



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**RELACIÓN ENTRE LAS PROTEÍNAS DE PLURIPOTENCIALIDAD
TESTICULAR Y LAS CONCENTRACIONES DE INHIBINA B, FSH Y
LH EN PACIENTES CON CRIPTORQUIDIA: REPORTE PRELIMINAR
DE LA RELACIÓN DE MICROLITIASIS TESTICULAR CON LA
PRESENCIA DE GONOCITOS.**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE POSGRADO EN ALTA ESPECIALIDAD
EN UROLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA:

DR. RICARDO ANTONIO ARCEO OLAIZ

TUTOR:

DRA. ROSA MARÍA VIGUERAS VILLASEÑOR

CO-TUTOR:

DR. JUAN OSVALDO CUEVAS ALPUCHE



MÉXICO, D.F.

2015

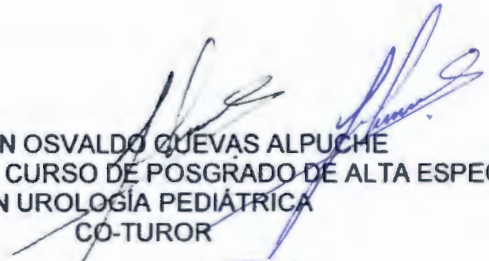
RELACIÓN ENTRE LAS PROTEÍNAS DE PLURIPOTENCIALIDAD TESTICULAR
Y LAS CONCENTRACIONES DE INHIBINA B, FSH Y LH EN PACIENTES CON
CRIPTORQUIDIA: REPORTE PRELIMINAR DE LA RELACIÓN DE
MICROLITIASIS TESTICULAR CON LA PRESENCIA DE GONOCITOS.



DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA



DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. JUAN OSVALDO CUEVAS ALPUCHE
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE POSGRADO DE ALTA ESPECIALIDAD
EN UROLOGÍA PEDIÁTRICA
CO-TUTOR



DRA. ROSA MARÍA VIGUERAS VILLASEÑOR
TUTOR DE TESIS



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, quienes han sido mi ejemplo a seguir. Gracias papá por siempre luchar en contra de las adversidades y por amarme incondicionalmente. Gracias mamá por enseñarme que todo se puede lograr, por ser un ejemplo de perseverancia y por permitirme compartir tantas cosas contigo.

A mi querido hermano Fran, que cada vez me sorprendes más. Has llegado tan lejos y eso me recuerda que no existen límites ni barreras y podemos cumplir nuestros sueños.

A mis maestros, el Dr. Roberto Aguilar Anzures y Fabián Sánchez Sagástegui, quienes confiaron en mí y me compartieron sus conocimientos y habilidades. Al Dr. Juan Osvaldo Cuevas Alpuche, quien me inició y guió en el mundo de la Urología Pediátrica, compartiéndome toda su experiencia.

A la Dra. Rosa María Viguera Villaseñor por colaborar y asesorarme en este trabajo.

A mis dos pequeños tesoros, Ana So y Marifer, quienes son mi fuente de inspiración y razón de vivir. Mi mundo es otro desde que ustedes están aquí y me siento el hombre más afortunado por el hecho de ser su padre.

Por último, a ti Alex, mi confidente, compañera, apoyo y amiga. Eres mi fortaleza y ejemplo a seguir. Gracias por acompañarme en esta larga carrera y entrenamiento que culmina después de 9 años. Si no hubieras estado a mi lado no hubiera sido posible. Te amo.

ÍNDICE

Resumen.....	5
Pregunta de investigación.....	6
Marco teórico.....	7
Objetivo.....	8
Hipótesis.....	9
Material y métodos.....	10
Resultados.....	11
Discusión.....	13
Conclusiones.....	16
Relación de tablas y figuras.....	17
Bibliografía.....	20

RESUMEN

Introducción: La criptorquidia es un factor de riesgo para padecer tumores de células germinales (TCG). La neoplasia intratubular de células germinales (ITGCNU) es la lesión histológica precursora de los TCG. Se propone que el origen de la ITGCNU son los gonocitos, que se conservan como indiferenciados y pluripotentes con susceptibilidad a su malignización. La microlitiasis testicular (MT) es considerada un factor predisponente para TCG, sin embargo esta relación no se ha logrado esclarecer adecuadamente. Su asociación con la presencia de gonocitos puede incrementar el riesgo para padecer TCG en el futuro. De acuerdo a nuestro conocimiento, no se conoce dicha relación en una población mexicana. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de MT y gonocitos en los pacientes con criptorquidia en una población mexicana.

Materiales y Métodos: Se incluyeron a pacientes menores de 8 años de edad con criptorquidia del Instituto Nacional de Pediatría. Se realizó ultrasonido testicular preoperatorio para determinar el volumen y tamaño del testículo, así como la presencia y grado de MT. Durante la orquidopexia se realizó biopsia testicular para evaluar a nivel histológico la presencia de gonocitos, así como de MT.

Resultados: Se incluyeron un total de 16 pacientes con 22 testículos no descendidos; 10 de ellos fueron unilaterales y 6 bilaterales; 17 testículos se palparon a nivel inguinal y 5 a nivel abdominal. La edad promedio fue de 5.13 años. 3 de los 10 pacientes que contaron con ultrasonido testicular preoperatorio presentaron MT, con una prevalencia del 18%. Solamente 1 paciente presentó MT en el testículo descendido, y en el criptorquídico, con mayor cantidad en el no descendido (10 vs 18). En 8 pacientes se observó MT en la biopsia testicular, con una prevalencia del 50%. En 11 pacientes se observaron gonocitos, de los cuales 7 también presentaron MT. Ningún paciente presentó ITGCNU.

Conclusiones: los resultados de nuestro estudio nos permiten sugerir que la presencia de MT y gonocitos es un factor de riesgo que se debe tomar en cuenta para la presencia de TCG. Sin embargo hacen falta más estudios que realmente nos ayuden a corroborar la asociación previamente mencionada.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe relación entre la presencia de MT y gonocitos en pacientes con criptorquidia atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría?

MARCO TEÓRICO

La criptorquidia es un factor de riesgo para el desarrollo de neoplasia testicular ya que incrementa, de 2 a 10 veces, el riesgo de padecer cáncer testicular, específicamente tumores de células germinales (TCG)¹. La neoplasia intratubular de células germinales (ITGCNU por sus siglas en inglés) es la lesión histológica precursora de los TCG y su diagnóstico y tratamiento temprano puede prevenir la progresión hacia dichos tumores, los cuales son invasivos. Se propone que el origen de la ITGCNU son los gonocitos, que se conservan como indiferenciados y pluripotentes con susceptibilidad a su malignización futura^{2,3}. Nuestro grupo ha demostrado que en el 21.8% de los pacientes con criptorquidia analizados, se presentan gonocitos con persistencia en la expresión de proteínas de células indiferenciadas y pluripotentes como POU5F1, c-Kit y PLAP a diferencia de los individuos sanos⁴.

La MT es una entidad poco frecuente en niños y se puede diagnosticar ya sea mediante estudios de imagen, como lo es el ultrasonido testicular, o a nivel histológico. El aspecto en el ultrasonido es de múltiples foco hiperecogénicos de 1 a 3 mm de diámetro dentro del parénquima testicular⁵. A nivel histológico se caracteriza por calcificación en los túbulos seminíferos. Estos litos están compuestos por una calcificación central rodeada de fibras de colágena y se cree que se deben a degeneración del túbulo seminífero⁶. La MT se ha asociado con distintas alteraciones benignas como hidrocele, varicocele, dolor testicular, criptorquidia, entre otras así como anormalidades cromosómicas como son síndrome de Down, síndrome de McCune-Albright y síndrome de X frágil⁷. La MT testicular es considerada como factor predisponente para TCG, sin embargo esta relación no se ha logrado esclarecer adecuadamente. Su asociación con la presencia de gonocitos puede incrementar el riesgo para padecer TCG en el futuro. De acuerdo a nuestro conocimiento, no se conoce dicha relación en una población mexicana.

OBJETIVO.

Determinar la presencia de MT y gonocitos en los pacientes con criptorquidia en una población mexicana.

HIPÓTESIS

La MT se relaciona con la presencia de gonocitos en pacientes con criptorquidia atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron a pacientes menores de 8 años de edad, con criptorquidia, ya sea uni o bilateral; abdominal o inguinal del Instituto Nacional de Pediatría. Se realizó ultrasonido testicular preoperatorio para determinar el volumen y tamaño del testículo, así como la presencia y grado de MT. Previa autorización de los padres mediante consentimiento informado, se realizó durante la orquidopexia biopsia testicular a fin de procesar la muestras para su inclusión en epon y se realizaron cortes de 1 μ m de grosor mismos que se tiñeron con azul de toluidina. A nivel histológico se evaluó la presencia de gonocitos, así como de MT. Este proyecto fue aprobado por los comités de investigación y ética del Instituto Nacional de Pediatría.

RESULTADOS

El número de pacientes estudiados hasta el momento nos permite reportar únicamente resultados preliminares. Se incluyeron un total de 16 pacientes con 22 testículos no descendidos; 10 de ellos fueron unilaterales y 6 bilaterales; así como 10 del lado izquierdo y 12 del lado derecho. 17 testículos se palparon a nivel inguinal y los 5 restantes se encontraron a nivel abdominal, por consiguiente no se palparon. La edad promedio fue de 5.13 años (1 a 16 años), (Tabla 1). Se decidió incluir 1 paciente de 16 años, ya que se le realizó orquiectomía en vez de orquidopexia, tomando biopsia de la gónada extirpada.

De los 16 pacientes, 10 de ellos contaron con ultrasonido testicular preoperatorio. En 3 pacientes se presentó MT detectada en el ultrasonido, con lo cual tuvimos una prevalencia del 18% por este método de diagnóstico. La edad de estos pacientes fue de 3, 4 y 11 años. Solamente 1 paciente presentó MT en el testículo descendido, y en el criptorquídico, con mayor cantidad en el no descendido (10 vs 18). Llamó la atención que en 1 de los 3 pacientes con MT en el ultrasonido no presentó MT histológica, por lo que la biopsia no fue representativa.

En 8 pacientes se observó MT en la biopsia testicular, con lo cual tuvimos una prevalencia del 50%. En 4 de ellos se apreciaron etapas tempranas de MT, por la presencia de células muertas centrales a los túbulos seminíferos. En 5 pacientes con MT histológica que no contaron con ultrasonido preoperatorio, desconocemos si la misma ya se podía detectar por imagen. Solamente 1 paciente presentó MT temprana histológica sin ser detectada en el ultrasonido preoperatorio.

El volumen testicular se obtuvo mediante ultrasonido, con un promedio de 1.30 cc (0.27 a 5.18 cc) en testículos descendidos comparado con un volumen promedio de 0.63 (0.13 a 4.94 cc) en testículos criptorquídicos. (Tabla 2).

Se presentaron alteraciones histológicas que no mostraron un patrón en relación al tipo de criptorquidia y a la edad, como se describe a continuación. Se observó una clara degeneración del epitelio seminífero desde edades muy tempranas (2 años) (Figura 1). En 11 pacientes se observaron gonocitos, de los cuales 7 también presentaron MT. Solamente 1 paciente presentó una etapa temprana de la MT con ausencia de gonocitos . En todas las edades estudiadas se observaron gonocitos persistentes (Figura 1) Ningún paciente presentó ITGCNU. Los principales cambios al epitelio seminífero fueron el engrosamiento de la lámina basal con células peritubulares, desorganización celular, hipoplasia de células germinales, vacuolización, en algunos casos ausencia completa de células germinales y MT. Como se mencionó previamente, la MT comenzó con la descamación de las células germinales muertas que se ubican en la parte central de los cordones seminíferos (Figura 1). El conjunto de células muertas probablemente se calcifica formando estas estructuras. También se presentaron algunos tubos sanos con espermatogonias bien diferenciadas.

DISCUSIÓN

Como se mencionó previamente, estos son resultados preliminares los cuales se enfocan en las características histológicas y clínicas de los pacientes incluidos hasta el momento. Se encuentran pendientes los marcadores de pluripotencialidad, así como los resultados hormonales.

La MT testicular detectada en ultrasonido se caracteriza por múltiples focos ecogénicos menores a 3 mm, los cuales no producen sombra acústica⁷. Como se mencionó previamente, a nivel histológico se caracteriza por calcificaciones dentro del túbulo seminífero. Dichas calcificaciones están compuestas por un centro calcificado rodeado de fibras de colágena⁸. Se cree que aparecen después de que el túbulo seminífero presenta degeneración⁶. Sin embargo otros autores han sugerido que pueden ser secundarias a disfunción multifocal de las células de Sertoli⁹. Asimismo, la MT testicular actualmente forma parte de lo que se conoce como Síndrome de disgenesia testicular (SDT), en el cual se engloban distintas patologías y se cree derivan de disgenesia testicular durante el desarrollo fetal. Entre estas patologías se encuentran infertilidad, hipospadias, atrofia testicular, disgenesia gonadal, tumores de células germinales y criptorquidia¹⁰.

La prevalencia de MT es variable y se sugiere que aumenta con la edad¹¹. Está reportada entre 0.6 y 9% en la población general¹²⁻¹⁴ hasta 20% en hombres subfértiles¹⁵. Esta discrepancia es tan importante debido a que la definición de MT no es clara. Específicamente en niños con criptorquidia existen 2 estudios que reportan una prevalencia acumulada de 3.5%^{11, 16}. Nosotros tuvimos una prevalencia del 18% mediante ultrasonido y del 50% en la biopsia testicular. Estos altos índices de prevalencia se pudieran explicar a que todos nuestros pacientes forman parte del grupo de riesgo de SDT por el hecho de presentar criptorquidia. Asimismo se buscó de manera intencionada el hallazgo de MT. La presencia de MT fue mucho más marcada en la biopsia comparada con el ultrasonido,

posiblemente a que se pueden detectar al microscopio los cambios histológicos antes que en el ultrasonido. De la misma manera incluimos a los pacientes que presentaron principios de MT dentro de esta prevalencia en la biopsia testicular.

En nuestra población observamos la presencia de MT asociada a gonocitos desde el primer año de vida, lo cual nos sugiere que existen cambios testiculares nivel histológico que hay que considerar en el seguimiento de estos pacientes. Se ha reportado MT desde el primer día de vida, sin embargo no se conoce si tiene relación con la presencia de células pluripotentes como los gonocitos¹⁷. Otros autores han reportado la presencia de MT desde los 4 años de edad en pacientes específicamente con criptorquidia¹¹.

La vigilancia y tratamiento de los pacientes con MT testicular es controversial. En la población adulta, la MT se ha asociado a infertilidad y TCG⁷. Existen autores que incluso mencionan que la MT confiere un riesgo 10 veces mayor que la población general para presentar ITGCNU o TCG en pacientes con alguna patología asociada a SDT¹⁸. En cambio en el grupo de pacientes sanos o asintomáticos que por algún motivo se encuentra MT, no se conoce con certeza la prevalencia de ITGCNU. En la población pediátrica el panorama es todavía menos claro, ya que no se conoce el verdadero significado de la MT en este grupo de pacientes. Hay autores que mencionan que la vigilancia sí es necesaria, ya que hay casos reportados asociados a algún tipo de TCG; sin embargo existe el punto de vista contrario, ya que dichos casos asociados a cáncer son escasos en la literatura y no existen bases científicas sólidas⁸. Aunado a lo anterior vale la pena mencionar que la MT se asocia a otras patologías que son consideradas benignas además de la criptorquidia, como son hidrocele, varicocele, dolor testicular y torsión testicular⁷.

En nuestra población es importante recalcar que de los 8 pacientes que presentaron MT en la biopsia testicular se asociaron a la presencia de gonocitos, ninguno con ITGCNU. Solamente un paciente presentó gonocitos asociado a la

presencia de MT en ultrasonido y no en la biopsia testicular. Esto nos sugiere que existe un grupo de pacientes que ya tienen algún daño o riesgo importante de presentar ITGCNU a pesar de tener un ultrasonido normal.

El seguimiento de pacientes con MT no está bien establecido, pero se lleva a cabo mediante autoexploración, ultrasonido, incluso marcadores tumorales⁷.

CONCLUSIONES

Los resultados de nuestro estudio nos permiten sugerir que la presencia de MT y gonocitos es un factor de riesgo que se debe tomar en cuenta para la presencia de TCG. Sin embargo hacen falta más estudios que realmente nos ayuden a corroborar la asociación previamente mencionada.

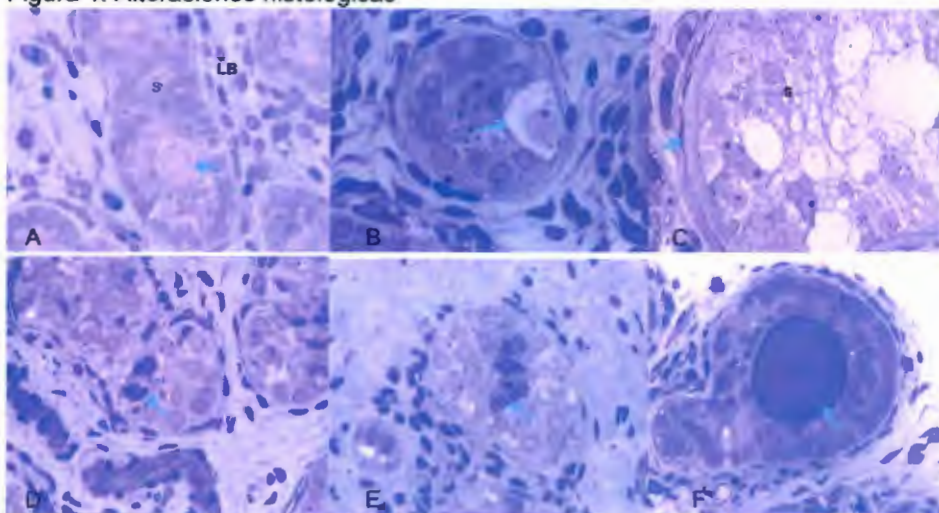
RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características clínicas			
Paciente	Edad (años)	Posición testicular	
		Unilateral	Bilateral
1	1	Inguinal izquierdo	
2	6	Inguinal derecho	
3	3	Inguinal izquierdo	
4	7	Inguinal derecho	
5	7		Inguinales
6	1	Inguinal derecho	
7	1		Inguinales
8	3	Inguinal izquierdo	
9	6		Inguinales
10	9		Abdominales
11	7		Inguinales
12	8	Inguinal derecho	
13	2	Inguinal derecho	
14	16	Abdominal izquierdo	
15	4		Abdominales
16	2	Inguinal derecho	

Ultrasonido				Biopsia Testicular	
Paciente	Diámetro mayor (cm)	Volumen testicular (cc)	Microlitiasis Testicular	Microlitiasis	Gonocitos
1	No tiene USG			No	No
2	No tiene USG			Sí	Sí
3	1.25	0.38	18	Sí	Sí
4	1.12	0.22	No	No	Sí
5	TD 1.15 cm TI 1.22	TD 0.27 TI 0.40	No	No	No
6	0.95	0.17	4	No	Sí
7	TD 1.17 TI 1.12	TD 0.18 TI 0.20	No	No	Sí
8	1.28	0.32	No	No	Sí
9	TD 0.87 TI 1.12	TD 0.13 TI 0.21	No	Principios MT	Sí
10	No tiene USG			Principios MT	No
11	TD 1.50 TI 1.31	TD 0.46 TI 0.39	No	No	No
12	No tiene USG			Principios MT	Sí
13	No tiene USG			Sí	Sí
14	2.55	4.94	No	No	No
15	TD 1.50 TI 0.96	TD 0.58 TI 0.60	TD 4 TI 5	Sí	Sí
16	No tiene USG			Principios MT	Sí

USG: ultrasonido; MT: microlitiasis; TD: testículo derecho; TI: testículo izquierdo.

Figura 1. Alteraciones histológicas



A: Paciente de dos años en donde se observan las primeras alteraciones histológicas: hipoplasia de células germinales, engrosamiento de la lámina basal (LB), gran cantidad de núcleo de las células de Sertoli (S) y persistencia de gonocitos (flecha). Azul de toluidina, 60X.

B y C: Paciente de 4 años de edad en donde se observa la presencia de gonocitos (flecha) y el depósito de células peritubulares. Azul de toluidina, 60X.

D, E, F: Paciente de 4 años de edad en donde se observa la cronología en la formación de las MT iniciando con la muerte celular y descamación a la parte central de los cordones que van acumulando células muertas hasta su calcificación. Azul de toluidina, 60X.

BIBLIOGRAFÍA

1. Looijenga LH. Human testicular (non) seminomatous germ cell tumores: the clinical implications of recent pathobiological insights. *J Pathol* 2009; 218 (2): 146-62.
2. Hutson MJ, Li R, Southwell RB, Petersen LB, Thorup J, Cortes D. Germ cell development in the postnatal testis: the key to prevent malignancy in cryptorchidism? *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013; 3: 176.
3. Sonne SB, Almstrup K, Dalgaard M, et al. Analysis of gene expression profiles of microdissected cell populations indicates that testicular carcinoma *in situ* is an arrested gonocyte. *Cancer Res.* 2009, 69(12):5241-50.
4. Viguera RM, Cortés TL, Chávez SM, et al. Analysis of POU5F1, c-kit and PLAP in gonocytes of patients with cryptorchidism. Enviado a la revista *Acta Histochemica*.
5. Janzen DL, Mathieson JR, Marsh JI, et al. Testicular microlithiasis: sonographic features. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 158: 1057-60.
6. Vegni-Talluri M, Bigliardi E, Vanni MG. Testicular microliths: their origin and structure. *J Urol* 1980; 124: 105-7.
7. Goede J, Hack WWM. Clinical aspects of testicular microlithiasis in boys: A review. *J Pediatr Urol* 2012; 8: 459-69.
- Thorup J, Petersen BL, Kvist K, Cortes D. Bilateral undescended testes classified according to preoperative and postoperative status of gonadotropins and inhibin B in relation to testicular histopathology at bilateral orchiopexy in infant boys. *J Urol* 2012; 188(4 Suppl): 1436-42.
8. Dagash H, MacKinnon EA. Testicular microlithiasis: what does it mean clinically? *BJU International* 2006; 99: 157-60.
9. Drut R, Drut RM. Testicular microlithiasis: histologic and immunohistochemical findings in 11 pediatric cases. *Pediatr Dev Pathol* 2002; 5: 544-50.
10. Lin K, Sharangpani R. Screening for testicular cancer: an evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2010; 153: 396-99.

11. Goede J, Hack WW, van der Voort-Doedens LM, Pierik FH, Looijenga LH, Sijstermans K. Testicular microlithiasis in boys and Young men with congenital or acquired undescended (ascending) testis. *J Urol* 2010; 183: 1539-43.
12. Cast JE, Nelson WM, Early AS, et al. Testicular microlithiasis: prevalence and tumor risk in a population referred for scrotal sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1703-6.
13. Bach AM, Hann LE, Hadar O, et al. Testicular microlithiasis: what is its association with testicular cancer? *Radiology* 2001; 220: 70-5.
14. Hobarth K, Susani M, Szabo N, Kratzik C. Incidence of testicular microlithiasis. *Urology* 1992; 40: 464-7.
15. van Casteren NJ, Looijenga LH, Dohle GR. Testicular microlithiasis and carcinoma *in situ* overview and proposed clinical guideline. *Int J Androl* 2009; 32: 279-87.
16. Riebel T, Herrmann C, Wit J, Sellin S. Ultrasonographic late results after surgically treated cryptorchidism. *Pediatr Radiol* 2000; 30: 151-5.
17. Deganello A, Svasti-Salee D, Allen P, Clarke JL, Sellars MEK, Sidhu PS. Scrotal calcification in a symptomatic paediatric population: Prevalence, location, and appearance in a cohort of 516 patients. *Clinical Radiology* 2012; 67: 862-67.
18. Tan IB, Ang KK, Ching BC, Mohan C, Toh CK, Tan MH. Testicular microlithiasis predicts concurrent testicular germ cell tumors and intratubular germ cell neoplasia of unclassified type in adults: a meta-analysis and systematic review. *Cancer* 2010; 116: 4520-32.