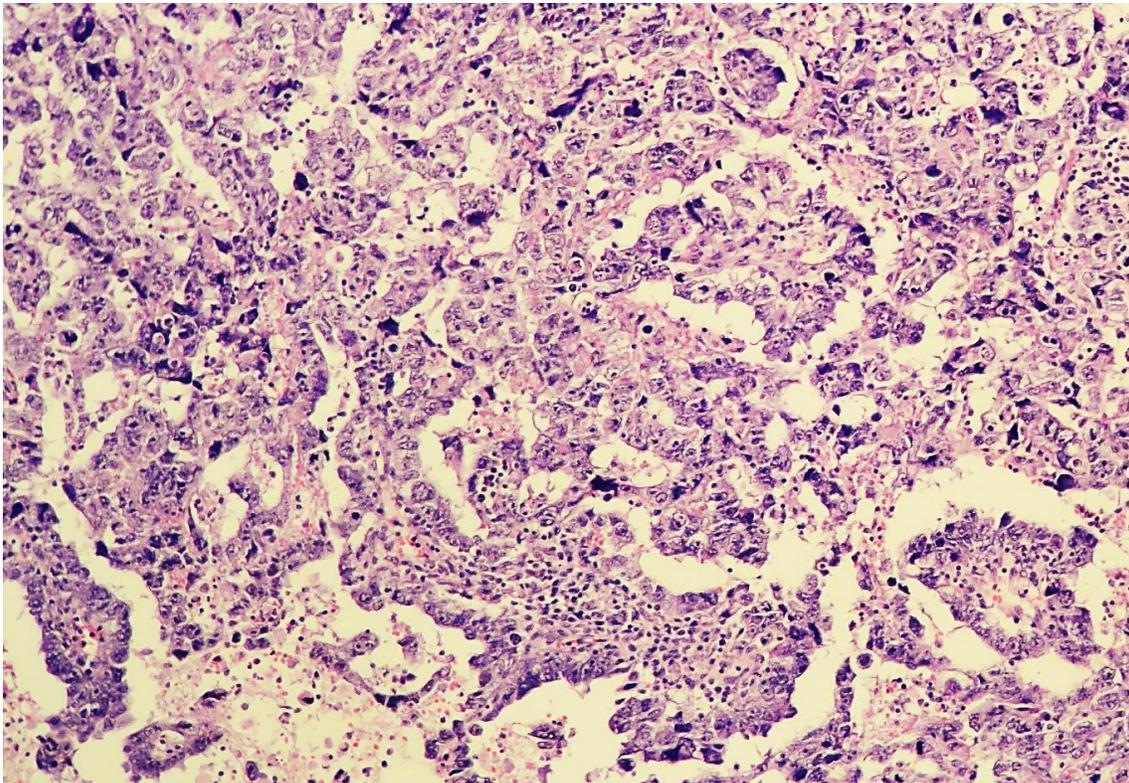
Fotografía 7 (fotomicrografía). Caso # 24. Aspecto histopatológico del seminoma, formando un patrón sólido con presencia de tabiques fibrosis y áreas de infiltrado linfocitario peritumoral, sin necrosis asociada en este caso.



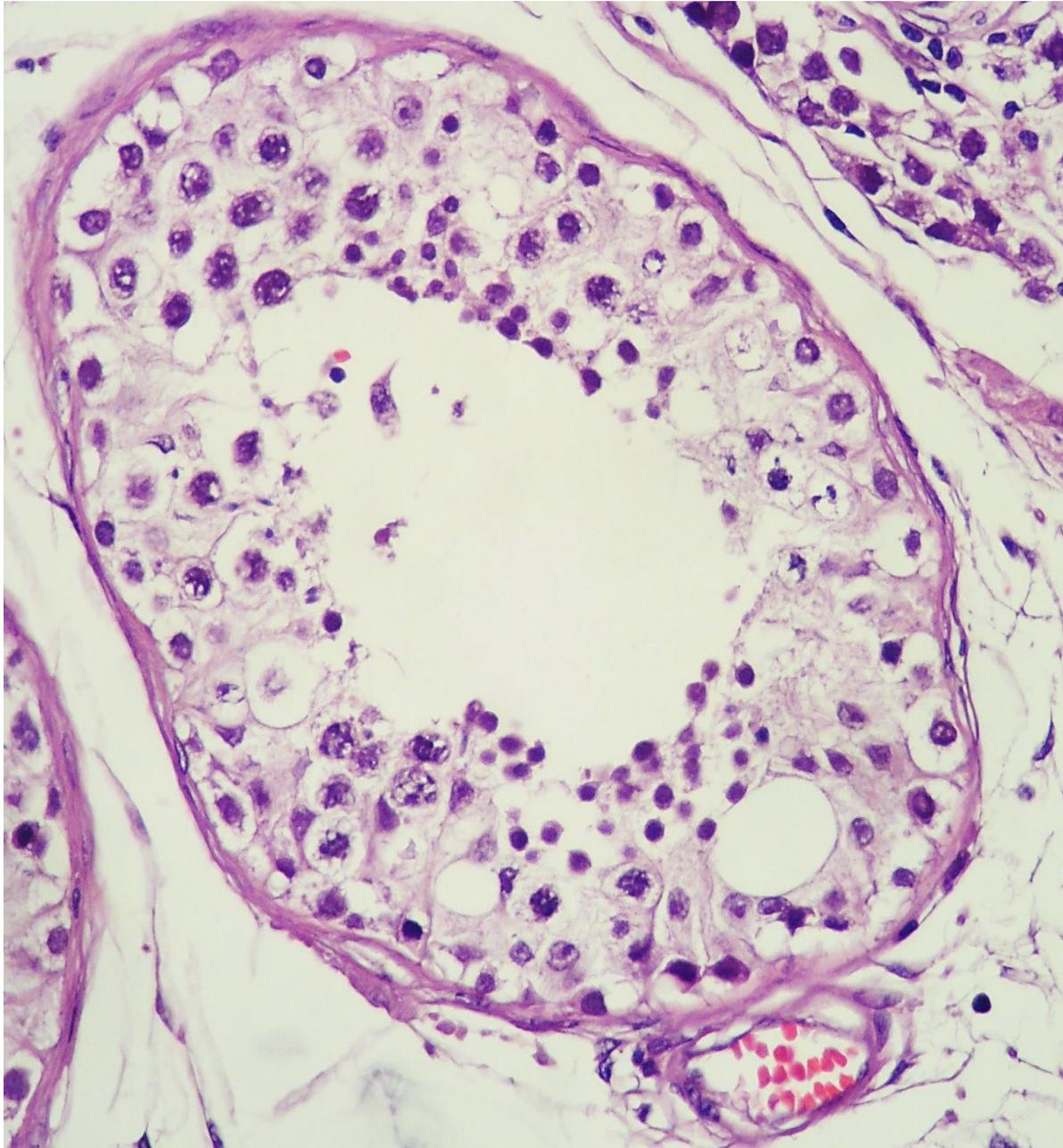
Fotografía 8 (fotomicrografía). Caso # 24. A mayor aumento se distingue el aspecto epitelioides y pleomórfico de las células neoplásicas, con presencia de figuras de mitosis, con nucléolos evidentes y con linfocitos peritumorales evidentes (flecha).



Fotografía 9. Caso # 26. Aspecto histopatológico del teratoma maduro, con elementos mesenquimatosos maduros como cartílago y músculo liso, y estructuras glandulares de origen endodérmico (glándulas intestinales y epitelio respiratorio).

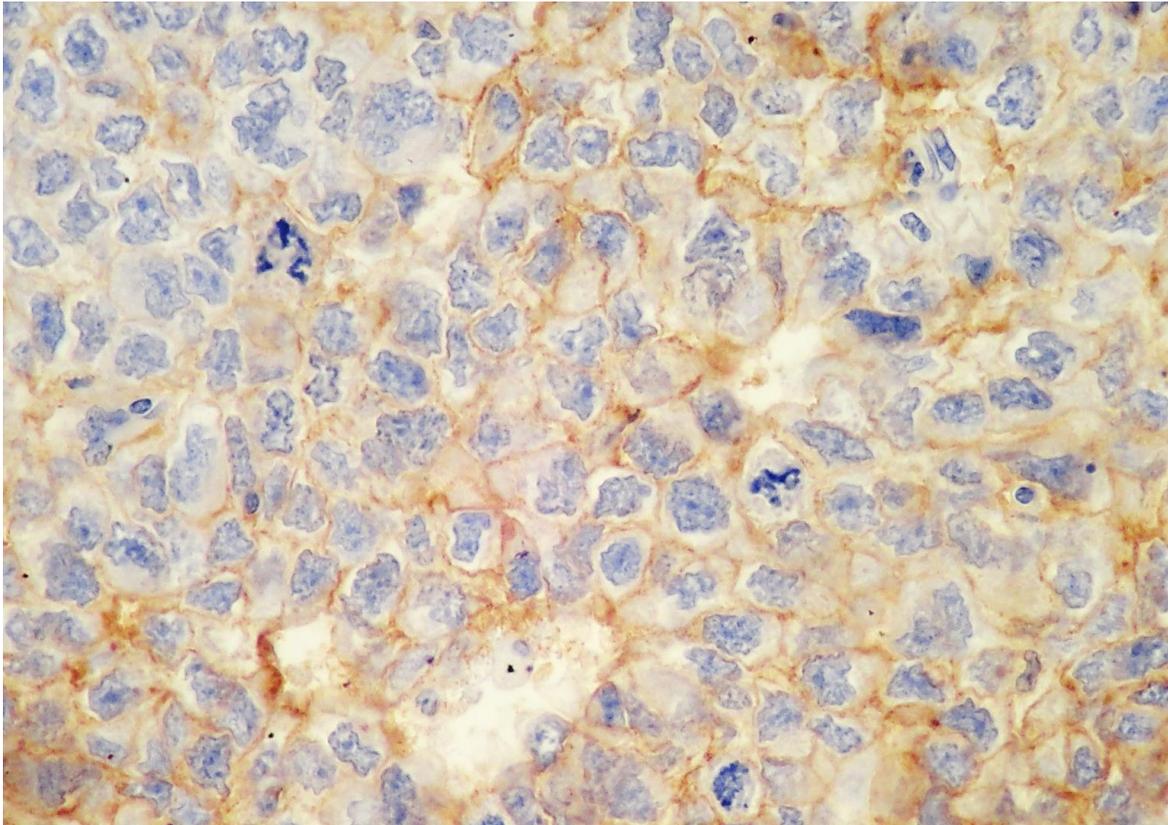


Fotografía 10 (fotomicrografía). Caso # 26. Aspecto histopatológico del tumor del saco vitelino, con formación de estructuras glandulares y glomeruloides perivasculars de aspecto papilar conocidas como cuerpos de Schiller-Duval.

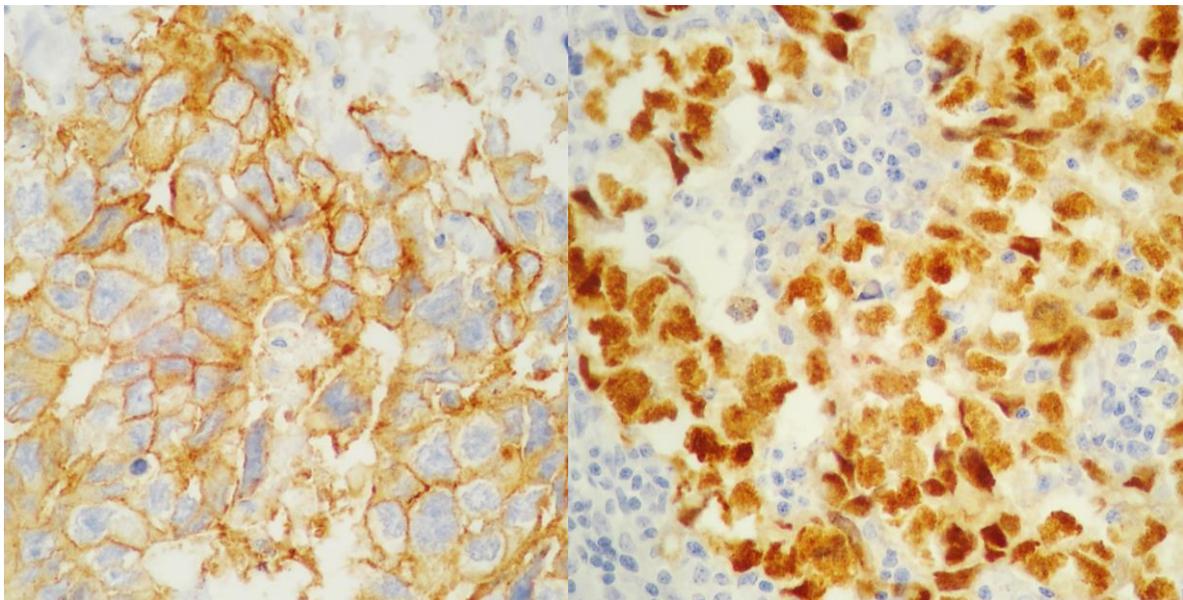


Fotografía 11 (fotomicrografía). Caso # 18. Aspecto histopatológico de la neoplasia germinal intratubular.

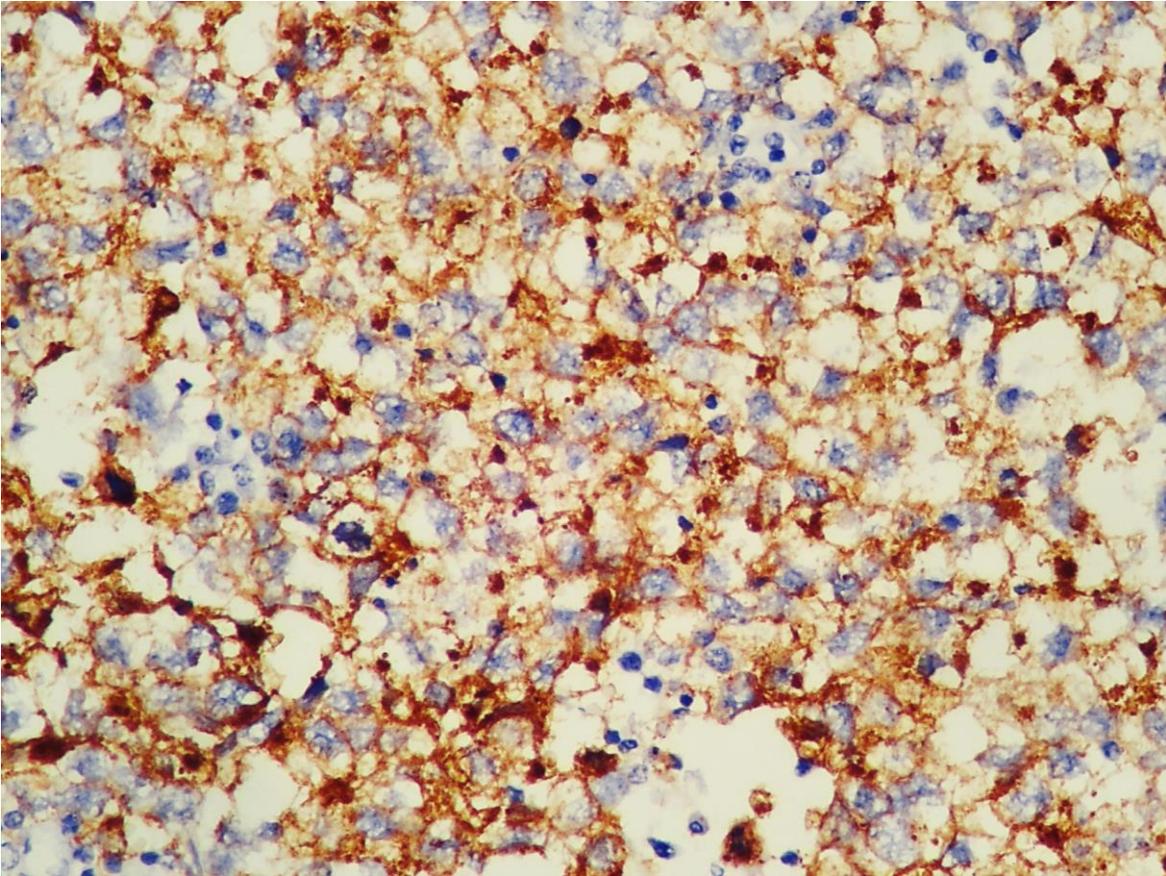
ANEXO 3. FOTOMICROGRAFÍAS DE LOS CASOS EVALUADOS CON INMUNOHISTOQUÍMICA:



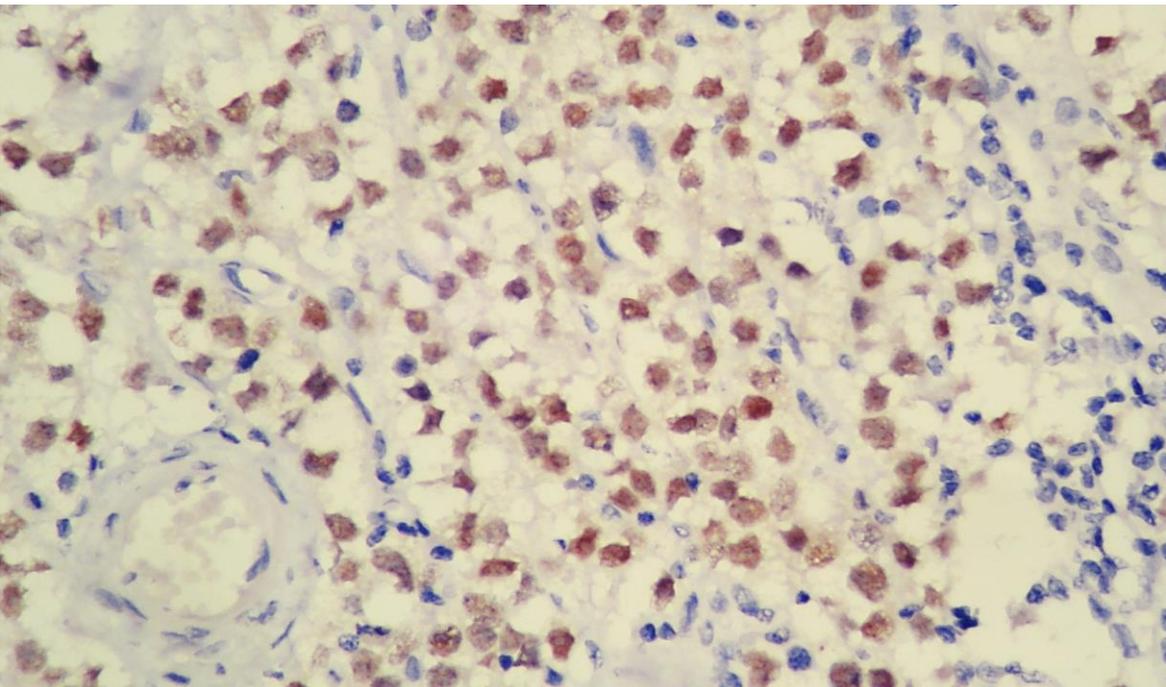
Fotografía 12 (fotomicrografía). Caso # 4. Marcación de CD30 en un caso de carcinoma embrionario; se identifica una marcación positiva intensa de membrana citoplasmática y se logran identificar el acusado pleomorfismo nuclear de las células neoplásicas y una actividad mitótica prominente con figuras de mitosis atípicas.



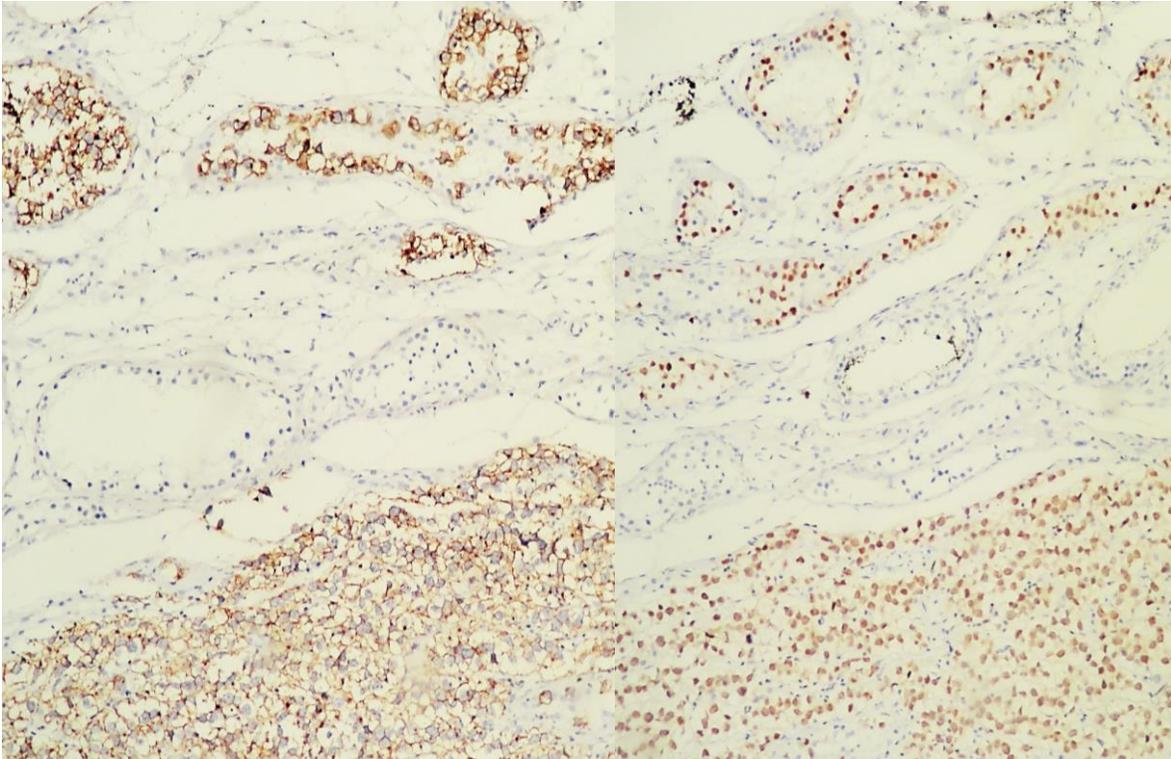
Fotografía 13 (fotomicrografía). Caso # 20. Otro caso de carcinoma embrionario, la primera imagen corresponde a marcación difusa e intensa de membrana con CD30; la segunda imagen corresponde a marcación positiva intensa y difusa de los núcleos para OCT3/4, nuevamente es posible identificar el acusado pleomorfismo nuclear de las células neoplásicas.



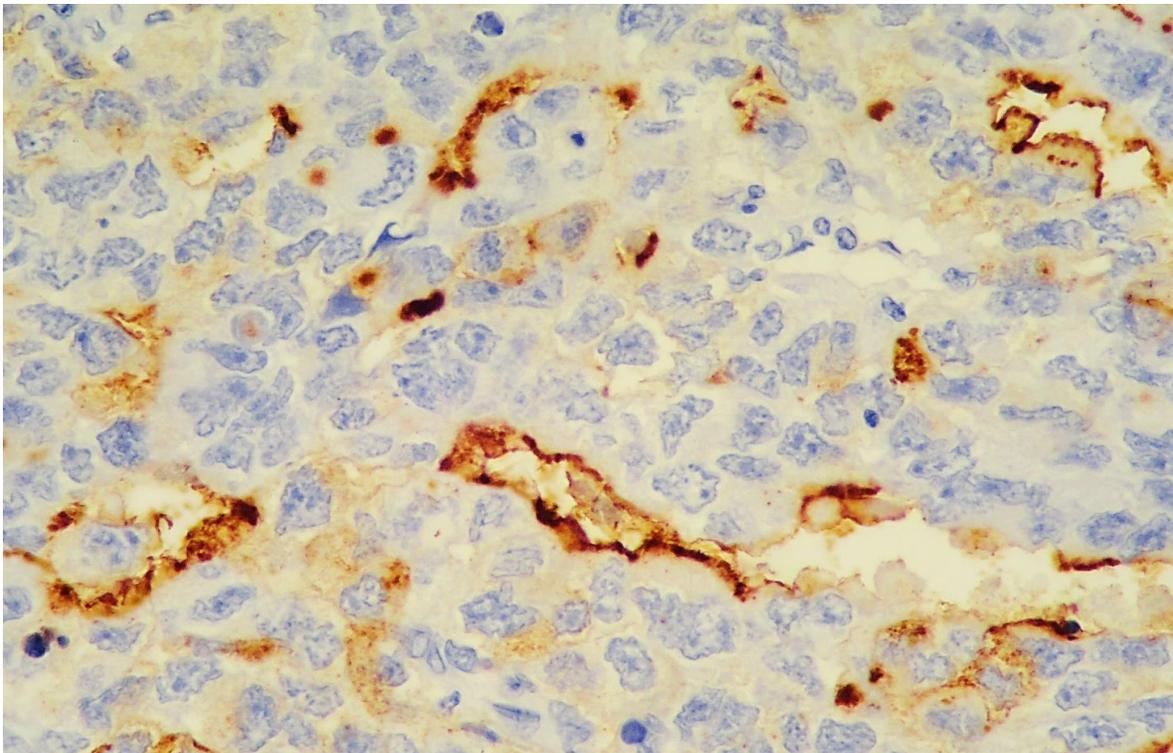
Fotografía 14 (fotomicrografía). Caso # 9. Marcación de Podoplanina en un seminoma; se identifica una marcación positiva intensa de citoplasma; se observan algunas células pequeñas con núcleos hiper cromáticos correspondientes a linfocitos.



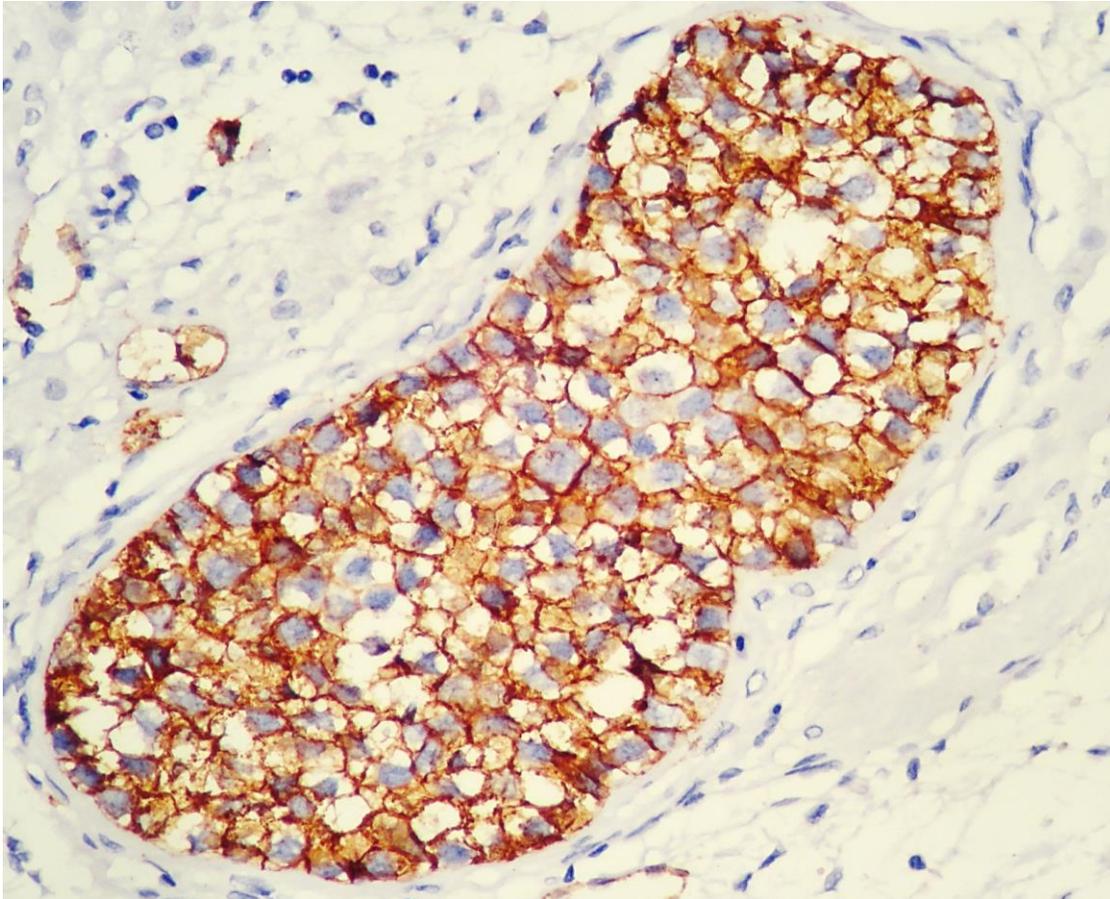
Fotografía 15 (fotomicrografía). El mismo caso de seminoma con marcación nuclear positiva difusa para OCT3/4; nuevamente se pueden identificar núcleos pequeños hiper cromáticos en la periferia de la lesión sin positividad para la inmunomarcación, correspondientes a linfocitos.



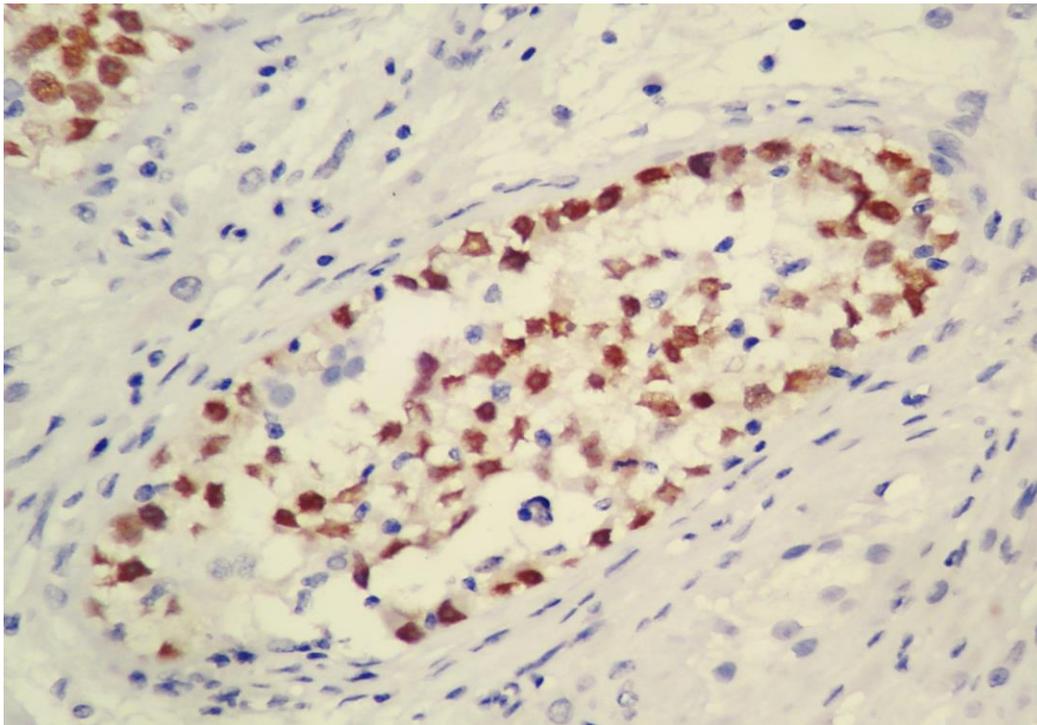
Fotografía 16 (fotomicrografía). Caso # 25. En esta imagen comparativa se observa de lado izquierdo un fragmento correspondiente a seminoma, con tinción positiva de citoplasma para Podoplanina y adyacente se identifica un área de túbulos seminíferos residuales con tinción positiva para Podoplanina que corresponden a neoplasia germinal intratubular; en la imagen de la derecha, se puede observar el mismo fenómeno pero con marcación nuclear para OCT3/4.



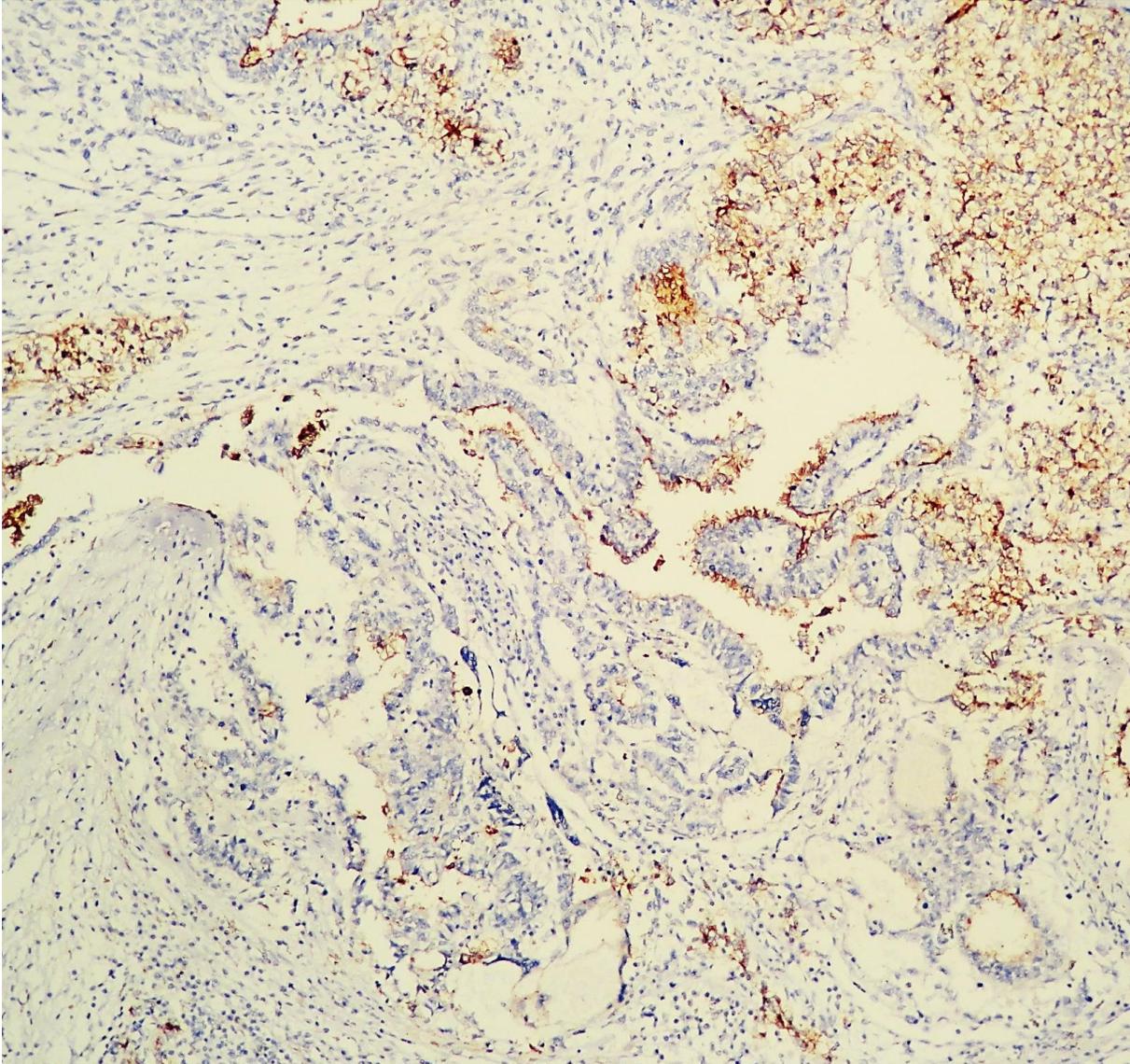
Fotografía 17. Caso # 17. En esta imagen se observa una marcación de membrana con anticuerpo para Podoplanina en un caso de carcinoma embrionario; la marcación de membrana se limita a la porción apical de las células neoplásicas, fenómeno descrito en la literatura. Se logra observar el acusado pleomorfismo nuclear y citológico de las células neoplásicas.



Fotografía 18 (fotomicrografía). Caso # 18. Foco correspondiente a neoplasia germinal intratubular, con inmunomarcación para Podoplanina. Se puede observar la positividad difusa citoplasmática de las células neoplásicas.



Fotografía 19 (fotomicrografía). Mismo caso de la fotografía anterior, pero con inmunomarcación nuclear para OCT3/4.



Fotografía 20 (fotomicrografía). Caso # 22. En este campo, con inmunomarcación para Podoplanina, se pueden observar algunas células positivas en la periferia de la imagen que corresponden a un componente de seminoma; en el centro de la fotografía las estructuras glandulares complejas negativas para inmunomarcación corresponden a un componente de teratoma con formación de estructuras glandulares. Este caso también contuvo un componente de tumor del saco vitelino.