

REGINA DE PAULA XAVIER GOMES MARTINS BARBOSA

**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO
PARÊNQUIMA TESTICULAR ADJACENTE À
NEOPLASIA TESTICULAR DE LINHAGEM GERMINATIVA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau acadêmico de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Departamento de Cirurgia, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná.

ORIENTADOR: Prof. Luiz Carlos de Almeida Rocha.

COORDENADOR: Prof. Antonio Carlos Ligoeki Campos

**CURITIBA
1999**

REGINA DE PAULA XAVIER GOMES MARTINS BARBOSA

**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO
PARÊNQUIMA TESTICULAR ADJACENTE À
NEOPLASIA TESTICULAR DE LINHAGEM GERMINATIVA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau acadêmico de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Departamento de Cirurgia, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná.

ORIENTADOR: Prof. Luiz Carlos de Almeida Rocha.

COORDENADOR: Prof. Antonio Carlos Ligocki Campos

**CURITIBA
1999**

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Carolina Maria de Paula Xavier, sempre presente em minhas conquistas.

À minha avó, Dra. Yone Busse de Paula Xavier, que me ensinou a verdadeira medicina.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Cirurgia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Ao Dr. Luiz Fernando Bleggi Torres, Chefe do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Ao Dr. Antonio de Pádua Gomes da Silva.

À Eliete do Rocio Gonçalves.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE GRÁFICOS	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	4
3 REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 HISTOLOGIA NORMAL DO TESTÍCULO	5
3.1.1 TESTÍCULO DO ADULTO	5
3.1.2 TESTÍCULO PRÉ-PUBERAL	10
3.1.3 TESTÍCULO DO IDOSO	12
3.1.4 <i>RETE TESTIS</i>	12
3.2 TESTÍCULO CRIPTORQUÍDICO	13
3.3 HISTOGÊNESE E CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS TESTICULARES.....	15
3.4 ETIOLOGIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES	17
3.5 NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS	20
3.6 NEOPLASIAS GERMINATIVAS TESTICULARES	21
4 MATERIAL E MÉTODO	27
4.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA	27
4.2 METODOLOGIA ESTATÍSTICA	29

5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	49
7 CONCLUSÕES	56
ANEXO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE TABELAS

1	DISTRIBUIÇÃO DAS NEOPLASIAS GERMINATIVAS TESTICULARES POR FAIXA ETÁRIA	30
2	FREQÜÊNCIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES GERMINATIVAS.....	31
3	FREQÜÊNCIA DAS ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG	32
4	FREQÜÊNCIA DAS ALTERAÇÕES NUMÉRICAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG DENTRO DE UM MESMO GRUPO TUMORAL.....	36
5	ESPERMATOGÊNESE NO PARÊNQUIMA TESTICULAR REMANESCENTE.....	37
6	FREQÜÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS	41
7	DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS QUANTO À INCIDÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA	45
8	FREQÜÊNCIA DA NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA POR GRUPO TUMORAL	46
9	FREQÜÊNCIA DA NEOPLASIA INTRATUBULAR ENTRE DIFERENTES ASSOCIAÇÕES DE NEOPLASIAS GERMINATIVAS MISTAS	46

LISTA DE GRÁFICOS

1	DISTRIBUIÇÃO DAS NEOPLASIAS GERMINATIVAS POR FAIXA ETÁRIA	31
2	FREQÜÊNCIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES GERMINATIVAS	32
3	ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG.....	33
4	FREQÜÊNCIA DAS ALTERAÇÕES NUMÉRICAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG DENTRO DE UM MESMO GRUPO TUMORAL	36
5	ESPERMATOGÊNESE NO PARÊNQUIMA REMANESCENTE	38
6	FREQÜÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS	41

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1	DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS DE LEYDIG	33
2	POPULAÇÃO NORMAL DE CÉLULAS DE LEYDIG	34
3	HIPERPLASIA DISCRETA DAS CÉLULAS DE LEYDIG	34
4	HIPERPLASIA ACENTUADA DAS CÉLULAS DE LEYDIG	35
5	TÚBULO SEMINÍFERO HIALINIZADO.....	38
6	TÚBULOS SEMINÍFEROS COM CÉLULAS DE SERTOLI (SÍNDROME DAS CÉLULAS DE SERTOLI ISOLADAS).....	39
7	TÚBULOS SEMINÍFEROS COM ESPERMATOGÔNIAS E ESPERMATÓCITOS	39
8	TÚBULOS SEMINÍFEROS COM ESPERMATOGÊNESE INCOMPLETA ATÉ ESPERMÁTIDES.....	40
9	NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA	42
10	NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA	42
11	CÉLULAS ATÍPICAS INTRATUBULARES ISOLADAS	43
12	NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA EM TÚBULOS IMATUROS.....	43
13	CÉLULAS ATÍPICAS NO INTERSTÍCIO INTERTUBULAR.....	44
14	EMBOLIZAÇÃO NEOPLÁSICA	44
15	VASCULITE.....	47
16	CALCIFICAÇÃO LUMINAL TUBULAR	47
17	ADENOMA DE PICK.....	48
18	ORQUITE CRÔNICA FOLICULAR	48

LISTA DE ABREVIATURAS

C.G.A	CAMPO DE GRANDE AUMENTO
CE	CARCINOMA EMBRIONÁRIO
HE	HEMATOXILINA E EOSINA
MB	MEMBRANA BASAL
NITCG	NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE
PAS	ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF
STC	ESPERMATÓCITO
STD	ESPERMÁTIDE
STG	ESPERMATOGÔNIA
TI	TERATOMA IMATURO
TM	TRICRÔMICO DE MASSON
TA	TERATOMA MADURO
TSV	TUMOR DO SACO VITELINO

RESUMO

Toda a literatura anátomo-patológica relativa às neoplasias testiculares tem tido entre seus principais objetivos elucidar a histogênese e aperfeiçoar a classificação desses tumores. Este trabalho tem como objetivo explorar um campo um tanto diverso, que é a relação da neoplasia testicular com o parênquima testicular remanescente não tumoral que a rodeia. Para tanto foram selecionados 69 casos de neoplasia testicular de origem germinativa em que houvesse ao menos uma faixa de parênquima não-neoplásico. As amostras foram coradas pelos métodos de hematoxilina e eosina, ácido periódico de Schiff e tricrômico de Masson e foram avaliados três aspectos principais: as células de Leydig, a espermatogênese e a presença de neoplasia intratubular. Os resultados obtidos demonstraram que as células de Leydig apresentam redução quantitativa em 69,5% dos casos, alteração essa significativa tanto nos seminomas como nas neoplasias mistas germinativas. As células de Leydig estiveram aumentadas em número em somente 7,2% dos casos. A avaliação da espermatogênese revelou hipotrofia testicular em todas as amostras examinadas, sendo acentuada em 43,5%, moderada em 43,5% e discreta em 13% dos casos onde foram identificadas espermátides jovens. O achado de neoplasia intratubular de linhagem germinativa em 66,7% das amostras foi estatisticamente significativa confirmando a associação já bem estabelecida com neoplasia germinativa testicular invasora. Todos os achados reforçam a idéia de que existam lesões testiculares anteriores ao tumor, tanto na forma de alteração não-neoplásica da espermatogênese tubular como na forma de diminuição quantitativa das células de Leydig.

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma testicular, apesar de sua baixa incidência na população geral, é responsável por grande parte das neoplasias que afetam homens jovens, muitos em idade reprodutiva.

Numerosos são os padrões histológicos de neoplasias que atingem o testículo, tornando bastante complexo o estudo de sua histogênese e etiologia. Alguns fatores são certos quando se fala em etiologia, como o criptorquidismo e o hipogonadismo de causas variadas; outros têm sido igualmente relacionados, mas sua posição etiopatológica não é bem explicada, como é o caso da torção testicular e de alguns processos infecciosos testiculares. O que é certo é que quase todas as neoplasias de linhagem germinativa testicular derivam de uma neoplasia intratubular e que essas alterações podem ser encontradas em diversas situações, a principal delas na vizinhança de neoplasia germinativa testicular. A neoplasia intratubular de células germinativas (NITCG) tem sido descrita ainda em situações diversas, como na esterilidade (SKAKKEBÆK, 1972; SKAKKEBÆK et al., 1973; NIELSEN et al., 1974; SKAKKEBÆK, 1978; SIGG e HEDINGER, 1981), na disgenesia gonadal (SOGGE et al., 1979; BEHESHTI et al., 1987; RAMANI et al., 1993; OKADA et al., 1999) e no criptorquidismo (KRABBE et al., 1979; FRAM et al., 1982; MARTIN, 1982; SKAKKEBÆK et al., 1982; MÜLLER et al., 1984; GIWERCMAN et al., 1989; MOLLER et al., 1996).

No estudo histológico de tumores testiculares observa-se que, em diversos casos, dependendo do tempo decorrido entre o aparecimento do tumor, seu diagnóstico e o tratamento cirúrgico, existe ao menos uma faixa de parênquima testicular livre de neoplasia. Tal achado é freqüente mesmo em casos em que tal área dita normal não é visualizável a olho nu : quando amostrada a periferia tumoral, junto à cápsula testicular, com freqüência observam-se alguns túbulos seminíferos remanescentes e outros componentes intersticiais, como células de Leydig.

A avaliação desse parênquima, diferente do que é feito habitualmente em casos de carcinoma de próstata, carcinoma de ductos mamários e adenocarcinoma

gástrico, não é realizada rotineiramente em nosso meio. Da mesma forma, são poucos os estudos e relatos científicos envolvendo a avaliação de alterações no parênquima testicular remanescente adjacente à neoplasia testicular.

O primeiro estudo de que se tem nota é o de MARK e HEDINGER, de 1965, onde foram levantadas questões a respeito da fisiologia tumoral testicular quanto à produção hormonal e da ocorrência simultânea de teratoma e seminoma testiculares. SKAKKEBÆK em 1975 voltou a observar o tecido junto a neoplasias testiculares e descreveu a presença de células atípicas, já observadas por MARK e HEDINGER dez anos antes. JACOBSEN et al., em 1981, relataram a presença de "carcinoma *in situ*" no tecido vizinho a tumores testiculares germinativos.

Excetuando os estudos de MARK e HEDINGER (1965), de JACOBSEN et al. (1981) e o de SKAKKEBAEK (1975), nenhum outro que se tenha conhecimento avaliou estruturas testiculares que não o epitélio germinativo quanto à presença ou não de atipias. Entretanto, há diversos relatos de alterações no testículo contralateral e que são condizentes com as alterações vistas no parênquima remanescente ao lado da neoplasia germinativa testicular. Essas outras alterações são tanto a nível de espermatogênese, que se encontra prejudicada, (PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1998; SKAKKEBEK et al., 1998; RAJPERT-DE MEYTS et al., 1998; PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1999; PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1999) como na população de células de Leydig (PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1998; PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1998; PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1999). A NITCG está também presente tanto no testículo tumoral quanto no testículo contralateral de pacientes com neoplasia testicular de origem germinativa (BERTHELSEN et al., 1979; BERTHELSEN et al., 1982; MONTIE, 1993; DAUGAARD et al., 1996; DIECKMANN e LOY, 1996; LENZ et al., 1996; DIECKMANN e LOY, 1998; HARLAND et al., 1998; PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1999).

A avaliação do testículo contralateral não é rotina em alguns centros, porém em países como a Dinamarca, onde a neoplasia testicular tem maior incidência (MOLLER, 1993), essa é uma prática comum. A falta desse procedimento em muitos

centros deve-se ao desconhecimento de algumas alterações, em parte pelos clínicos e em parte pelos patologistas, que não têm o hábito de fazer diagnóstico de neoplasia intratubular germinativa, seja por desconhecimento seja por falta de prática em observar tais lesões, que são por vezes sutis. Conseqüentemente, acaba sendo também prejudicada a avaliação de alterações testiculares em biópsias por esterilidade, por criptorquidismo ou por outras doenças, resultando em acompanhamento clínico inadequado do paciente.

A avaliação do parênquima adjacente à neoplasia testicular, falando sempre em origem germinativa por sua quase total predominância, leva-nos a conhecer um pouco mais esse órgão cujas características fisiológicas ainda são um tanto obscuras.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é documentar o aspecto histopatológico do parênquima testicular remanescente adjacente à neoplasia testicular germinativa no que diz respeito à espermatogênese, à variação numérica das células intersticiais de Leydig e à presença ou não de neoplasia intratubular germinativa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HISTOLOGIA NORMAL DO TESTÍCULO

3.1.1 TESTÍCULO DO ADULTO

Tecido de sustentação

Cada testículo é envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, cuja porção posterior é chamada “mediastino”; nessa região são encontrados vasos sangüíneos e linfáticos, nervos e a porção mediastinal da *rete testis*. A espessura dessa cápsula varia com a idade, medindo 300 μm ao nascimento, 400 a 450 μm na idade adulta, chegando a 950 μm com mais de 65 anos (TRAINER, 1987). A cápsula testicular é formada por três camadas distintas: a serosa externa ou túnica vaginal, a túnica albugínea espessa e colagenizada e a túnica interna ou vasculosa.

O parênquima testicular é dividido em aproximadamente 250 lóbulos ou compartimentos através de septos de tecido conjuntivo fibroso oriundos da porção capsular. Nesses compartimentos estão contidos os túbulos seminíferos com as células germinativas e de Sertoli, o interstício e as células intersticiais ou de Leydig.

Túbulos seminíferos

Cada lóbulo testicular contém de um a quatro túbulos seminíferos. Os túbulos são bastante tortuosos e convolutos, com numerosas comunicações porém sem fundos cegos e ramificações. O comprimento total de cada túbulo seminífero é estimado entre 299 e 981 m, com média de 540 m. A média do diâmetro tubular em adultos jovens é de 180 $\mu\text{m} \pm 30$ (TRAINER, 1987). Os túbulos seminíferos são compostos de células de Sertoli e por células germinativas em diversas fases de maturação. Cada túbulo tem ainda uma membrana basal distinta e uma lâmina própria delgada.

Células de Sertoli

As células de Sertoli no testículo adulto normal são estáveis e não sofrem divisão celular, tendo número constante durante toda a vida. São colunares, assentam-se sobre a membrana basal tubular e emitem prolongamentos citoplasmáticos por entre as células germinativas. Seu núcleo é basal, irregular e contém nucléolo proeminente, característica que permite diferenciá-las dos elementos germinativos. Em seu citoplasma pode haver vacúolos lipídicos e/ou material fagocitado que aparece de forma granular. Há aproximadamente uma célula de Sertoli para cada treze germinativas (TRAINER, 1991).

As células de Sertoli formam uma rede que envolve as células germinativas. Na puberdade, dividem o túbulo em dois compartimentos — basal e adluminal. O compartimento basal contém espermatogônias e espermatócitos em fase de pré-leptóteno; o compartimento adluminal contém os espermatócitos primários remanescentes, os espermatócitos secundários e as espermatídes. Um compartimento intermediário é formado entre as células de Sertoli adjacentes, enquanto as células germinativas se movem entre os outros dois compartimentos. Há ainda grande coesão entre as próprias células germinativas, o que garante a integridade da barreira de células de Sertoli. Essa barreira impede a chegada de qualquer elemento proveniente da circulação sanguínea para o compartimento adluminal que não seja através do citoplasma da célula de Sertoli (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

As células de Sertoli são ativas na síntese de grande quantidade de substâncias e proteínas e são também responsáveis pelo transporte da testosterona para o lúmen tubular. No período pré-puberal a célula de Sertoli é responsável ainda pela supressão da divisão meiótica dos gametas.

Células germinativas

As células germinativas são derivadas do saco vitelino e migram, na vida embrionária, para a crista gonadal. A alteração na migração explica em parte o surgimento de neoplasia derivada dessas células em diferentes localizações (BACKHOUSE, 1982). Os elementos germinativos constituem a grande população

dos túbulos seminíferos, cuja maturação celular no homem leva em torno de 70 ± 4 dias.

As espermatogônias no compartimento basal proliferam e algumas dão origem a espermatócitos primários, iniciando a primeira divisão meiótica. A forma inicial do espermatócito primário é a da fase de pré-leptóteno, encontrada também na porção basal. Esses espermatócitos movem-se por um mecanismo desconhecido para o compartimento adluminal, evoluindo para as fases seguintes: de leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno. Essa parte do ciclo dura 24 dias. A classificação dos espermatócitos primários baseia-se na alteração do padrão cromatínico.

Após esse período de gametogênese, a primeira divisão meiótica ocorre com a formação de espermatócitos secundários. Estes têm uma vida média extremamente curta e rapidamente sofrem divisão meiótica para formar espermátides haplóides, que são convertidas por metamorfoses sucessivas em espermatozóides.

A maturação das células germinativas segue um padrão ordenado, porém de modo irregular: espermatozóides maduros podem ser vistos no corte de um túbulo seminífero e, no túbulo ao lado somente serem identificadas espermátides, sem que isso signifique parada de maturação celular.

Os elementos celulares podem ser identificados com relativa facilidade e as formas de espermatogônia, de espermatócito primário e secundário e de espermátides devem ser prontamente reconhecidas.

A espermatogônia está localizada na porção mais basal do túbulo seminífero, havendo contato de parte da célula com a membrana basal. Possui núcleo com cromatina densa e homogênea e nucléolo facilmente identificável. No citoplasma, em localização perinuclear, há os cristalóides de Lubarsch; tais estruturas podem ser encontradas em adultos e crianças a partir da quinta semana após o nascimento.

Os espermatócitos em leptóteno são caracterizados por alteração no padrão cromatínico, que toma a forma de estrutura filamentosa e granular; na fase de zigóteno a granularidade é maior e há tendência de localização excêntrica; em zigóteno e paquíteno, são os mais facilmente por seu grande volume e núcleo proeminente contendo filamentos curtos e grossos de cromatina.

Os espermatócitos secundários compreendem a minoria das células presentes por sua vida média bastante curta. Possuem núcleo menor que o dos espermatócitos primários e têm cromatina finamente granular.

As espermatídes jovens exibem núcleo com cromatina granular, densa e hipercromática, enquanto as espermatídes finais têm núcleo oval com material cromatínico bastante condensado e evoluem para uma forma alongada à semelhança de um espermatozóide. No testículo adulto normal a população de espermatídes deve corresponder a aproximadamente 50% dos elementos germinativos.

Entre os vários métodos para a avaliação do trofismo testicular quanto à maturação do epitélio germinativo, o mais empregado é o de Johnson: são avaliados diversos túbulos seminíferos e é dada uma pontuação de um a dez para cada túbulo, de acordo com a quantidade e o grau de maturação do epitélio germinativo. Nesse tipo de avaliação o escore mínimo deve ser de 8,90, com uma média de 9,38, e 60% ou mais túbulos devem ter escore igual a dez (TRAINER, 1991).

A espermatogênese, quando alterada, determina infertilidade; a alteração da espermatogênese pode ser devida a uma série de fatores, dentre eles o criptorquidismo, a disgenesia gonadal e, também, a neoplasia germinativa testicular (PETERSEN, GIWERCMAN et al. 1998). Não se sabe ao certo se a diminuição da espermatogênese é concomitante ao surgimento da neoplasia, compartilhando com esta o mesmo fator etiológico, ou se a sua alteração por determinado fator ambiental, hormonal ou intrínseco de cada paciente leva à neoplasia germinativa (PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1999; PETERSEN, SKAKKEBAEK, et al., 1999).

Interstício

O interstício corresponde a 25-30% da massa testicular. Pode ser classificado em intertubular e peritubular. O interstício intertubular contém as células de Leydig, vasos sangüíneos e linfáticos, nervos, macrófagos em geral numerosos, poucos linfócitos e mastócitos. Ao redor de cada túbulo seminífero, constituindo o interstício peritubular, há delgada faixa de tecido conjuntivo frouxo formando a lâmina própria (KRETSER et al.,

1975). O componente celular intersticial testicular pode se apresentar alterado, com infiltrado linfóide, em algumas condições como infertilidade, neoplasia intratubular de células germinativas e neoplasia testicular germinativa invasora (JAHNUKAINEN et al., 1995).

Células de Leydig

As células de Leydig, responsáveis pela produção de testosterona, são encontradas isoladas ou agrupadas no interstício testicular e quase sempre em íntima associação com filetes nervosos. Possuem citoplasma abundante e eosinofílico, onde podem ser encontradas gotículas lipídicas e lipofuscina. O núcleo é único e central, arredondado, vesiculoso, com um ou dois nucléolos periféricos; só ocasionalmente são binucleadas. Os cristalóides de Reinke característicos, intracitoplasmáticos e raramente intranucleares, existentes exclusivamente em humanos e no rato selvagem, aparecem somente após a puberdade. Sua ocorrência é altamente variável no testículo normal e freqüentemente nula nos tumores de células de Leydig.

A quantificação das células de Leydig é de difícil avaliação pela maneira irregular com que se distribuem no interstício. Como regra geral, adultos normais devem ter aproximadamente cinco a dez células de Leydig para cada túbulo visto em corte transversal. Um método prático e freqüentemente utilizado é o introduzido por SARGENT e McDONALD, citado por MARK e HEDINGER em 1965, em que são observados tanto o arranjo quanto o número de células de Leydig. A alteração numérica dessas células é observada em geral em alterações hormonais que contam principalmente com variações nos níveis de hormônio do crescimento e com produção de gonadotrofina coriônica (KULIN et al., 1981). Em alguns estudos recentes (LEFEBVRE et al., 1993; PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1998; PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1999; PETERSEN, SKAKKEBAEK, et al., 1999) observou-se alteração da função das células de Leydig em pacientes portadores de neoplasia germinativa testicular, demonstrando que elas podem desempenhar papel importante no mecanismo fisiopatológico desses tumores.

Vascularização

O suprimento sanguíneo para o testículo é derivado primariamente da artéria espermática interna, com pequena contribuição dos ramos da artéria vesical interna. A artéria testicular é bastante espiralada e longa em relação a seu diâmetro e tem pressão de pulso bastante baixa quando entra no testículo. A artéria tem papel muito importante na regulação da temperatura na via contracorrente de regulação da troca de calor com as veias do plexo pampiniforme. Os ramos da artéria testicular arborizam-se sobre a superfície testicular, penetram pela cápsula e passam de modo centrípeto junto aos septos testiculares até o mediastino, onde formam um enovelado vascular denso. Dessas artérias apenas alguns poucos ramos entram pelos lóbulos testiculares. A partir do mediastino, pequenos segmentos arteriais passam de modo centrífugo para o parênquima, onde se ramificam em vênulas e capilares. As veias correm de maneira centrífuga e centrípeta e eventualmente sofrem anastomose posteriormente para formar o plexo pampiniforme da veia testicular. Na puberdade há marcante desenvolvimento de microvascularização intratesticular, com formação de anastomose arterio-venosa, cuja função é desconhecida (TRAINER, 1987).

Os espaços linfáticos no homem são mal definidos e encontrados no interstício adjacente aos grupos de células de Leydig. Não há rede linfática peritubular. Os canais linfáticos drenam para os septos e daí para a cápsula e para o mediastino, para se juntarem na face posterior do testículo; nessa região sofrem anastomose com canais linfáticos do epidídimo e entram pelo cordão espermático.

3.1.2 TESTÍCULO PRÉ-PUBERAL

O testículo fetal (20 sem) caracteriza-se pela presença de grande número de células de Leydig bem desenvolvidas que ocupam o interstício. Os túbulos seminíferos são totalmente preenchidos por células de Sertoli e por células germinativas primordiais (gonócitos). Ao nascimento, os túbulos vão aumentando muito discretamente em volume até os doze anos quando atingem cerca de 65 μm .

Predominam nos túbulos seminíferos as células de Sertoli, que mantêm sua divisão até pouco tempo após o nascimento. Até a puberdade elas compreendem vários subtipos que são melhor caracterizados ultra-estruturalmente. À microscopia óptica observa-se que as células de Sertoli imaturas têm núcleo relativamente regular, redondo a ovóide, com nucléolo inconspícuo. Em corte de túbulo observa-se que a população de células de Sertoli diminui de 42 nos primeiros quatro meses de vida para 26 ao redor dos treze anos, chegando a 12 a 15 na idade adulta.

Os gonócitos são encontrados principalmente na porção central dos túbulos. Seu núcleo é bem maior do que o das células de Sertoli imaturas e a cromatina é mais granular. Pouco antes e após o nascimento os gonócitos migram para a periferia do túbulo para dar origem às espermatogônias; estas têm núcleo bem maior do que o das outras células presentes e ocorrem na periferia do túbulo, onde mantêm contato com a membrana basal. Por volta dos cinco anos de idade não mais existem gonócitos e já podem ser evidenciados alguns pré-espermatócitos. Estes se mantêm na porção média do túbulo, em contato com as células de Sertoli. Do nascimento aos quatro anos de idade verifica-se pelo menos uma célula germinativa por túbulo; esse número dobra do quinto ao oitavo ano de vida e há um aumento dramático dessa população na puberdade (HADZISELIMOVIC, 1977).

A lâmina própria pré-puberal é pouco desenvolvida e separada dos túbulos por uma membrana basal delgada e regular.

As células de Leydig são vistas primeiramente ao redor de oito semanas de gestação e tornam-se proeminentes ao redor de quinze a vinte semanas, após o que sofrem marcante redução em número. Até a idade de um ano apenas poucas células de Leydig são identificáveis, assumindo a maioria a forma de fibroblastos indiferenciados. Algumas poucas têm nucléolo proeminente. Estudos demonstram que apenas 9% das células fusiformes intersticiais são precursoras de células de Leydig (KRETSER et al., 1975). Ao redor dos sete anos de idade já há diferenciação das células de Leydig, que continua até a puberdade.

3.1.3 TESTÍCULO DO IDOSO

O declínio da função testicular no idoso está relacionado a alterações histológicas que incluem hipoespermatogênese, fibrose peritubular e hialinização dos túbulos seminíferos. Uns poucos túbulos esclerosados podem ser normalmente encontrados no indivíduo adulto. Maturação celular anormal, desgarramento de células para dentro dos túbulos seminíferos, degeneração dos elementos germinativos e fagocitose das células de Sertoli são achados freqüentes.

As alterações intersticiais são bastante variáveis. A esclerose peritubular e a hialinização podem ser marcantes. O espessamento das paredes arteriais é visto em cerca de 90% dos testículos com extensas áreas de fibrose. O leito capilar torna-se esparso e pouco organizado.

Existem estudos divergentes a respeito do número das células de Leydig, apontando a maioria para uma diminuição da população celular. As células de Leydig “velhas” contêm grande quantidade de lipofuscina e vacuolização citoplasmática. Já as células de Sertoli são estáveis por toda a vida. No entanto, homens entre 20 e 48 anos têm muito mais células de Sertoli do que homens entre 50 e 85 anos, existindo uma relação constante entre células de Sertoli e células germinativas nos dois grupos (TRAINER, 1987).

3.1.4 *RETE TESTIS*

A *rete testis* é uma rede de canais no hilo testicular que recebe o conteúdo dos túbulos seminíferos. Divide-se em três porções: *septal*, que contém os túbulos retos, *mediastinal* e porção *extratesticular*. Os túbulos retos são curtos e servem para comunicar os túbulos seminíferos ao mediastino. A porção mediastinal é uma rede cavernosa de canais intercomunicantes; esses canais deixam o testículo para formar vários canais dilatados, vesiculares, que compreendem a porção extratesticular. Essas estruturas anastomosam-se para formar os ductos eferentes.

O epitélio da *rete testis* é do tipo escamoso simples ou colunar baixo com microvilos. Cada célula tem centralmente um flagelo único, inconspícuo à microscopia óptica (CORMACK, 1991). Há uma membrana basal espessa sob a qual há fibroblastos, células mióides, fibras colágenas e fibras elásticas. Atravessando o mediastino há traves conjuntivas (*chordae testis*) que conectam as paredes opostas das câmaras.

3.2 TESTÍCULO CRIPTORQUÍDICO

A falha na descida testicular tem incidência relativamente alta na população masculina, variando entre 2,7 e 4% (HADZISELIMOVIC, 1977 e WHEELER e RUDY, 1997). Pode ser classificada em três categorias: (1) testículos retráteis - localizam-se no canal inguinal e com manobra adequada são facilmente levados à bolsa escrotal; (2) testículos criptorquídicos - são encontrados em algum ponto do trajeto de migração testicular (abdominal, inguinal ou em posição mais alta na região escrotal) e (3) testículos ectópicos - situam-se fora da linha de migração testicular (posteriormente à região escrotal no períneo, na face interna da raiz da coxa ou, mais raramente, no dorso do pênis).

A importância do estudo do testículo criptorquídico, além da associação com infertilidade (HEZZMALL e LIPSHULTZ, 1982; JOB e GENDREL, 1982; CORTES et al., 1998), reside em sua relação com as neoplasias testiculares germinativas (GEHRING et al., 1974; SAKASHITA et al., 1980; HALME, 1989; BOYLE e ZARIDZE, 1993). Estima-se que 4 a 11% dessas neoplasias tenham ligação com testículos criptorquídicos (ABRATT et al., 1992). Várias pesquisas existem relacionando o criptorquidismo com a neoplasia germinativa testicular, estimando-se que a probabilidade de ocorrência de câncer em testículo criptorquídico é 35 vezes maior do que em testículo normal (LEVIN, 1994). A fertilidade dos indivíduos com criptorquidismo depende da oportunidade do tratamento: quanto mais precoce, menores serão as

alterações histológicas testiculares e maior a probabilidade de fertilidade, visto que as alterações na maturação celular testicular são, até certo ponto, reversíveis.

O aspecto histológico dos testículos criptorquídicos depende do tempo e do local em que o órgão ficou retido, e da presença ou não de terapia hormonal (MENGEL et al., 1982; NISTAL et al., 1985). Em alguns casos o testículo pode, espontaneamente, vir a localizar-se normalmente na bolsa escrotal; em outros isso é conseguido graças à terapia hormonal. Nessas condições, em geral, não se conta com parênquima testicular para análise.

Estudos feitos com testículos criptorquídicos submetidos a orquiopexia e biópsia nos primeiros quatro meses de vida revelaram hipoplasia de células de Leydig, contagem normal de células germinativas e alteração na maturação dos gonócitos (LEVIN, 1994). Há descrição de casos em que ocorre pequena redução no número de espermatogônias durante o primeiro ano de vida (HADZISELIMOVIC, 1977). Com hormonioterapia observa-se melhora na maturação das células germinativas e, em alguns casos, hiperplasia das células de Leydig (LEVIN, 1994). Após o primeiro ano de vida ocorre diminuição no número de células germinativas e espessamento da membrana basal dos túbulos seminíferos (HUFF et al., 1989). Com três anos observam-se alterações marcantes nas espermatogônias, que apresentam padrão fetal, binucleação freqüente e, às vezes, núcleo bizarro (HADZISELIMOVIC, 1977). Testículos retidos por períodos superiores a seis anos até o período puberal apresentam apenas espermatogônias imaturas, inexistindo, portanto, espermatogônias maduras e espermátócitos (HADZISELIMOVIC, 1977). Após a puberdade podem ser observados diversos padrões de atrofia testicular, como hipoespermatogênese, parada da maturação celular, aplasia de células germinativas e hipoplasia testicular (LEVIN, 1994). Outras alterações que acompanham o testículo criptorquídico de longa data são focos de calcificação, alargamento intersticial por proliferação conjuntiva, diminuição do diâmetro dos túbulos seminíferos, esclerose tubular e proeminência de células de Leydig (LEVIN, 1994).

3.3 HISTOGÊNESE E CLASSIFICAÇÃO DOS TUMORES TESTICULARES

A arquitetura microscópica da gônada masculina é bastante complexa. Compreende desde o revestimento capsular de tecido conjuntivo e células mesoteliais até as células de linhagem germinativa. Apesar de toda a riqueza de elementos celulares que podem dar origem à neoplasia testicular, os mais freqüentes, em torno de 95%, são os gerados no epitélio germinativo (SINGH et al., 1998).

As neoplasias de linhagem germinativa compõem um grupo um tanto complexo de tumores, daí por que sua classificação tem sofrido alterações, na tentativa de se estabelecerem os mecanismos pelos quais se desenvolve cada um de seus diferentes tipos morfológicos. Dessa forma, a histogênese dos tumores testiculares tem sido amplamente estudada e várias descobertas quanto ao desenvolvimento de neoplasias germinativas foram feitas nos últimos anos.

Não mais tem lugar na histogênese das neoplasias germinativas testiculares a clássica teoria de que a célula germinativa daria origem ao seminoma ou ao carcinoma embrionário e de que deste teriam origem o tumor do seio endodérmico, o teratoma e o coriocarcinoma. A partir de numerosos estudos (CZAJA e ULBRIGHT, 1992; SKAKKEBAEK e PERA, 1993; ULBRIGHT e ROTH, 1994; LOOIJENGA e OOSTERHUIS, 1999), observou-se a associação freqüente entre neoplasia testicular invasora de linhagem germinativa e neoplasia intratubular. Esse achado e investigações da ultra-estrutura e da ploidia indicavam que todas as neoplasias germinativas tinham origem em um mesmo tipo de célula.

A classificação de neoplasias testiculares mais utilizada é a da Organização Mundial de Saúde (OMS). Reunindo pesquisas de diversos colaboradores, incluindo FRIEDMAN, MOORE, DIXON, MELICOW, MOSTOFI e PRICE (ULBRIGHT e ROTH, 1994), que tinham como objetivo determinar a origem de tais neoplasias, chegou-se à classificação da OMS específica para tumores com origem em células germinativas (quadro 1). O mecanismo histogenético desenvolvido sugere que todas as neoplasias germinativas tenham origem em uma célula germinativa transformada, determinando uma neoplasia intratubular de células germinativas não classificada

(SKAKKEBAEK et al., 1987). Excetuam-se aparentemente desse esquema somente o seminoma espermatocítico e o teratoma e tumor de seio endodérmicos pediátricos. A neoplasia intratubular de células germinativas pode permanecer *in situ* na forma de seminoma ou de outro tumor, invadir o estroma como seminoma, evoluindo ou não para outra neoplasia, ou ainda invadir o estroma e rapidamente transformar-se em outro tipo histológico neoplásico (CZAJA e ULBRIGHT, 1992).

A classificação britânica de neoplasias germinativas (Painel Britânico de Tumores Testiculares) criada por Collins e Pugh (ULBRIGHT e ROTH, 1994), somente reconhece dois grandes grupos de tumores, o seminoma e o teratoma, este subdividido em quatro categorias. Essa classificação baseia-se na teoria de Willis, segundo a qual as neoplasias seminomatosas teriam origem em células germinativas e as demais em células embrionárias deslocadas. Tais conceitos são atualmente reconhecidos como errôneos e portanto tal classificação tem utilização quase que restrita aos países britânicos, onde encontra alguma aplicabilidade clínica.

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS DE LINHAGEM GERMINATIVA – MODIFICADA OMS

I Lesão precursora.
A. Neoplasia intratubular de germinativa - não classificada.
II Tumores de tipo histológico único.
B. Seminoma. Variante com células do sincício-trofoblasto.
C. Seminoma espermatocítico. Variante com componente sarcomatoso.
D. Carcinoma embrionário.
E. Tumor do seio endodérmico.
F. Coriocarcinoma.
G. Teratoma. Teratoma maduro. Teratoma imaturo. Teratoma com componente maligno. Variantes monodérmicas: Carcinóide (puro ou com teratoma). Tumor neuroectodérmico primitivo.
III Tumores com mais de um tipo histológico
A. Tumores mistos de linhagem germinativa (especificar elementos).
B. Poliembrioma e embrioma difuso.

3.4 ETIOLOGIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES

A expressão “neoplasia testicular” refere-se, quase que exclusivamente, a neoplasias malignas, dada a baixa incidência de lesões benignas nesse órgão. Sobre as neoplasias malignas, também raras, não se encontraram, até hoje, fatores etiológicos totalmente definidos. Conhecem-se, sim, numerosas condições ditas predisponentes, que parecem ter grande influência no desenvolvimento desses neoplasmas; da mesma forma, há fatores ocupacionais e sociais cuja relação com as neoplasias testiculares é ainda pouco compreendida (PEARCE et al., 1987).

Fatores genéticos

Estudos recentes têm encontrado alterações no cromossomo 12 tanto de indivíduos com neoplasia testicular invasora como também dos que têm neoplasia ainda confinada aos túbulos seminíferos (WHEELER e RUDY, 1997). Outro aspecto importante quanto a fatores genéticos é a incidência elevada de tumor testicular em irmãos gêmeos univitelinos e entre vários membros de uma mesma família. Observa-se ainda maior incidência de neoplasia germinativa em indivíduos com síndrome de Klinefelter, síndrome de Down e síndrome de Marfan (DEXEUS et al., 1988).

Criptorquidismo

A relação entre criptorquidismo e desenvolvimento de neoplasia testicular já está bem estabelecida. Os pacientes com essa anomalia têm, sabidamente, probabilidade bastante aumentada de desenvolver tumor testicular — estimada em 35% (LEVIN, 1994) —, havendo ampla variação desse valor em diversos trabalhos (FRAM et al., 1982; ABRATT et al., 1992).

A localização anatômica do testículo criptorquídico parece ter relação bastante estreita com o desenvolvimento de neoplasia. Os testículos retidos no abdômen têm potencial neoplásico maior do que os localizados no canal inguinal (WHEELER e RUDY, 1997). Da mesma forma, o tempo em que o testículo permanece em localização anômala parece relacionar-se diretamente com a

possibilidade de transformação neoplásica, pois a orquiopexia após os 6 anos de idade não parece reduzir significativamente o desenvolvimento de neoplasia (GEHRING et al., 1974).

Diversos são os fatores relacionados ao criptorquidismo como possíveis estimuladores da transformação neoplásica: presença de células germinativas anormais, suprimento sangüíneo deficiente, alterações endócrinas, disgenesia gonadal e aumento da temperatura testicular. Há ainda um fato bastante importante a ser considerado que é a incidência aumentada de neoplasia no testículo contralateral ao criptorquídico. Tal achado parece demonstrar a existência de alterações disgenéticas gonadais nos pacientes com criptorquidismo (GEHRING et al., 1974).

Infecção

Os vírus, por seu potencial de lesão e alteração do DNA celular, são responsáveis diretos pelo desenvolvimento de algumas neoplasias conhecidas. No testículo, uma infecção de etiologia viral como a que acompanha a caxumba, ou por outro vírus que possa lesar as células germinativas, pode eventualmente atuar como carcinógeno. Recentemente indivíduos infectados pelo vírus HIV têm apresentando maior incidência de neoplasia testicular (HENTRICH et al., 1996).

Trauma

Trauma testicular, em relação ao desenvolvimento de neoplasia, pode representar desde fator relevante até simples coincidência. Uma parcela dos pacientes com tumor testicular tem história de trauma anterior, parcela essa que em alguns estudos chega a 11% (MOSTOFI, 1973). O trauma é considerado fator importante nos tumores testiculares induzidos por zinco ou cobre e nos tumores experimentais induzidos em transplante de crista genital. A associação entre trauma e neoplasia testicular, no entanto, não está estabelecida em seres humanos.

Fatores hormonais e reprodutivos

Influências hormonais são importantes na gênese e na proliferação de alguns tumores, principalmente na próstata e no trato genital feminino. O mesmo não ocorre quando se trata do testículo, embora existam evidências de que o fator hormonal possa ser importante: o pico de incidência das neoplasias testiculares germinativas situa-se na faixa etária em que a produção de hormônios masculinos é mais ativa; observa-se também que culturas celulares de alguns tumores testiculares aumentam sua proliferação ao se adicionar androsterona.

O criptorquidismo, um dos principais fatores relacionados com o desenvolvimento de neoplasia testicular, acredita-se estar associado com disfunções hormonais durante o período gestacional (MOSTOFI, 1973). Existem especulações a respeito de que secreção estrogênica aumentada no início do período gestacional possa atuar como possível fator etiológico de neoplasia testicular germinativa (MOSS et al., 1986).

Apesar de todos os estudos e observações que têm sido feitos na tentativa de estabelecer o fator hormonal como determinante do desenvolvimento de neoplasias testiculares, não se conseguiu em momento algum confirmação de tal associação.

Observa-se atualmente uma possível relação das neoplasias germinativas testiculares com infertilidade e alterações da espermatogênese: homens com neoplasia germinativa testicular têm número de filhos reduzido quando comparados à população normal e o testículo contralateral desses pacientes apresentam diminuição da espermatogênese (LEFEBVRE, et al., 1993; RAJPERT-DE MEYTS et al., 1998; SKAKKEBAEK et al., 1998; MOLLER et al., 1999, PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1999).

3.5 NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS

Entende-se por neoplasia intratubular de células germinativas a presença de células atípicas no interior de túbulos seminíferos. A primeira descrição dessas células data de 1925 por BELL e desde então outras foram feitas por diversos autores como ALBERTIINI, AZZOPARDI, BANZER, PEYRON e SCHNYDER (MARK e HEDINGER, 1965). Posteriormente, na década de 70, com vários estudos de SKAKKEBÆK, (1972, 1973, 1975, 1978), definiu-se que tais células atípicas, diagnosticadas segundo determinados critérios, constituem um tipo de "carcinoma *in situ*" testicular. Esse termo não é correto, visto que "carcinoma *in situ*" representa um espectro de alterações que ocorrem em células epiteliais de revestimento. O termo hoje usado "neoplasia intratubular de células germinativas" (NITCG) refere-se não somente à lesão pré-neoplásica correspondente ao carcinoma *in situ*, mas também à neoplasia já estabelecida e bem diferenciada confinada ao interior dos túbulos seminíferos. Seu conhecimento e diagnóstico precoce tem crescido nos últimos anos, já existindo tentativas de identificar a neoplasia intratubular por ultra-sonografia tendo como base o aumento da densidade do parênquima e a presença de focos de calcificação ou de microlitíase nos túbulos seminíferos desses pacientes (LENZ et al., 1996; PETERSEN et al., 1997; RAJPERT-DE MEYTS et al., 1999).

A NITCG é encontrada mais freqüentemente em indivíduos com criptorquidismo (tanto no testículo afetado quanto no normal), no testículo contralateral de pacientes com neoplasia testicular de origem germinativa, em alguns casos de infertilidade e na disgenesia gonadal. Observa-se alta freqüência de neoplasia intratubular no parênquima testicular adjacente à neoplasia germinativa (MARK e HEDINGER, 1965). Estima-se que 50% dos pacientes com NITCG evoluam para carcinoma invasor.

A NITCG é a lesão precursora de quase todas as neoplasias germinativas testiculares. Somente não é encontrada nos casos de seminoma espermatocítico e de tumores pediátricos, como o tumor do saco vitelino e o teratoma da infância, em que sua existência ainda não foi comprovada; alguns desses tumores têm em comum a

ausência de alteração cromossômica (ENSINGER e MIKUZ, 1998; LOOIJENGA et al., 1999).

À microscopia óptica, a neoplasia intratubular de células germinativas é caracterizada pela presença de células germinativas atípicas alinhadas junto à membrana basal do túbulo seminífero; as células são volumosas, com citoplasma amplo e claro, providas de núcleo vesiculoso e hipercromático que pode apresentar nucléolo e mitose. O citoplasma claro dessas células deve-se a artefato de retração ocasionado pela fixação em formalina. As células de Sertoli são em geral rechaçadas para o lúmen e, à medida que a lesão evolui, tendem a desaparecer (JACOBSEN, 1981). Raramente podem ser encontradas outras células germinativas normais nos segmentos tubulares alterados. Nos testículos pré-puberais, apesar de bastante rara, a NITCG apresenta células atípicas que se dispõem de modo mais desorganizado, em vários níveis dentro do túbulo seminífero.

Histoquimicamente, as células atípicas intratubulares coram-se positivamente pelo ácido periódico de Schiff (PAS), com e sem digestão (JACOBSEN et al., 1981). Algumas espermatogônias e espermatócitos podem apresentar reatividade discreta a essa técnica. Estudos imuno-histoquímicos revelam que aproximadamente 97% das células germinativas atípicas e raros espermatócitos apresentam positividade à reação com fosfatase alcalina placentária (HUSTIN et al., 1987). Qualquer dos dois métodos, portanto, aliado às características histológicas visualizadas pelo método habitual de hematoxilina e eosina leva a um acerto diagnóstico de praticamente 100% nas neoplasias intratubulares germinativas.

3.6 NEOPLASIAS GERMINATIVAS TESTICULARES

Seminoma puro ou clássico

O seminoma compreende de 35 a 71% das neoplasias germinativas testiculares (MOSTOFI, 1973); afeta principalmente indivíduos na faixa dos 40-45 anos e não ocorre em crianças, embora já tenha sido descrito em menino de dez anos de idade (MOSTOFI, 1973).

É composto de células grandes, uniformes, com citoplasma bastante claro e bem definido, lembrando células germinativas primordiais. O núcleo é arredondado, central e basofílico, com um ou dois nucléolos grandes. O crescimento pode ser difuso ou de aspecto multinodular, sendo freqüente a ocorrência de túbulos não-neoplásicos em meio ou perifericamente à neoplasia. O estroma fibrovascular que acompanha a neoplasia apresenta quantidades variáveis de linfócitos e, ocasionalmente, uma reação granulomatosa. Menos freqüentemente são encontradas células trofoblásticas, o que torna necessário diagnóstico diferencial com coriocarcinoma. As células do seminoma carregam em seu citoplasma grande quantidade de glicogênio que confere positividade à reação pelo PAS.

Seminoma anaplásico

O seminoma anaplásico traz consigo as mesmas características gerais do seminoma clássico, diferindo deste apenas pela anaplasia, pelo aumento da atividade mitótica e pela maior agressividade, com maior freqüência de metástases.

Seminoma espermatocítico

O seminoma espermatocítico é pouco freqüente, compreendendo um a 2% das neoplasias testiculares germinativas. A importância de ser diferenciado do seminoma clássico relaciona-se com o fato de que o tratamento dessas duas entidades é diferente. Ocorre geralmente em indivíduos mais velhos, 50 a 60 anos, e raramente em pacientes com idade inferior a 30 anos. Não há descrição desse padrão tumoral em outro local que não no testículo, e também não existe correlação com criptorquidismo ou mesmo com neoplasia intratubular de células germinativas (WHEELER e RUDY, 1997).

As células do seminoma espermatocítico são geralmente dispostas de forma difusa, somente interrompidas por áreas de edema. Nos casos em que o edema é extenso há falsa impressão de crescimento trabecular ou pseudoglandular. O estroma é tipicamente inaparente. Não se encontra reação granulomatosa, e o infiltrado linfóide é escasso ou mesmo ausente. O aspecto mais distinto do seminoma espermatocítico é o

pleomorfismo celular; os núcleos são arredondados porém seu volume varia amplamente, sendo encontrados três tipos celulares: o primeiro mede 6 a 8 μm de diâmetro; o segundo, de tamanho intermediário, 15 a 20 μm , e o terceiro e maior, 50 a 100 μm de diâmetro, podendo essas células ser multinucleadas e apresentar nucléolo proeminente. Tanto as células intermediárias como as maiores apresentam padrão cromatínico característico, com arranjo espiralado, que se assemelha à cromatina observada na fase meiótica dos espermátócitos normais. A taxa mitótica desses tumores é, em geral, elevada.

Carcinoma embrionário

O carcinoma embrionário isolado em testículo é relativamente raro, compreendendo 2% das neoplasias germinativas. Por outro lado, a grande maioria das neoplasias germinativas testiculares não-seminomatosas apresentam algum componente de carcinoma embrionário. A freqüência com que essa neoplasia ocorre isoladamente já foi bem maior, possivelmente refletindo o diagnóstico mais acurado atual de neoplasia mista. O carcinoma embrionário acomete em geral indivíduos mais jovens do que aqueles com seminoma clássico; tende a ser mais doloroso e, com grande freqüência, já invade estruturas extratesticulares ao diagnóstico.

Microscopicamente a neoplasia se apresenta na forma de nódulos ou de distribuição difusa, com áreas extensas de necrose coagulativa. Uma variedade de padrões de crescimento pode ocorrer no mesmo tumor, como formação de papilas, estruturas glandulares, formações trabeculares ou padrões sólidos. As células do carcinoma embrionário são geralmente poligonais com citoplasma anofílico ou fracamente basofílico, com limites citoplasmáticos pouco definidos. Os núcleos são grandes, irregulares, com cromatina grosseira e um ou mais nucléolos volumosos e centrais. A taxa mitótica é geralmente bastante alta.

No estroma adjacente a essas neoplasias é freqüente o achado de carcinoma embrionário intratubular. Nessas áreas costuma ocorrer necrose extensa e até mesmo calcificação; tais focos de calcificação (corpos de hematoxilina), nos casos em que houve

regressão da neoplasia, são fortemente sugestivos da existência anterior de carcinoma embrionário ou de outra neoplasia germinativa no testículo (AZZOPARDI, 1960).

Teratoma

Os teratomas testiculares ocorrem tanto em crianças como em indivíduos adultos. No período pré-puberal tais neoplasias são em geral puras, compreendendo pequena fração das neoplasias testiculares germinativas e ocorrendo muitas vezes em associação com outras doenças de origem congênita. Nos indivíduos adultos a ocorrência dos teratomas é bastante freqüente, geralmente na forma de componente de tumores mistos, dada a raridade de tumores puros no período pós-puberal. Atinge indivíduos com características semelhantes às daqueles acometidos por carcinoma embrionário: homens jovens, com aumento de volume testicular e, em muitos casos, metástases como primeira manifestação.

Os teratomas ditos maduros são compostos de diferentes tecidos histologicamente semelhantes aos tecidos maduros, adultos. O simples fato de se dizer que o tumor é maduro não significa que seja benigno; nesses tumores o que se busca é a presença de atipias celulares cujo grau reflita o potencial maligno do teratoma. Entretanto, muito raramente, em alguns desses tumores maduros pode aparecer um componente maligno, francamente invasor, de padrão não-germinativo, como um adenocarcinoma (WHEELER e RUDY, 1997).

Os teratomas imaturos são os que apresentam tecidos de padrão fetal ou embrionário, geralmente de permeio a tecidos maduros. Esses tecidos imaturos são representados freqüentemente por neuroepitélio, por componentes blastematosos, por músculo esquelético imaturo onde são vistos rbdomioblastos misturados a células maduras e por tecidos estromais imaturos provavelmente precursores de músculo liso.

Tumor do saco vitelino

O tumor do saco vitelino ou do seio endodérmico, mais conhecido como *yolk sac tumor*, acomete predominantemente meninos com idade média de 18 meses, e é o tumor testicular mais comum na infância (CARVALHO et al., 1998). Diferentemente

do tumor que ocorre em adultos, o tumor do saco vitelino na criança não tem correlação com neoplasia intratubular germinativa ou com criptorquidismo, assemelhando-se ao teratoma infantil, porém diferindo deste por não dar metástases. No adulto ocorre geralmente como parte de neoplasia mista, principalmente as não-seminomatosas.

Microscopicamente são observados múltiplos padrões de crescimento, o que, por vezes, dificulta o diagnóstico; vários, no entanto, ocorrem dentro de um mesmo tumor. Foram reconhecidos até hoje onze padrões distintos de crescimento: (1) seio endodérmico (ou perivascular), (2) reticular (microcístico, favo-de-mel), (3) papilar, (4) sólido, (5) alvéolo-glandular, (6) mixomatoso, (7) sarcomatóide, (8) macrocístico, (9) polivesicular, (10) hepatóide e (11) parietal (ULBRIGHT e ROTH, 1994).

A ocorrência de glóbulos hialinos é comum nos tumores do saco vitelino e pode ajudar no diagnóstico. Consiste em glóbulos de tamanhos variados, entre 1 μm e 50 μm de diâmetro, redondos, eosinofílicos, que se coram positivamente pelo método do PAS. Essas estruturas podem ser encontradas em outros tumores, porém são incomuns no seminoma e no carcinoma embrionário (CHEVILLE, 1999).

Coriocarcinoma

Coriocarcinomas testiculares puros são extremamente raros, sendo mais comum sua ocorrência em associação com outras neoplasias germinativas testiculares. As neoplasias puras ocorrem na segunda ou na terceira década de vida e manifestam-se geralmente por metástases. Não existe relato desse tumor antes da puberdade. Fato marcante é a franca produção de gonadotrofina coriônica humana, com suas conseqüências clínicas (ULBRIGHT e ROTH, 1994).

Microscopicamente, é composto de células trofoblásticas malignas. Em sua forma clássica, existem células mononucleadas (citotrofoblásticas) e células multinucleadas (sinciciotrofoblásticas). O citoplasma dessas células em geral é claro, com pleomorfismo nuclear discreto ou moderado. Em alguns casos o componente multinucleado pode ser escasso, o que torna difícil o diagnóstico diferencial com carcinoma embrionário; quando isso ocorre, a presença de hemorragia extensa e de

necrose favorece o diagnóstico de coriocarcinoma; existem casos ainda em que a hemorragia e a necrose são tão extensas que as células neoplásicas são observadas somente na periferia do tumor. A taxa mitótica é geralmente alta entre as células mononucleares, porém não ocorre nas células do sinciciotrofoblasto.

4 MATERIAL E MÉTODO

O material deste estudo compreende amostras do parênquima testicular remanescente de 69 orquiectomias por neoplasia testicular. Os casos para estudo foram obtidos dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e do Laboratório Citopar S/C Ltda., ambos situados em Curitiba, Paraná.

Foram selecionados 69 casos consecutivos de neoplasia testicular germinativa —16 do Laboratório Citopar e 59 do laboratório do Hospital de Clínicas —, estes dos anos de 1988 a 1998 e aqueles dos anos de 1996 a 1998.

Os dados de cada caso — idade do paciente, lado do testículo acometido, diagnóstico anatomopatológico, quantificação de células de Leydig, avaliação do trofismo do epitélio germinativo, presença de neoplasia intratubular e achados ocasionais — foram registrados em protocolo específico e tabulados no *software* Excel (Microsoft Office®).

4.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Os blocos dos casos selecionados foram submetidos a cortes de 5 μ m de espessura em micrótomo de parafina (marca American Optical). Devidamente identificados, os cortes foram submetidos a coloração por hematoxilina e eosina (HE), pelo método de tricrômico de Masson (TM) para realce das células de Leydig e pelo ácido periódico de Schiff (PAS) que cora o citoplasma de células germinativas atípicas nos túbulos seminíferos, conforme técnicas descritas por BANCROFT e COOK, 1994 (Anexo). A microscopia foi realizada com microscópio marca Nikon, modelo Eclipse.

Os casos foram primeiramente avaliados quanto ao diagnóstico e à classificação dos tumores segundo a OMS (quadro 1, p. 16). O parênquima testicular remanescente foi então avaliado quanto aos seguintes aspectos: quantidade de células

de Leydig, preservação da espermatogênese e presença ou não de neoplasia intratubular ou de células atípicas. Ainda foram observados vasculite, processo inflamatório, calcificação e presença de túbulos imaturos (adenoma de Pick).

A avaliação do interstício tubular quanto à população de células de Leydig foi realizada conforme as categorias abaixo (MARK e HEDINGER, 1965):

Grau	Células de Leydig	Leydig / Túbulo
0	Ausentes	0
1	Diminuídas	1-5
2	Normais	5-10
3	Hiperplasia discreta	10-20
4	Hiperplasia moderada com formação de cordões entre os túbulos	20-40
5	Hiperplasia acentuada com compressão ou obliteração tubular difusa	40-120

Por ser método subjetivo, correlacionou-se cada categoria com o método de contagem de células de Leydig por túbulo seminífero, de SARGENT e McDONALD (MARK e HEDINGER, 1965), eliminando dessa forma possíveis erros de avaliação por artefatos técnicos e de compressão tecidual, atribuindo-se um grau a cada amostra avaliada.

A avaliação da espermatogênese (trofismo tubular) foi graduada da seguinte forma: 0=túbulos totalmente hialinizados; 1=somente células de Sertoli; 2=células de Sertoli e espermatogônias; 3=espermatogônias e espermatócitos; 4=espermátides; 5=espermatogênese completa com espermatozóides (MARK e HEDINGER, 1965). Excetuando os casos de parada de maturação celular, os túbulos seminíferos não apresentam espermatogênese homogênea. Dessa forma foram avaliados dez campos de grande aumento (c.g.a) em cada caso e calculada a média da pontuação.

O diagnóstico de neoplasia intratubular germinativa pelos métodos histológicos rotineiros seguiu critérios estabelecidos por diversos autores (MARK e HEDINGER, 1965; SKAKKEBÆK, 1972, 1975, 1978; SKAKKEBÆK et al., 1973; JACOBSEN et al., 1981; SKAKKEBÆK et al., 1982; SKAKKEBÆK et al., 1987;

SKAKKEBÆK e PERA, 1993). Dessa forma a identificação da neoplasia intratubular germinativa foi feita com base nos seguintes achados:

- a) células dispostas em linha e de modo contínuo junto à membrana basal tubular;
- b) células de Sertoli rechaçadas em direção ao lúmen, que pode encontrar-se obliterado por células de Sertoli e/ou por células atípicas.
- c) núcleo regular, condensado e hipercromático;
- d) citoplasma claro e relativamente abundante;
- e) membranas celulares evidentes;
- f) ausência de desenvolvimento normal da espermatogênese nos túbulos afetados;
- g) positividade das células atípicas pelo PAS.

4.2 METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Recorreu-se à análise descritiva dos dados através de tabelas e gráficos.

Para a comprovação dos objetivos levantados (obtidos pelo *software* Primer of Biostatistics), foi utilizado o teste não-paramétrico “Qui-Quadrado”, para amostras independentes.

O nível de significância (ou probabilidade de significância) mínimo adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos foram organizados em tabelas e então submetidos à avaliação.

A faixa etária variou de 1 a 65 anos, com idade média de 29 anos. Da casuística observou-se que a maioria dos indivíduos (36,2%) ($p < 0,001$) tinham entre 20 e 29 anos, seguidos pelos pacientes com idade entre 30 e 39 anos, com 27,5%. Todos os indivíduos acometidos por neoplasia na segunda década de vida tinham mais de 16 anos, existindo apenas três casos com pacientes até 15 anos (4,3%). Da mesma forma, pacientes com idade entre 50 e 69 anos apresentavam menor acometimento por neoplasia germinativa dentro do grupo estudado (3,0%). Nenhum caso em paciente acima dos 66 anos foi observado (tabela 1, gráfico 1).

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS NEOPLASIAS GERMINATIVAS TESTICULARES POR FAIXA ETÁRIA

Faixa Etária (anos)	Número	Percentual
0 a 9	3	4,3
10 a 19	10	14,5
20 a 29	25	36,2
30 a 39	19	27,5
40 a 49	10	14,5
50 a 59	1	1,5
60 a 69	1	1,5
TOTAL	69	100,0

$\chi^2_{\text{calc}} = 52,21; p < 0,001$

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS NEOPLASIAS TESTICULARES GERMINATIVAS POR FAIXA ETÁRIA (Tabela 1)



Quanto à incidência por lateralidade, não houve diferença de acometimento entre o lado direito (52,2%) e o esquerdo (47,8%).

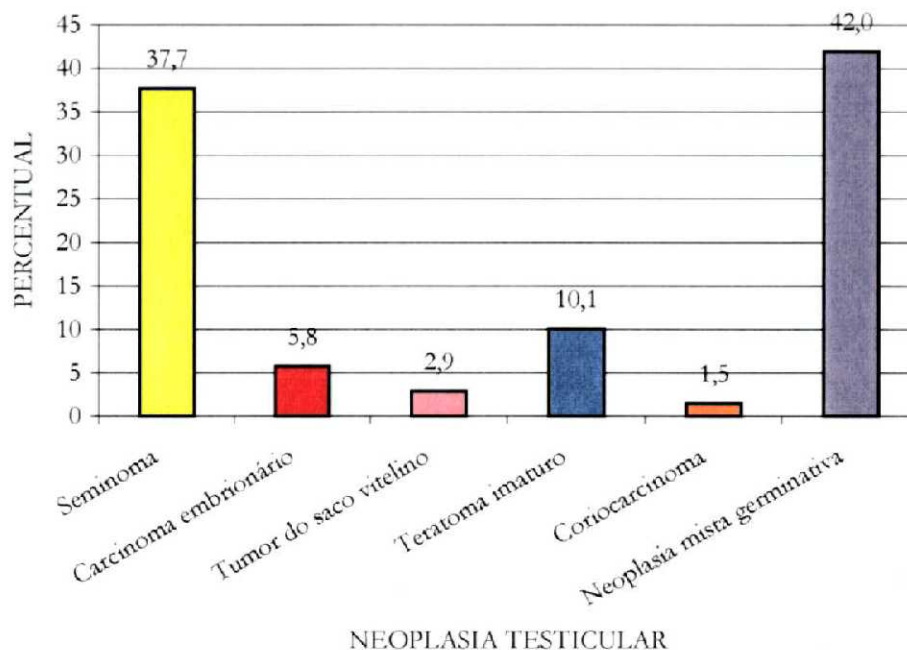
O tumor mais freqüente foi a neoplasia mista germinativa, correspondendo a 42,0% ($p < 0,001$), seguida pelo seminoma (clássico e anaplásico), com 37,7%, e pelo teratoma imaturo, com 10,1%. Menos freqüentes foram o carcinoma embrionário (5,8%), o tumor do saco vitelino infantil (2,9%) e o coriocarcinoma (1,5%). A distribuição dos casos conforme tipo histológico encontra-se na tabela 2 e no gráfico 2.

TABELA 2 - FREQUÊNCIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES GERMINATIVAS

Diagnóstico (OMS-modificado)	Número	Percentual
Seminoma	26	37,7
Carcinoma embrionário	4	5,8
Tumor do saco vitelino (infantil)	2	2,9
Teratoma imaturo	7	10,1
Coriocarcinoma	1	1,5
Neoplasia mista germinativa	29	42,0
TOTAL	69	100,0

$\chi^2_{\text{calc}} = 81,70; p < 0,001$

GRÁFICO 2 - FREQUÊNCIA DAS NEOPLASIAS TESTICULARES GERMINATIVAS (Tabela 2).



A contagem das células intersticiais de Leydig (tabela 3 e gráfico 3), conforme Sargent e McDonald, mostrou quantidade reduzida ou ausência delas em 69,5% dos casos ($p < 0,001$) (figura 1). Em somente 23,2% seu número estava dentro da normalidade (figura 2). Hiperplasia das células de Leydig foi observada em apenas 7,2% (figuras 3 e 4).

TABELA 3 - FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES QUANTITATIVAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG

Células de Leydig (Sargent e McDonald)	Número	Percentual
Ausentes	27	39,1
Diminuídas	21	30,4
Normais	16	23,2
Aumentadas	5	7,2
TOTAL	69	100,0

Ausentes+Diminuídas x Normais $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 16,00$; $p < 0,001$; Aumentadas x Diminuídas $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 9,85$; $p = 0,0023$.

NOTA: Aumentadas: Hiperplasia acentuada = 4 casos;
hiperplasia moderada = 1 caso.

GRÁFICO 3 - ALTERAÇÃO QUANTITATIVA DAS CÉLULAS DE LEYDIG
(Tabela 3)

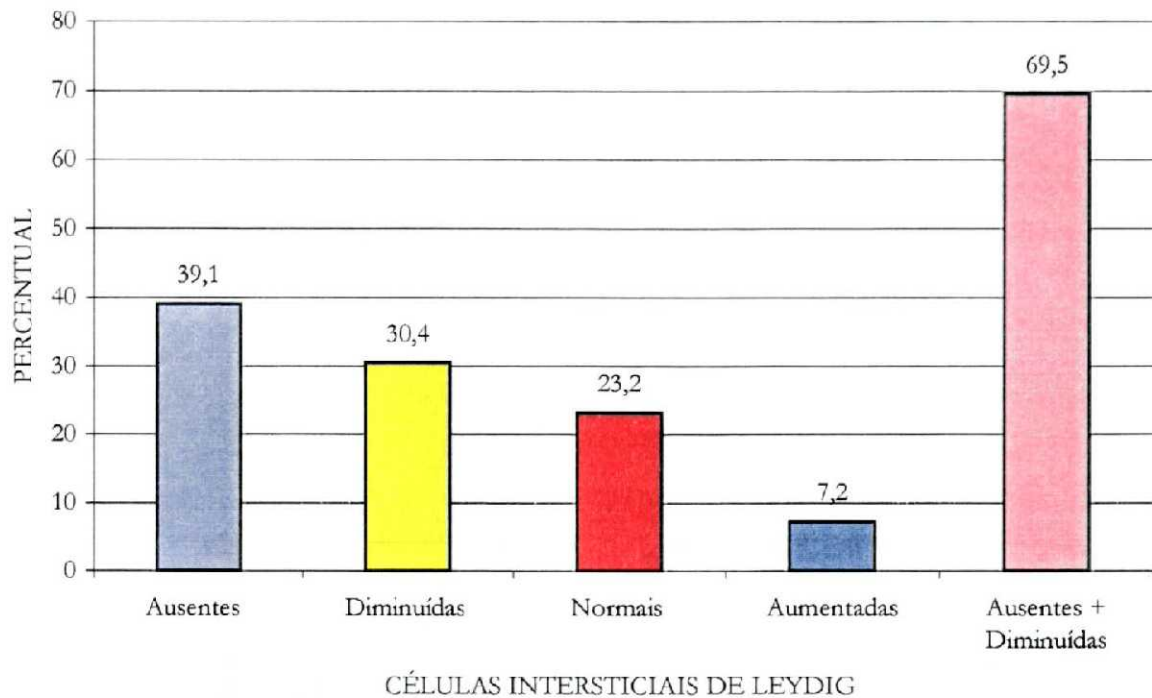


FIGURA 1 - DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS DE LEYDIG . Interstício intertubular frouxo com raras células de Leydig coradas em púrpura (setas)(TM, x 150)

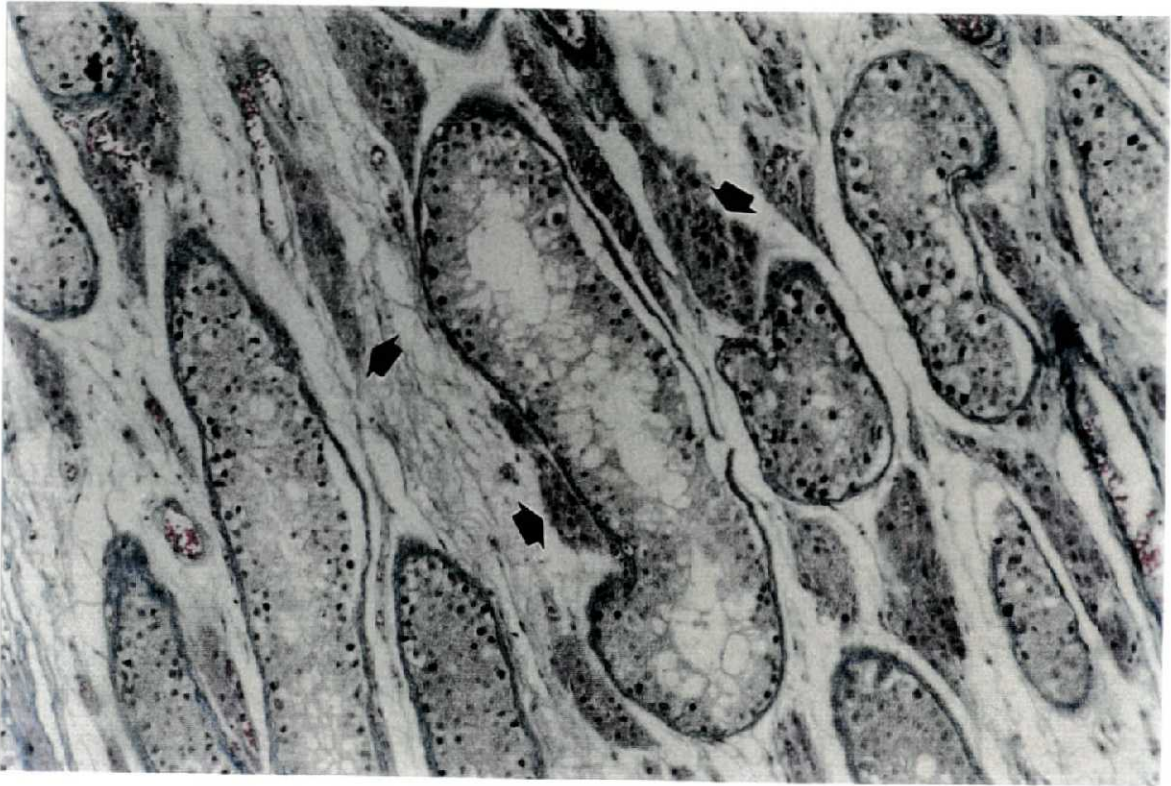


FIGURA 2 - POPULAÇÃO NORMAL DE CÉLULAS DE LEYDIG. Interstício com vários grupos de células de Leydig coradas em púrpura (setas) (TM, x 150).

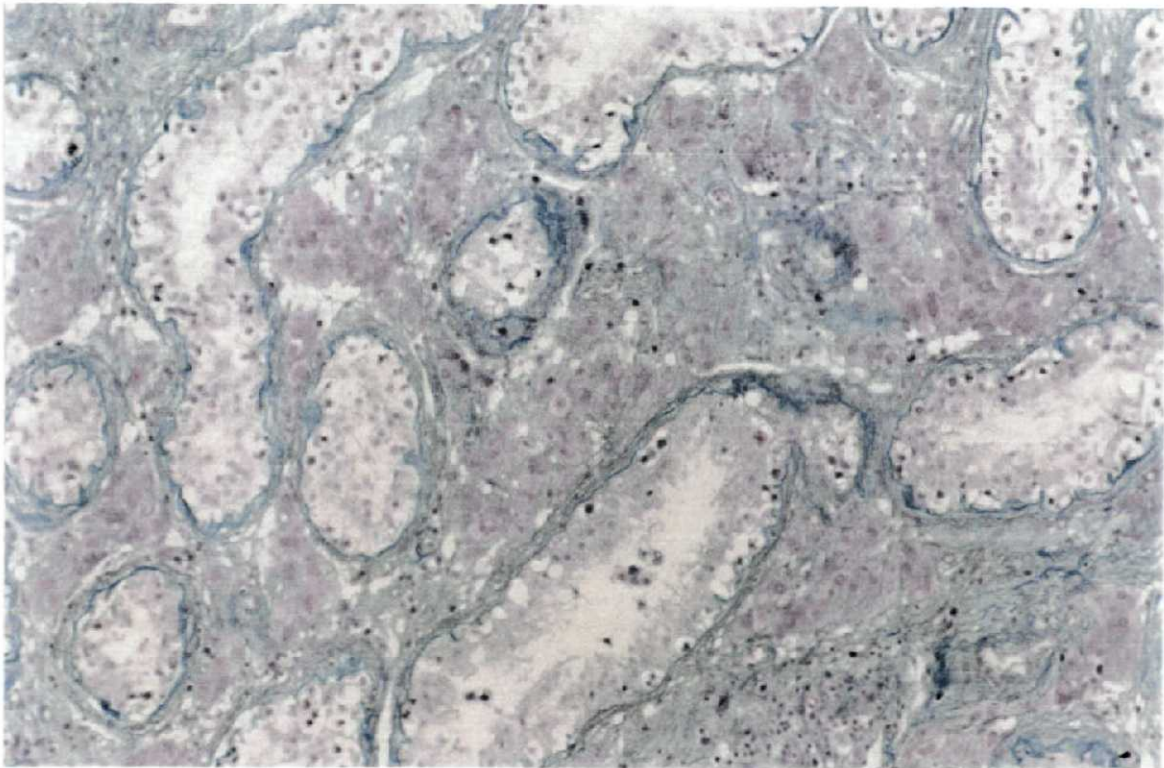


FIGURA 3 - HIPERPLASIA DISCRETA DAS CÉLULAS DE LEYDIG. Interstício intertubular com numerosas células de Leydig coradas em púrpura (TM, x 150)

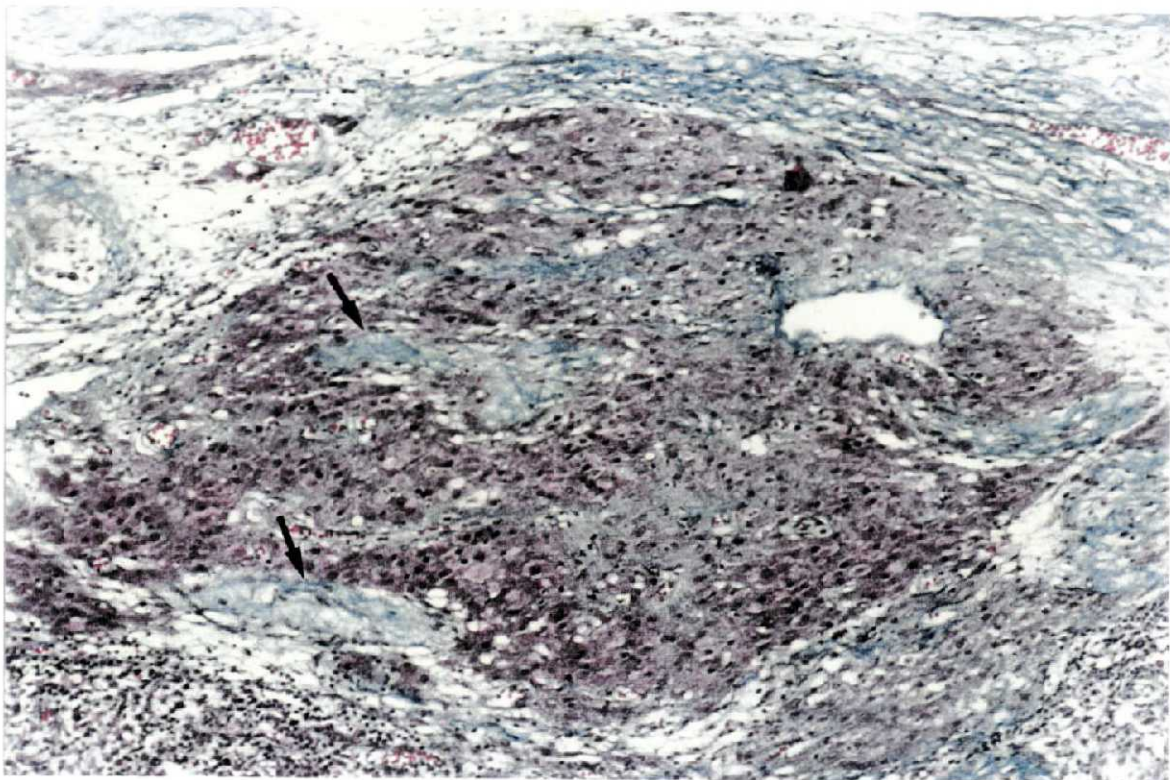


FIGURA 4 - HIPERPLASIA ACENTUADA DAS CÉLULAS DE LEYDIG. Acentuada hiperplasia de células de Leydig comprimindo túbulos seminíferos hialinizados (setas) (TM, x 150)

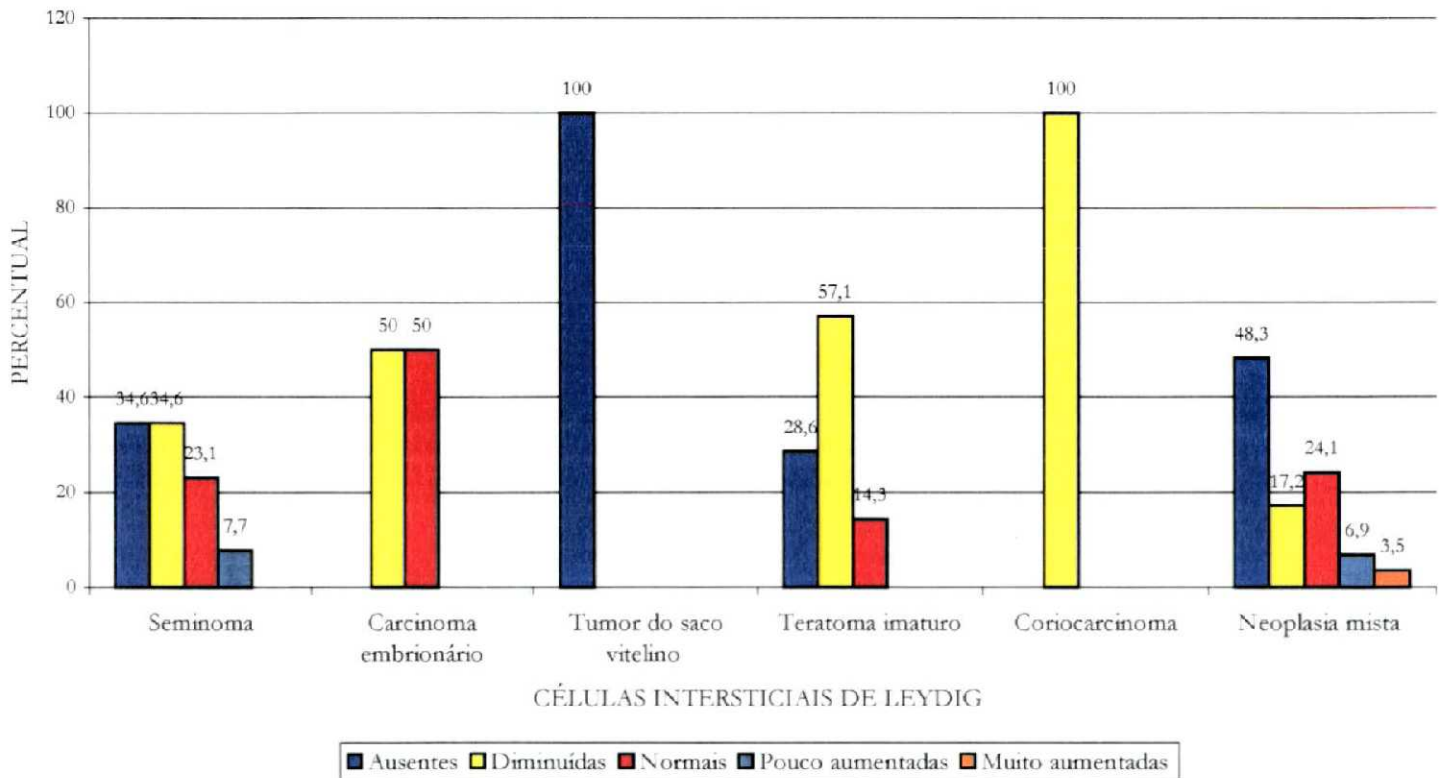
Quando se correlacionou alteração numérica das células de Leydig com o tipo histológico de neoplasia (tabela 4, gráfico 4), observou-se que no grupo dos seminomas havia ausência ou redução (34,6%) significativa ($p < 0,001$) em seu número; número normal em 23,1% e hiperplasia discreta em 7,7%. Entre as neoplasias mistas germinativas, o número de células estava significativamente ($p < 0,01$) alterado, com ausência completa em 48,3% e redução em 17,2%. Os teratomas imaturos puros apresentavam redução no número de células num total de 85,7%. Dos quatro casos de carcinoma embrionário puro testicular, dois apresentavam número normal de células intersticiais e dois número reduzido dessas células. Os casos de tumor do saco vitelino infantil, dada a faixa etária, não apresentavam células de Leydig. O caso único de coriocarcinoma apresentava diminuição das células intersticiais.

TABELA 4 - FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES NUMÉRICAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG DENTRO DE UM MESMO GRUPO TUMORAL

Diagnóstico (OMS-modificado)	0		1		2		3		4		Total
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	
Seminoma	9	34,6	9	34,6	6	23,1	2	7,7	-	-	26
Carcinoma embrionário	-	-	2	50,0	2	50,0	-	-	-	-	4
Tumor do saco vitelino infantil	2	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Teratoma imaturo	2	28,6	4	57,1	1	14,3	-	-	-	-	7
Coriocarcinoma	-	-	1	100,0	-	-	-	-	-	-	1
Neoplasia mista	14	48,3	5	17,2	7	24,1	2	6,9	1	3,5	29

Seminoma → $\chi^2_{\text{calc}} = 15,94$; $p < 0,001$; Neoplasia mista → $\chi^2_{\text{calc}} = 14,30$; $p < 0,001$

GRÁFICO 4 - FREQUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES NUMÉRICAS DAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE LEYDIG DENTRO DE UM MESMO GRUPO TUMORAL (Tabela 4)



A avaliação do trofismo do epitélio germinativo tubular (tabela 5, gráfico 5) demonstrou que um percentual significativo (43,5%) ($p < 0,0021$) dos casos não apresentava células germinativas, tendo túbulos com atrofia completa e hialinização, desprovidos de células (figura 5), ou apresentava somente células de Sertoli (figura 6). Igual proporção de casos (43,5%) apresentava espermatogônias e espermatócitos em número variável (figura 7); em somente 13,0% foram identificadas espermátides (figura 8). Quando observados os casos de redução da população germinativa com ausência total de espermátides, obteve-se um total de 87,0% ($p < 0,001$). No entanto a ausência total de elementos germinativos não foi significativa quando comparada aos casos com pelo menos um elemento celular da linhagem germinativa ($p = 0,3115$). O grupo dos seminomas apresentou maior redução no trofismo epitelial, e em 61,5% ($p = 0,004$) dos casos os túbulos continham apenas células de Sertoli ou estavam completamente hialinizados.

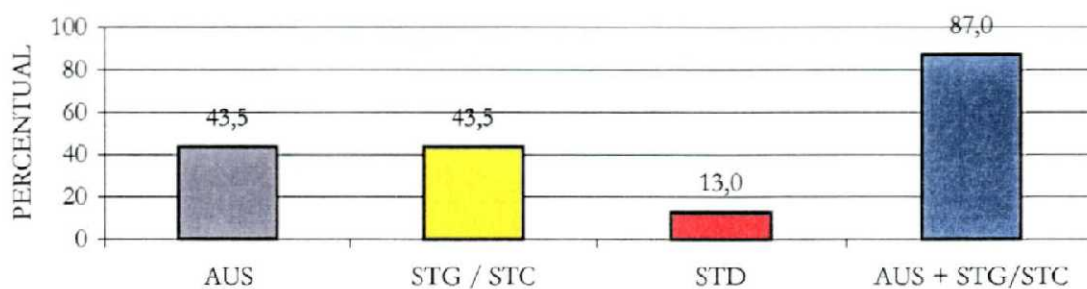
TABELA 5 – ESPERMATOGÊNESE NO PARÊNQUIMA TESTICULARER REMANESCENTE

Epitélio Germinativo NEOPLASIA	Ausente		STG / STC		STD		Total
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Seminoma	16	61,5	8	30,8	2	7,7	26
Carcinoma embrionário	-	-	3	75,0	1	25,0	4
Tumor do saco vitelino (infantil)	2	100,0	-	-	-	-	2
Teratoma imaturo	1	14,3	5	71,4	1	14,3	7
Coriocarcinoma	-	-	-	-	1	100,0	1
Neoplasia mista germinativa	11	37,9	14	48,3	4	13,8	29
TOTAL	30	43,5	30	43,5	9	13,0	69

Ausente+STG/STC x STD $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 37,70$; $p < 0,001$; Ausente x STG/STC+STD $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 1,17$; $p = 0,3115$; Ausente x STG/STC x STD $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 12,78$; $p = 0,0021$; Seminoma $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 11,34$; $p = 0,0040$; Neoplasia mista $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 5,43$; $p = 0,0703$.

NOTA: STG- espermatogônia; STC - espermatócito; STD - espermátide.

GRÁFICO 5 – ESPERMATOGÊNESE NO PARÊNQUIMA TESTICULAR
REMANESCENTE (Tabela 5)



GRAU DE MATURAÇÃO DO EPITÉLIO GERMINATIVO

AUS - Ausência de elementos celulares de origem germinativa

STG / STC - Maturação até espermatogônias / espermatócitos

STD - Maturação até espermátides

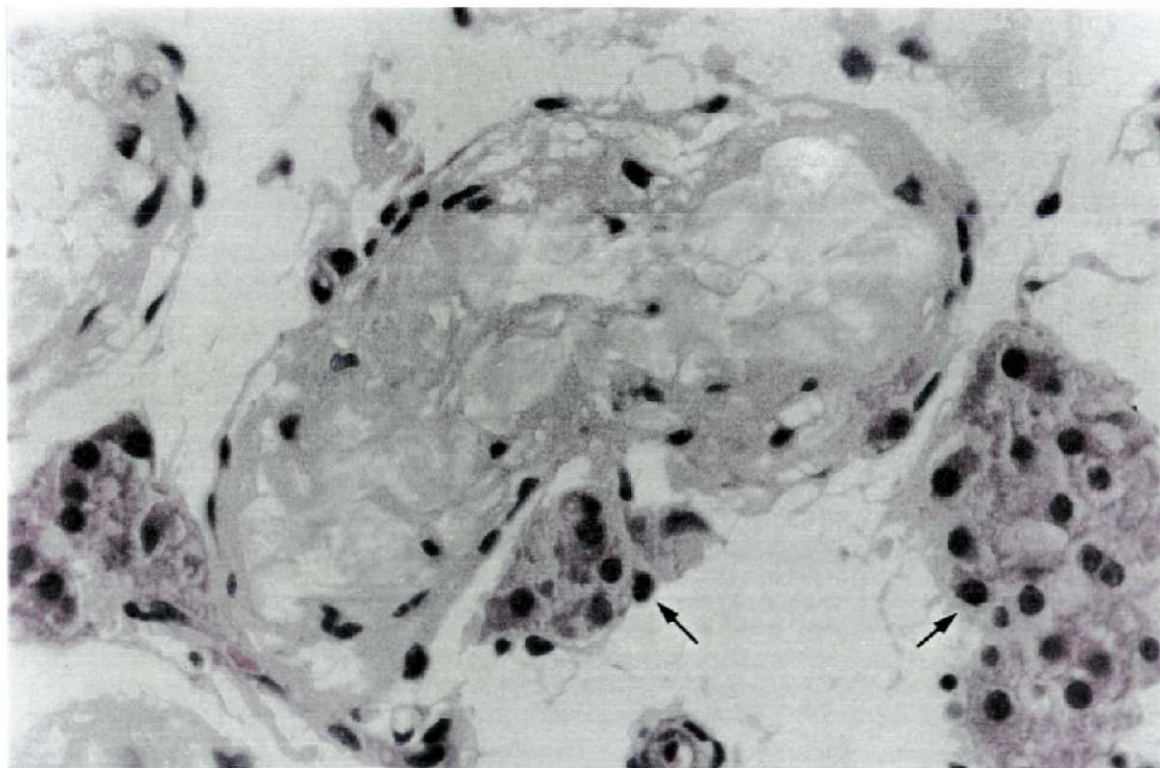


FIGURA 5 - TÚBULO SEMINÍFERO HIALINIZADO. Ausência de células de Sertoli e de células germinativas. No interstício adjacente há células de Leydig (setas) (HE, x 600)

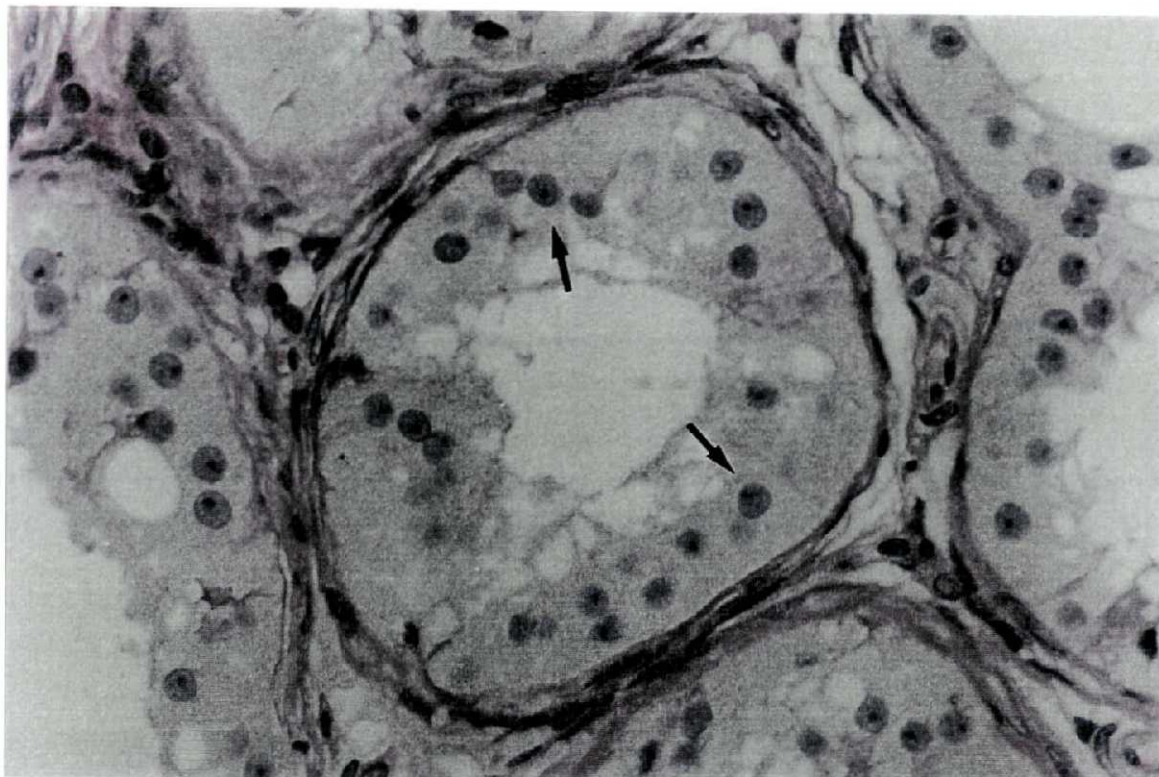


FIGURA 6 - TÚBULOS SEMINÍFEROS COM CÉLULAS DE SERTOLI (SÍNDROME DAS CÉLULAS DE SERTOLI ISOLADAS). Células de Sertoli (setas) com citoplasma amplo, fracamente eosinófilo; núcleos arredondados, com nucléolo evidente, sem atipias. Observa-se a ausência de células germinativas nos túbulos seminíferos (HE, x 600)



FIGURA 7 - TÚBULOS SEMINÍFEROS COM ESPERMATOGÔNIAS E ESPERMATÓCITOS. Em meio às células de Sertoli (S) há espermatogônias em posição basal (G) e espermatócitos em posição intermediária (C) (HE, x 600).

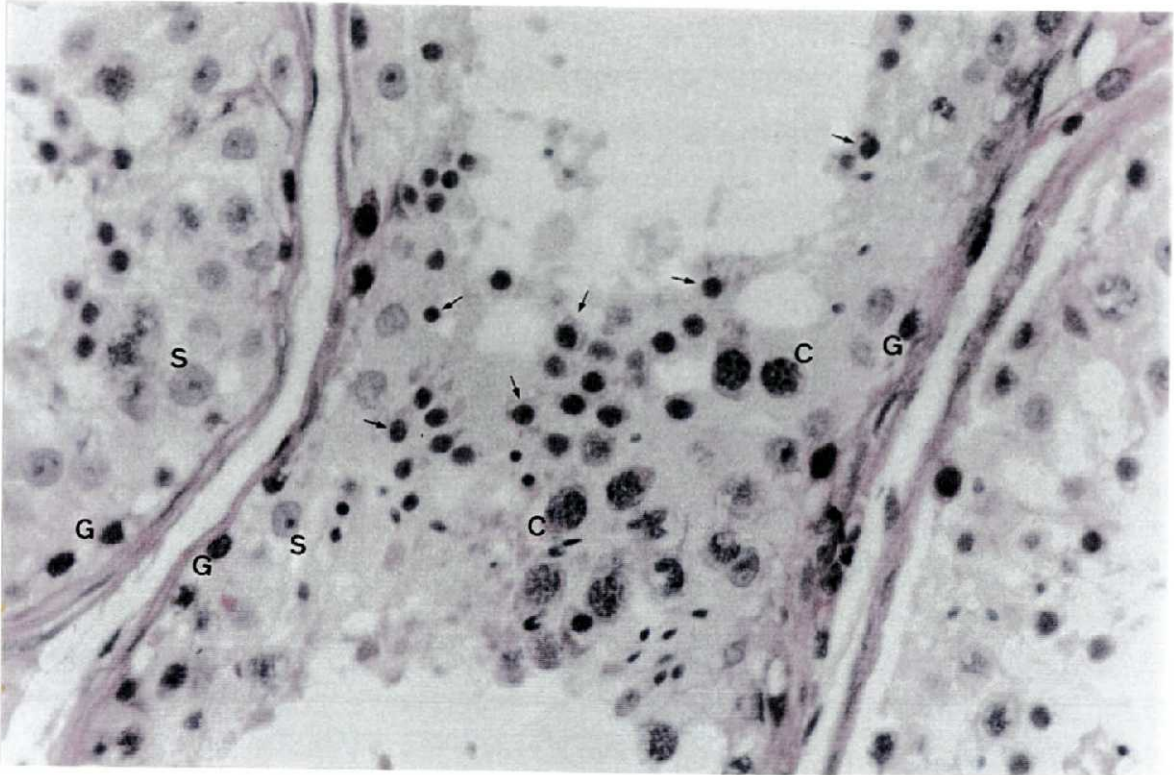


FIGURA 8 - TÚBULOS SEMINÍFEROS COM ESPERMATOGÊNESE INCOMPLETA ATÉ ESPERMÁTIDES. Túbulos seminíferos com células da espermatogênese representadas por espermatogônias (G), espermatócitos (C) e espermatídes (setas). São observadas ainda células de Sertoli (S) (HE, x 600)

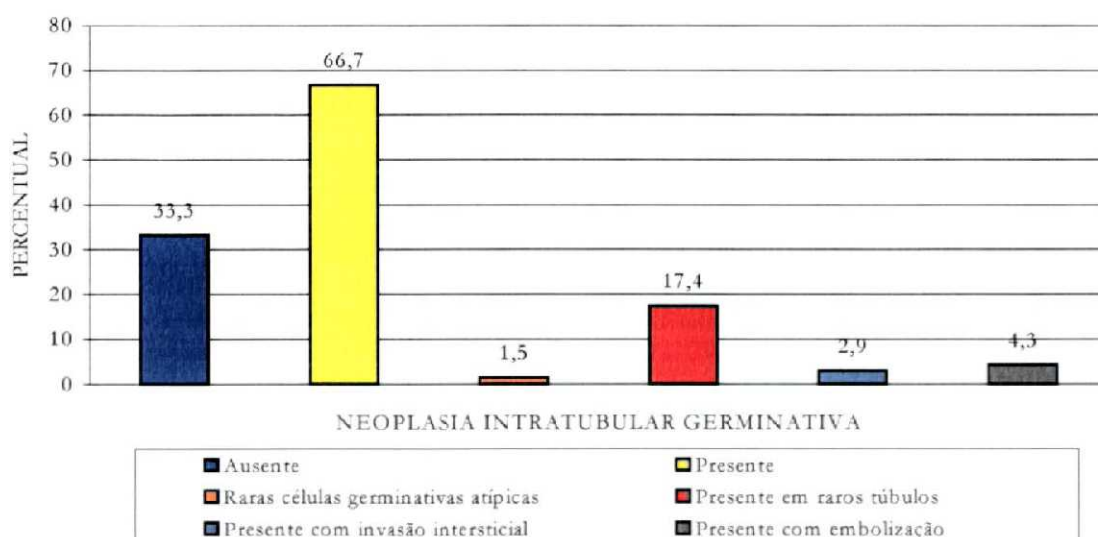
O achado de neoplasia intratubular de células germinativas (tabela 6, gráfico 6) foi significativo, estando presente em 66,7% ($p=0,0058$) dos casos examinados (figuras 9 e 10); em um caso apenas foram observados túbulos seminíferos com células atípicas isoladas (figura 11) e em outro a existência de neoplasia intratubular em túbulos imaturos (figura 12). Entre os casos positivos para neoplasia intratubular, observou-se a existência de células germinativas atípicas no interstício intertubular em cinco (7,2%) (figura 13), três deles apresentando, em meio ao parênquima remanescente e distante da neoplasia invasora, embolização vascular (figura 14).

TABELA 6 - FREQUÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS

Frequência	Número	Percentual
Ausente	23	33,3
Presente	46	66,7
Raras células atípicas	1	1,5
Em raros túbulos	12	17,4
Com células atípicas no interstício	2	2,9
Com embolização	3	4,3
TOTAL	69	100,0

$\chi^2_{\text{calc}} = 7,67; p=0,0058$

GRÁFICO 6 - FREQUÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS GERMINATIVAS (Tabela 6).



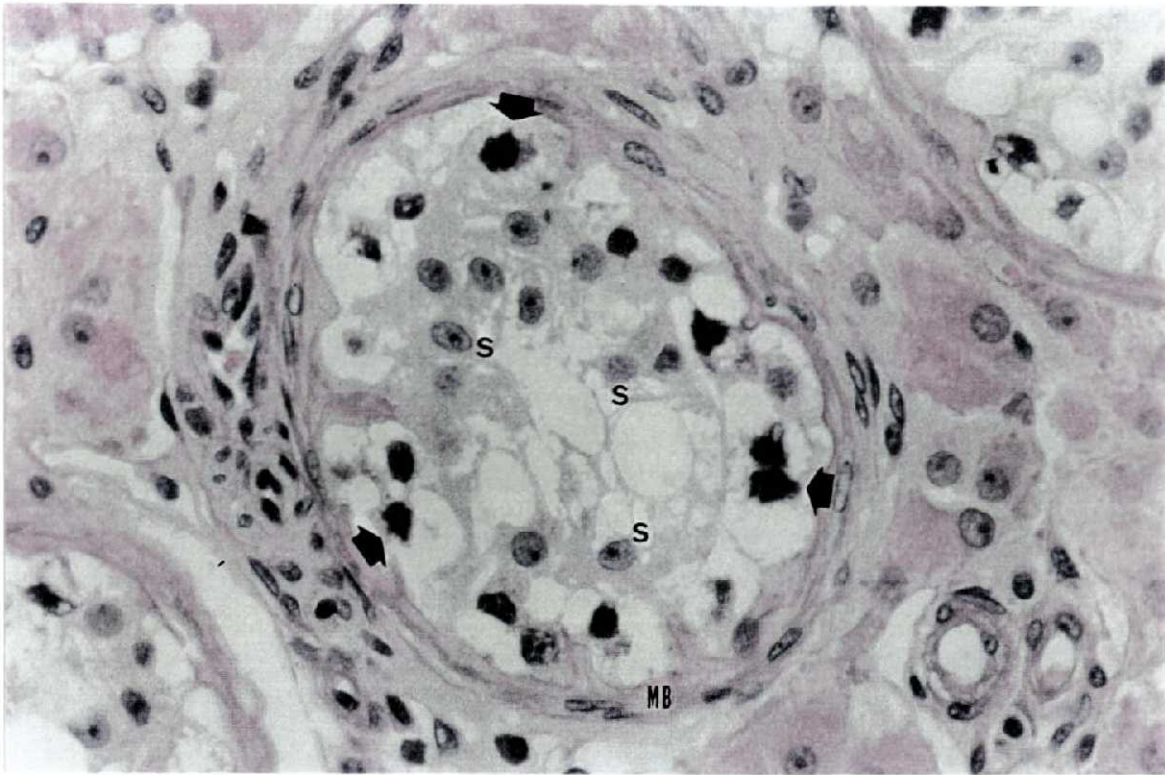


FIGURA 9 - NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA. Túbulo seminífero com células atípicas (setas) dispostas em linha e de modo contínuo junto à membrana basal (MB), exibindo núcleos hiper cromáticos, irregulares, com citoplasma amplo e claro. Presença de células de Sertoli (S) rechaçadas em direção ao lúmen, não havendo células normais da espermatogênese. (HE, x 600)

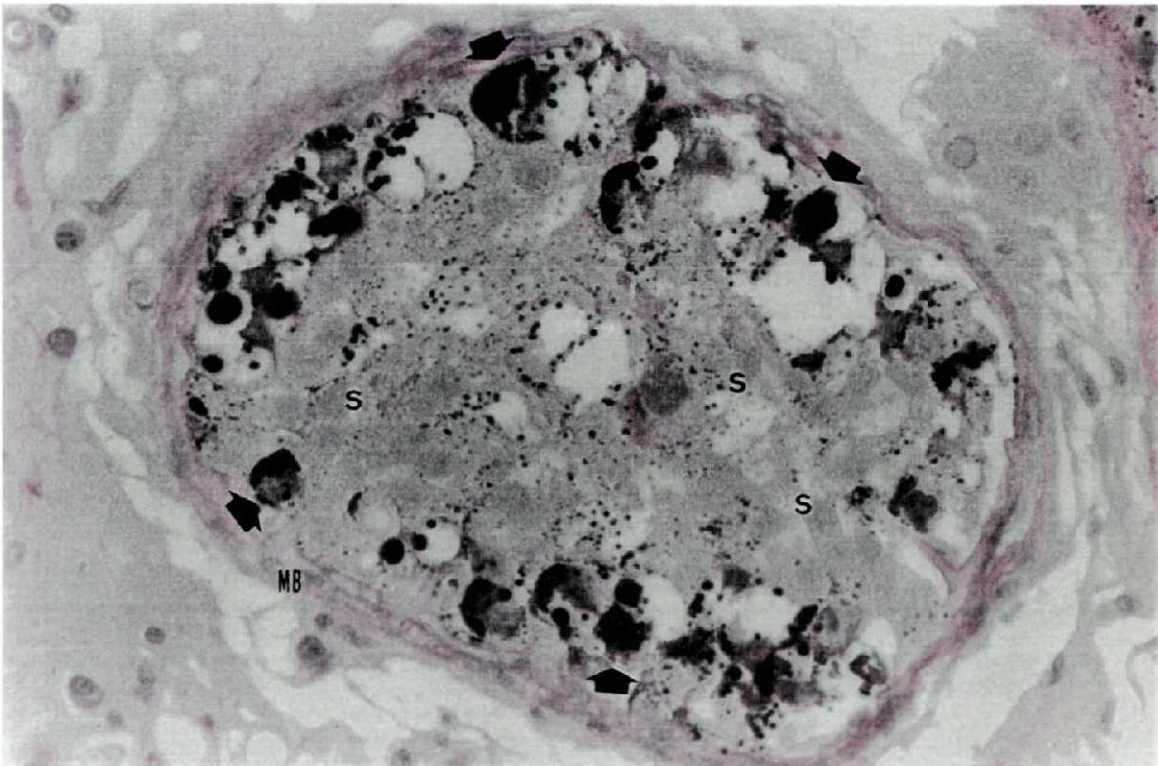


FIGURA 10 - NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA . Túbulo seminífero com células atípicas fortemente coradas (setas) dispostas em linha e de modo contínuo junto à membrana basal (MB). Presença de células de Sertoli (S) rechaçadas em direção ao lúmen, não coradas. (PAS, x 600)

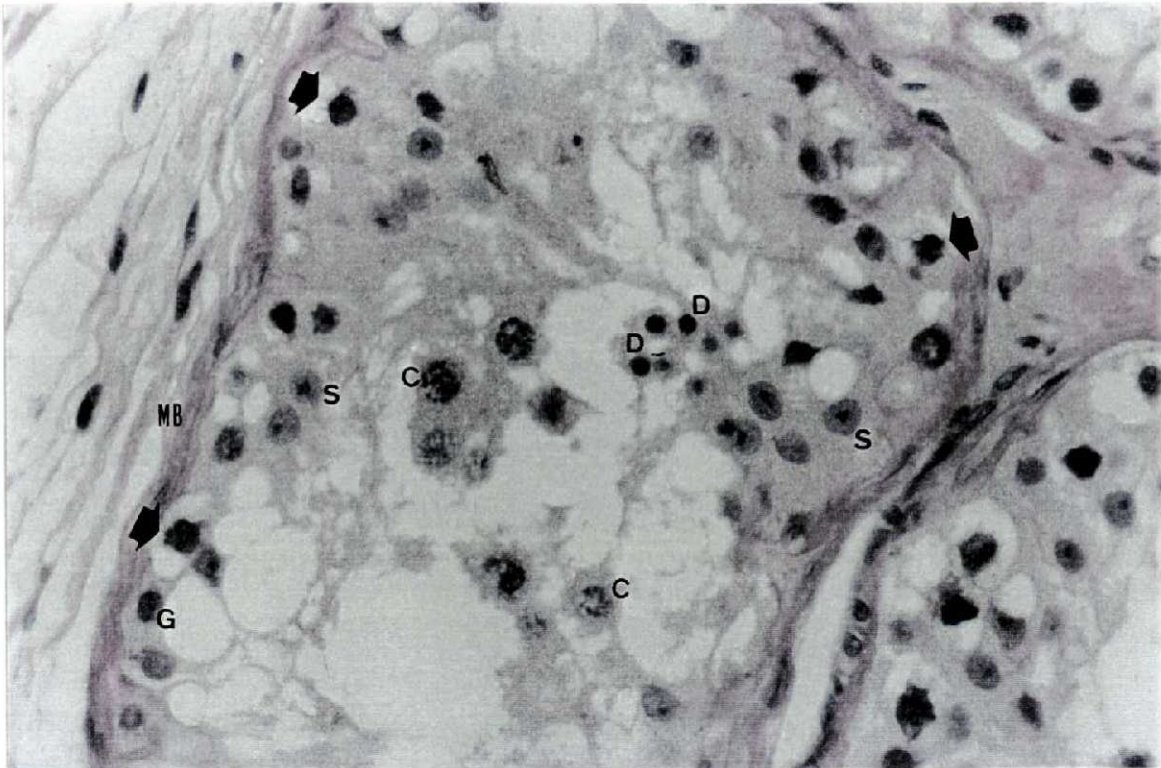


FIGURA 11 - CÉLULAS ATÍPICAS INTRATUBULARES ISOLADAS. Túbulo seminífero contendo células de Sertoli (S), espermatogônias (G), espermatócitos (C) e espermátides (D). Junto à membrana basal (MB) presença de células germinativas atípicas (setas) (HE, x 600)

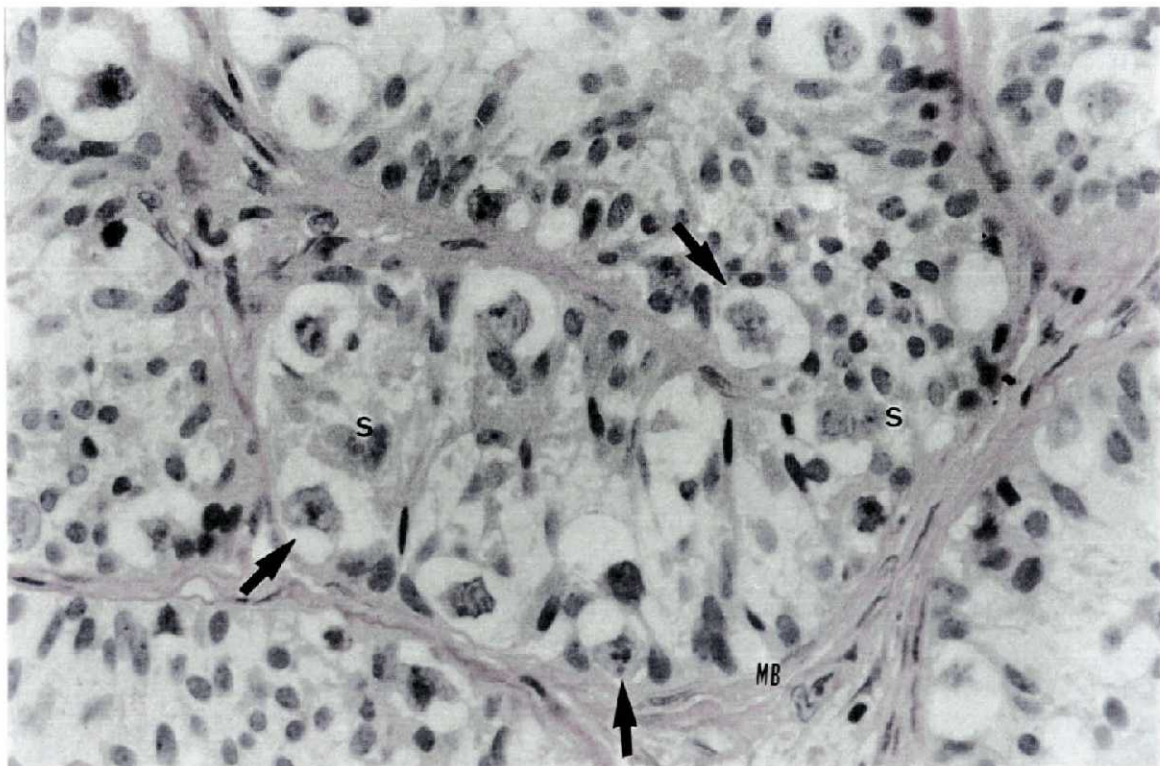


FIGURA 12 - NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA EM TÚBULOS IMATUROS. Túbulo seminífero de padrão infantil, imaturo, com células germinativas atípicas (setas) dispostas em linha junto à membrana basal (MB), com núcleos volumosos, irregulares e hiper cromáticos e citoplasma claro e abundante. Células de Sertoli evidentes (S)(HE, x 600)

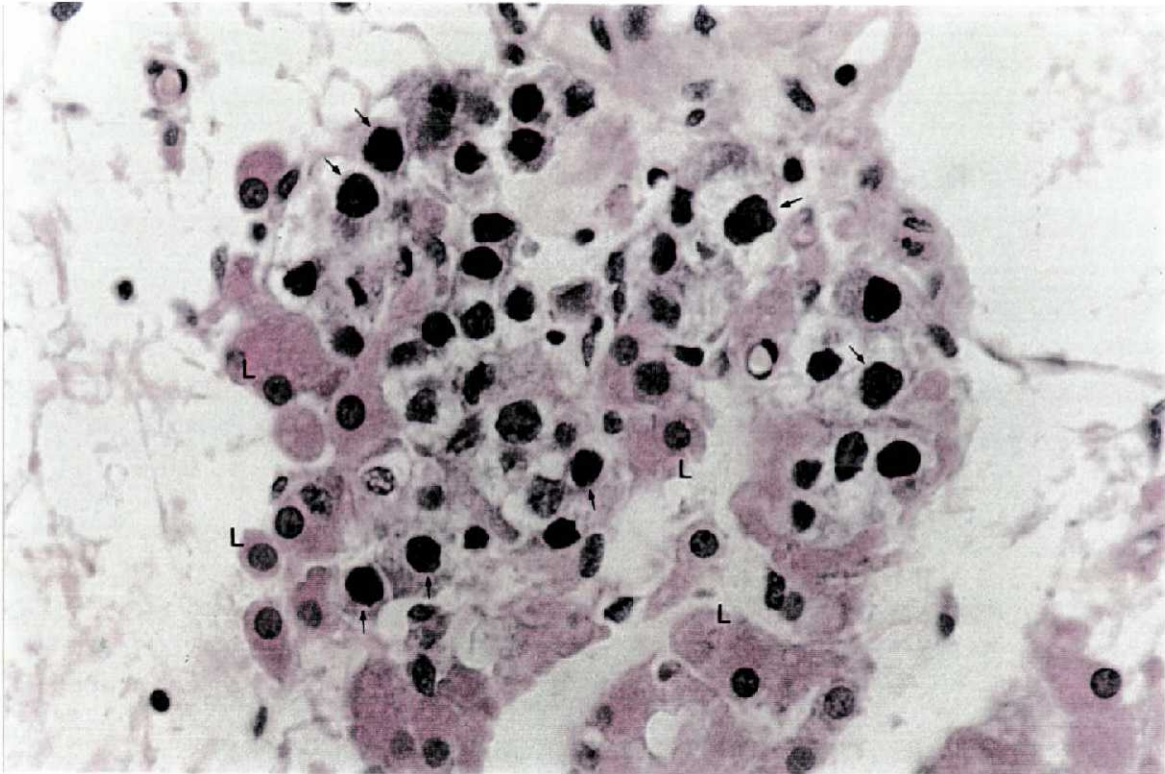


FIGURA 13 - CÉLULAS ATÍPICAS NO INTERSTÍCIO INTERTUBULAR. Interstício intertubular com células de Leydig (L) entre as quais há células atípicas de padrão germinativo (setas) demonstrando invasão estromal. (HE, x 600)

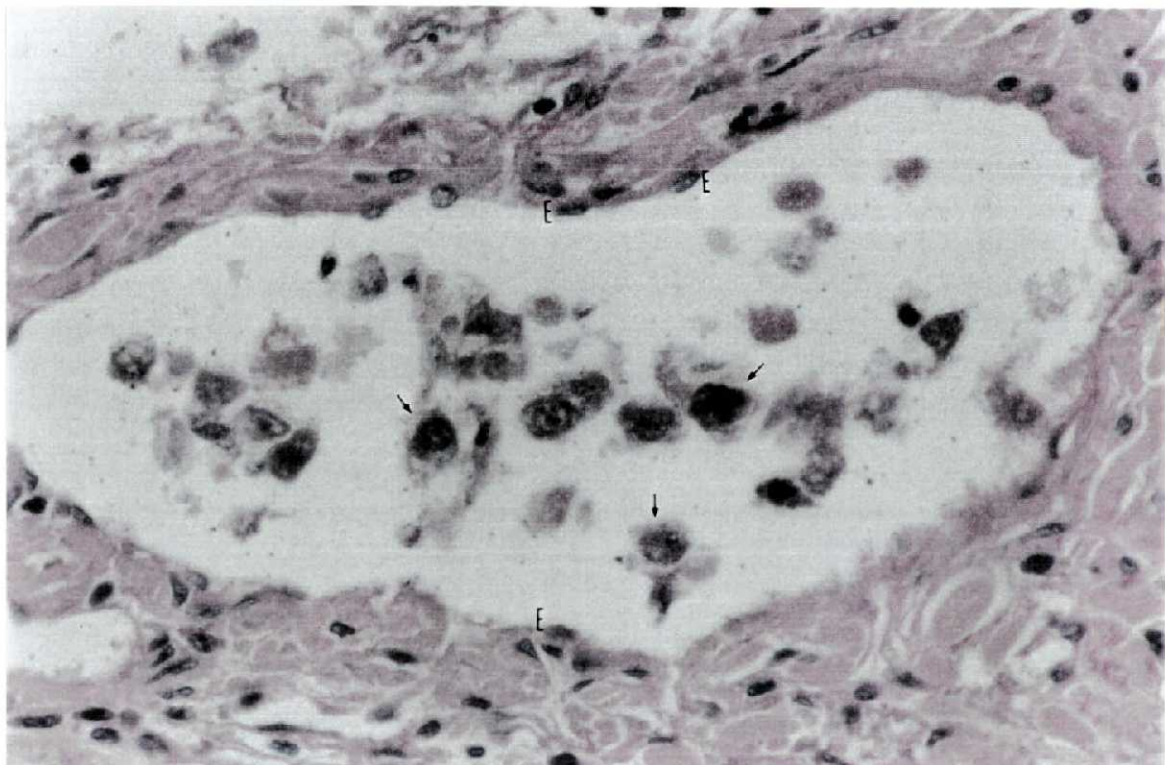


FIGURA 14- EMBOLIZAÇÃO NEOPLÁSICA . Espaço vascular com revestimento endotelial (E) preservado, contendo células neoplásicas no seu interior (setas) (HE, x 600)

Correlacionando a existência de neoplasia intratubular de qualquer tipo —seja em raros seja em numerosos túbulos, com ou sem embolização ou infiltração intersticial — com o tipo histológico tumoral (tabelas 7 e 8), observou-se que a maioria significativa dos casos sem neoplasia intratubular germinativa no parênquima remanescente correspondia ao grupo dos seminomas, com 43,5% ($p=0,0058$); nos casos em que a neoplasia estava presente observou-se significância para o grupo das neoplasias mistas, com 45,7% ($<0,001$). Analisando a incidência de neoplasia intratubular por grupo de neoplasia, observou-se que ela ocorria em 72,4% ($p=0,0175$) dos casos de neoplasia mista, em 100,0% dos casos de coriocarcinoma, em 71,4% dos casos de teratoma imaturo, em 75,0% dos casos de carcinoma embrionário puro e em 61,54% dos casos de seminoma. Os casos de tumor do saco vitelino infantil não apresentavam neoplasia intratubular ou mesmo células atípicas isoladas.

O estudo da neoplasia intratubular dentro do grupo de neoplasias mistas germinativas (tabela 9), apesar da casuística reduzida de cada grupo, demonstrou que as associações entre seminoma e carcinoma embrionário e entre seminoma, teratoma imaturo e carcinoma embrionário apresentavam neoplasia intratubular germinativa em 100,0% dos casos. O seminoma e o carcinoma embrionário, no entanto, quando associados ao tumor do saco vitelino, não apresentavam neoplasia intratubular no parênquima remanescente.

TABELA 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS QUANTO À INCIDÊNCIA DE NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA

Diagnóstico	Ausente		Presente	
	N.º	%	N.º	%
Seminoma	10	43,5	16	34,8
Carcinoma embrionário	1	4,3	3	6,5
Tumor do saco vitelino (infantil)	2	8,7	-	-
Teratoma imaturo	2	8,7	5	10,9
Coriocarcinoma	-	-	1	2,2
Neoplasia mista germinativa	8	34,8	21	45,7
TOTAL	23	100,0	46	100,0

Ausente $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 14,61$; $p=0,0058$; Presente $\rightarrow \chi^2_{\text{calc}} = 33,57$; $p<0,001$

TABELA 8 - FREQUÊNCIA DA NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA POR GRUPO TUMORAL

Diagnóstico	Ausente		Presente		Total
	Nº	%	Nº	%	
Seminoma	10	38,5	16	61,5	26
Carcinoma embrionário	1	25,0	3	75,0	4
Tumor do saco vitelino (infantil)	2	100,0	-	-	2
Teratoma imaturo	2	28,6	5	71,4	7
Coriocarcinoma	-	-	1	100,0	1
Neoplasia mista germinativa	8	27,6	21	72,4	29

Seminoma → $\chi^2_{\text{calc}} = 1,38$; $p=0,2435$; Neoplasia mista → $\chi^2_{\text{calc}} = 5,83$; $p=0,0175$

TABELA 9 - FREQUÊNCIA DA NEOPLASIA INTRATUBULAR GERMINATIVA ENTRE DIFERENTES ASSOCIAÇÕES DE NEOPLASIAS GERMINATIVAS MISTAS

Neoplasia Mista	Ausente		Presente		Total
	Nº	%	Nº	%	
TI e CE	2	25,0	8	38,1	10
TA e CE	2	25,0	1	4,8	3
TI e S	1	12,5	7	33,3	8
TA e S	1	12,5	1	4,8	2
S e CE	-	-	2	9,5	2
CE e TSV	1	12,5	-	-	1
S, TI e CE	-	-	2	9,5	2
S, TSV e CE	1	12,5	-	-	1
TOTAL	8	100,0	21	100,0	29

TI – Teratoma imaturo, CE – Carcinoma embrionário, TA – Teratoma maduro, S – Seminoma, TSV – Tumor do saco vitelino.

Achados menos frequentes foram vasculite (figura 15) e calcificação luminal de túbulos seminíferos (figura 16) em 4,3% dos casos, nódulos de túbulos seminíferos imaturos (adenoma de Pick) (figura 17) em 5,8%, orquite crônica folicular (figura 18) também em 5,8% e orquite aguda supurativa em 2,9% dos casos. Não se verificou correlação específica desses achados com nenhum tipo de tumor em especial, excetuando a orquite folicular, que estava associada ao seminoma em 100,0% dos casos.

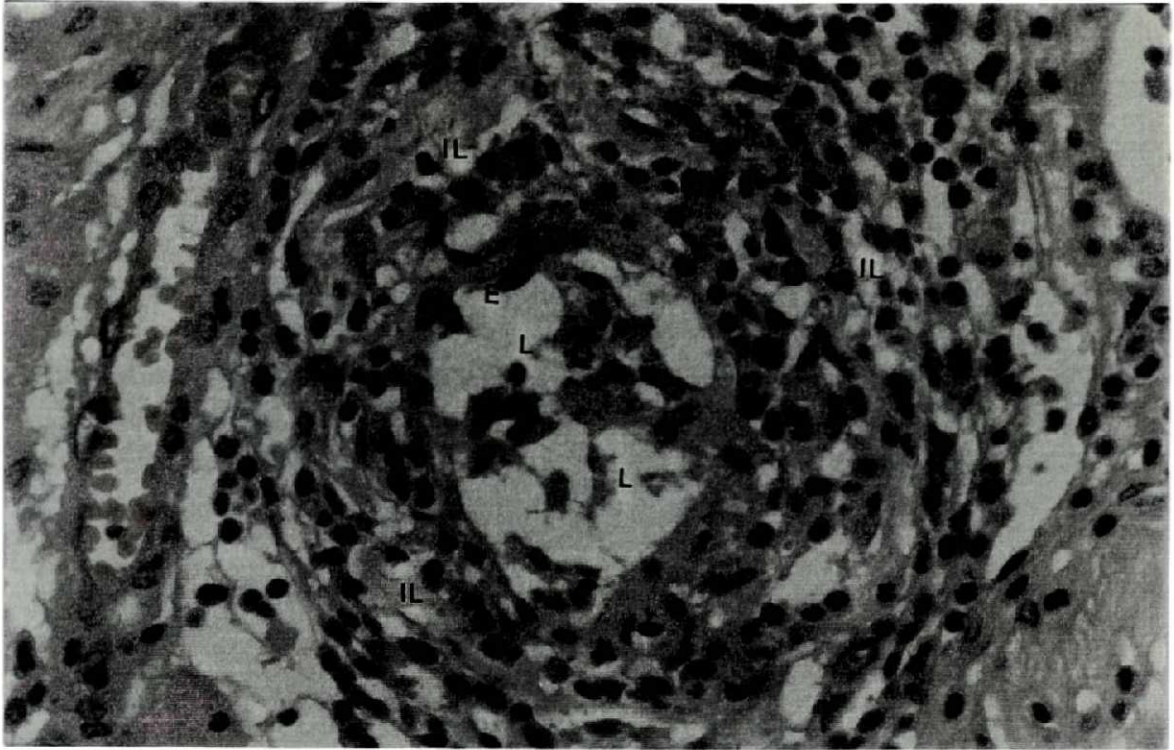


FIGURA 15 - VASCULITE. Vaso sanguíneo com difuso infiltrado linfocitário parietal (IL). (L - Lúmen vascular; E - célula endotelial) (HE, x 600)



FIGURA 16 - CALCIFICAÇÃO LUMINAL TUBULAR. Túbulo seminífero com células de Sertoli (S), células germinativas atípicas (setas) e calcificação central (Ca) obliterando o lúmen. Membrana basal (MB) pouco espessada (HE, x 600)

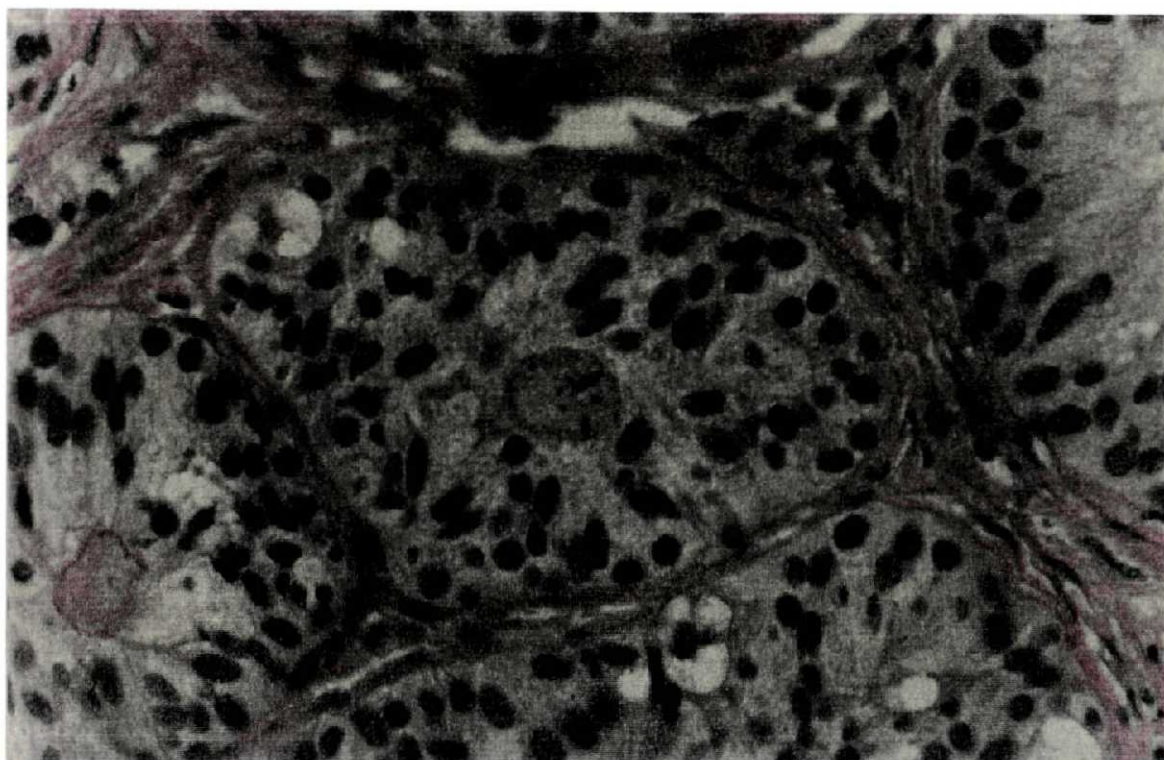


FIGURA 17 - ADENOMA DE PICK. Grupamento de túbulos seminíferos imaturos (padrão infantil) (HE, x 600)

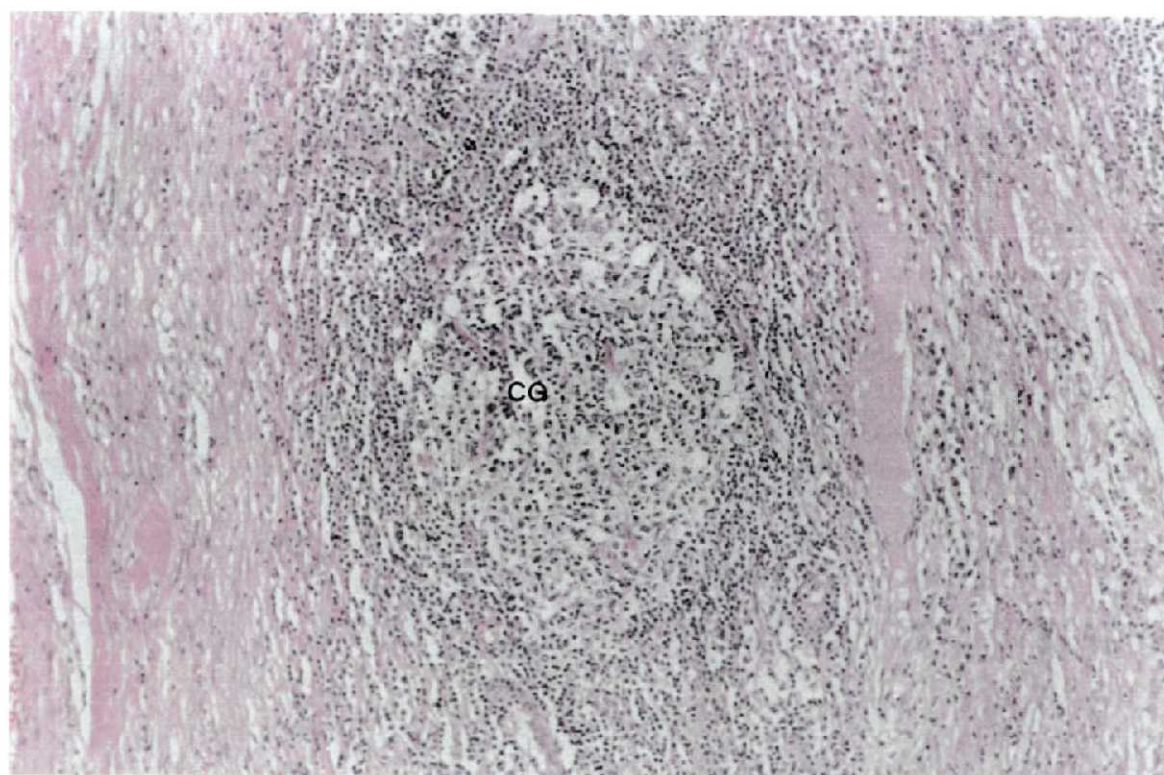


FIGURA 18 - ORQUITE CRÔNICA FOLICULAR. Interstício testicular com denso infiltrado monomorfonuclear e formação de agregado linfóide com centro germinativo proeminente. (CG) (HE, x 150)

6 DISCUSSÃO

As neoplasias testiculares sempre constituíram um grupo de tumores pouco entendidos, em parte por sua pequena incidência e em parte por sua complexidade. Conforme visto anteriormente, a própria classificação dessas neoplasias é bastante extensa para abranger toda a gama de lesões tumorais neoplásicas ou não que comprometem o testículo.

Embora pouco freqüente, a neoplasia testicular maligna é a principal responsável pelos casos de câncer em indivíduos jovens. Sua detecção precoce é difícil, pois o diagnóstico se faz apenas depois de observado o aumento de volume do testículo pelo próprio paciente ou por exame de rotina, pois o exame urológico não é comum para os homens, principalmente jovens, como é o ginecológico para as mulheres.

O material obtido para exame histopatológico foi representativo exclusivamente de neoplasias germinativas e, na maioria dos casos, os pacientes eram adultos jovens com idade média de 29 anos. A faixa etária entre 10 e 39 anos abrangeu 78,2% dos casos — o que está de acordo com dados de literatura (SKAKKEBÆK e PERA, 1993) —, com predominância significativa na terceira década de vida (20 a 29 anos).

A neoplasia testicular germinativa afetou de modo semelhante ambos os testículos, o que sugere pouca probabilidade de haver fator anatômico implicado na etiologia desses tumores. Alguns autores observaram a incidência de neoplasia germinativa em testículos ectópicos ou criptorquídicos e também a não-predominância de mau posicionamento testicular ou de neoplasia em um ou outro lado (HALME, 1989).

Entre as neoplasias encontradas observou-se predominância significativa da neoplasia mista germinativa (42,0%), seguida pelo seminoma (37,7%). Tais dados divergem de alguns estudos em que a incidência do seminoma é superior à da neoplasia mista germinativa, esta compreendendo de 60 a 90% das neoplasias não seminomatosas. O carcinoma embrionário, o tumor do saco vitelino, o teratoma imaturo na forma de lesão pura e o coriocarcinoma contaram com a minoria dos casos

(20,3%), achado esse compatível com o encontrado em diversas populações (MOSTOFI, 1973; SKAKKEBÆK e PERA, 1993; ULBRIGHT e ROTH, 1994; WHEELER e RUDY, 1997).

A avaliação do parênquima testicular remanescente adjacente à neoplasia germinativa demonstrou alterações tanto epiteliais como intersticiais. Para determinação dessas alterações foram observadas várias estruturas testiculares como tecido de sustentação, túbulos seminíferos, células germinativas e de Sertoli, células de Leydig e vasos sangüíneos. O tecido de sustentação do testículo apresentou alterações inespecíficas, tais como edema, infiltrado inflamatório, proliferação de tecido conjuntivo, calcificação e outras. Foram levados em consideração somente os achados mais específicos, tais como alteração quantitativa das células intersticiais de Leydig, alteração da espermatogênese e presença de neoplasia intratubular germinativa.

As células intersticiais de Leydig, responsáveis pela produção normal de testosterona, podem apresentar variação quantitativa na dependência da produção hormonal. A gonadotrofina coriônica humana é um dos hormônios produzidos por neoplasias testiculares e que tem a capacidade de estimular as células de Leydig, acarretando sua hiperplasia (MARK e HEDINGER, 1965; LEFEBVRE et al., 1993). Nas amostras estudadas, as células intersticiais de Leydig mostraram-se significativamente ausentes ou diminuídas em 69,5% dos casos sugerindo que haja alteração hormonal nesses pacientes.

Estudos que avaliam a função testicular em pacientes com câncer de testículo demonstram que os níveis de testosterona se encontram aumentados em grande parte dos casos (BERTHELSEN e SKAKKEBÆK, 1983), o que se deve à produção de gonadotrofina coriônica humana pelo tumor. MARK e HEDINGER (1965) descreveram uma estreita associação entre hiperplasia de células de Leydig e teratomas malignos com componente trofoblástico. Estudos mais recentes correlacionam a neoplasia testicular germinativa com a diminuição da função endócrina e com alterações funcionais das células de Leydig (PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1998; PETERSEN, SKAKKEBAEK, et al., 1998; PETERSEN, GIWERCMAN et al., 1999; PETERSEN, SKAKKEBAEK, et al., 1999). A redução significativa das células de Leydig junto a neoplasias testiculares germinativas

sugere que exista forte associação entre a neoplasia testicular e as células intersticiais. Quando correlacionadas com o tipo de neoplasia, as células de Leydig estiveram reduzidas, também significativamente, nos casos de seminoma e de neoplasia mista. A associação dessa alteração com as outras neoplasias germinativas observadas teve sua avaliação prejudicada pelo reduzido número de casos existentes.

Com base somente nesses dados, entretanto, não se pode prever a função endócrina testicular. Da mesma forma não há como determinar se a diminuição das células de Leydig é anterior ao tumor, relacionada a ele ou apenas reflexo de fatores compressivos. Tal achado, no entanto, é condizente com dados obtidos por PETERSEN, SKAKKEBAEK et al. (1999) onde pacientes com neoplasia testicular germinativa apresentam diminuição da secreção de hormônio luteinizante pelas células de Leydig.

Os túbulos seminíferos apresentaram alteração da espermatogênese em 100% dos casos, sendo que em 43,5% dos casos não haviam elementos germinativos e em outros 43,5% só haviam espermatogônias com ou sem espermatócitos. Em nenhuma das amostras estudadas foram vistos espermatozoides. O escore nos casos de tumor de saco vitelino infantil e no caso de tumor do saco vitelino infantil associado a seminoma clássico e carcinoma embrionário foi zero, tanto por não haver espermatogênese nessa faixa etária como por existir atrofia tubular com esclerose. O grupo dos seminomas obteve a menor média de escores na avaliação do trofismo tubular com maior prejuízo da espermatogênese associado a esses tumores; as neoplasias mistas, de forma geral, apresentaram também diminuição importante da espermatogênese, porém não-significativa e menos intensa que a vista nos seminomas. A população de células da espermatogênese mais preservada, e nem por isso completa, foi a encontrada na periferia do coriocarcinoma; tal dado não pode, no entanto, ser considerado, dada a baixa frequência desse tumor. Os dados com relação à espermatogênese são discordantes em parte dos resultados obtidos por MARK e HEDINGER (1965), em que os seminomas se associavam à melhor preservação da espermatogênese; os mesmos autores observaram também que os teratomas apresentavam maior prejuízo da espermatogênese quando comparados com outros tumores.

Afora a teoria hormonal, a compressão do parênquima testicular pela neoplasia e o aumento da temperatura testicular ocasionado pela exacerbação da vascularização local poderiam também contribuir para as alterações na maturação do epitélio germinativo. Apesar da gênese ainda obscura dessas neoplasias, é a criptorquidia altamente considerada como fator etiológico. As alterações parenquimatosas no criptorquidismo são inespecíficas e dependem tanto da localização quanto do tempo em que o testículo ficou em topografia anômala. Os testículos que permanecem fora da bolsa escrotal por longo período tendem a sofrer atrofia completa com hialinização tubular. Esse aspecto foi observado em 21,7% dos casos estudados, 80% dos quais apresentavam túbulos alterados por neoplasia intratubular de células germinativas. Em outros havia, em meio ao parênquima remanescente com túbulos hipotróficos, grupos de túbulos hialinizados, o que mostra que alterações no epitélio germinativo testicular podem ser focais ou mesmo multifocais, não afetando necessariamente todo o órgão com a mesma intensidade. Todo o espectro de alterações no epitélio germinativo relacionado à neoplasia permanece ainda obscuro. Um estudo de função exócrina testicular realizado por JEWETT et al. (1983), com base na avaliação do volume ejaculatório de pacientes com neoplasia testicular, concluiu que alterações no componente germinativo testicular têm início antes da neoplasia e podem atuar como agente indutor ou promotor do câncer. Trabalhos recentes têm demonstrado que pacientes com neoplasia testicular germinativa apresentam espermatogênese anormal no testículo contralateral (BERTHELSEN et al., 1982; PETERSEN, SKAKKEBAEK et al., 1998; RAJPERT-DE MEYTS et al., 1998), o que nos sugere que a alteração da espermatogênese não é uma consequência da neoplasia e sim uma alteração prévia ou concomitante ao tumor, compartilhando talvez o mesmo fator etiológico.

O achado mais marcante no parênquima testicular remanescente foi o de neoplasia intratubular de células germinativas. As alterações no epitélio germinativo, percebidas por curiosidade nas décadas de 60 e 70 (SKAKKEBAEK, 1972), ocupam hoje lugar de destaque como precursoras de neoplasia invasora germinativa. O reconhecimento da NITCG não é feito, muitas vezes, por desconhecerem os profissionais responsáveis que a associação do método rotineiro de hematoxilina e

eosina com o método do PAS é altamente confiável para diagnosticar neoplasia intratubular germinativa, dada sua elevada positividade, com resultados falso-negativos em menos de 2% dos casos (COFFIN et al., 1985).

Dentre as 69 amostras estudadas, 66,7% apresentaram, no parênquima adjacente à neoplasia, túbulos alterados por NITCG. Esse valor, embora significativo no presente estudo, está muito aquém dos encontrados por MARK e HEDINGER em 1965, por SKAKKEBÆK em 1975 e por COFFIN et al. em 1985. No entanto, dos 23 casos em que não foi encontrada NITCG, dez apresentaram acentuada compressão do parênquima remanescente, onde puderam ser visualizados apenas esparsos túbulos; três eram representados por parênquima imaturo (neoplasias pediátricas), onde as alterações de NITCG não estão bem definidas e são de difícil identificação. Excluindo-se esses casos elevar-se-ia a incidência de NITCG para 82,1%, o que ficaria próximo dos dados de literatura.

A incidência de NITCG entre os pacientes com criptorquidia está entre 2 e 8% (MONTIE, 1993). Muitos dos casos de criptorquidia são biopsiados por ocasião da orquiopexia, em torno de dois anos de idade, quando a lesão epitelial ainda não está aparente. A incidência de NITCG no testículo contralateral de pacientes com neoplasia germinativa chega a 7% em algumas séries, mas, apesar disso, em muitos serviços não é rotina a biópsia do testículo contralateral por ocasião da orquiectomia.

O grupo de neoplasias que apresentou maior incidência de NITCG foi o de carcinoma embrionário puro, seguido das neoplasias mistas, teratomas imaturos e coriocarcinoma; tais dados são, no entanto, irrelevantes no presente estudo dado o pequeno número de casos existentes desses tumores. A presença de NITCG no grupo de neoplasias mistas foi significativa, porém essa significância não foi observada nos casos de seminoma; a baixa frequência de células atípicas intratubulares junto a esse tipo de tumor está de acordo com os dados obtidos por SKAKKEBÆK (1975), segundo os quais, de 22 casos de seminoma examinados, quatro (18,2%) não apresentavam NITCG.

Além da correlação estreita com neoplasia invasora, a NITCG apresenta aspecto interessante quanto a invasão e embolização. Em 2,9% dos casos estudados foram visualizadas células atípicas no interstício em meio aos túbulos seminíferos;

esse aspecto é comum nos casos de neoplasia testicular germinativa e mesmo naqueles em que a neoplasia não é ainda aparente e configura a forma de invasão do tumor. Entretanto, em meio ao parênquima remanescente onde havia túbulos com NITCG, distante portanto da neoplasia invasora propriamente dita, três amostras (4,3%) apresentavam células atípicas, semelhantes àquelas existentes no interior dos túbulos com NITCG, no interior de vasos sanguíneos e linfáticos. Esse aspecto da lesão tubular testicular pode ter relação com a gênese de neoplasias germinativas extratesticulares, como descrito por CHEN e CHENG em 1989; portanto, o paciente com neoplasia não precisa apresentar massa testicular, bastando a presença de NITCG com invasão intersticial e embolização precoce. Nos casos de neoplasia extratesticular se tornaria então imprescindível a biópsia testicular para identificação de NITCG, pois o testículo poderia vir a desenvolver nova neoplasia.

Dos achados ocasionais no parênquima testicular remanescente, o adenoma de Pick apresentou incidência semelhante à encontrada na população geral de 5% (TRAINER, 1991). No entanto, em um dos casos se observou a presença de neoplasia intratubular nos túbulos imaturos do adenoma de Pick (figuras 12 e 13); tal achado sugere que seria possível a identificação de NITCG em crianças, pois nelas não há ainda maturação epitelial germinativa. Tal identificação, entretanto, é controversa (JORGENSEN et al., 1991; ULBRIGHT e ROTH, 1994), não se podendo ainda afirmar que exista NITCG precedendo tumores germinativos pediátricos, pois tal associação ainda não foi suficientemente investigada (LEVIN, 1994).

A presença de calcificação testicular, principalmente quando estromal, pode significar existência anterior de neoplasia testicular; quando no interior dos túbulos seminíferos, como a encontrada em 4,3% dos casos, é denominada microlitíase e reflete alterações metabólicas e degenerativas ou a presença de NITCG (LENZ et al., 1996; RAJPERT-DE MEYTS e SKAKKEBAEK, 1999).

A vasculite na gônada masculina pode ou não fazer parte de doença sistêmica: é possível que a existência de alteração patológica no órgão se relacione com alterações vasculares inflamatórias secundárias e, devido à baixa frequência com que foi observada, também perde sua importância. Da mesma forma, os dois casos de orquite aguda em testículo doente não mantêm relação específica com a neoplasia. O

achado de orquite crônica de padrão linfocitário folicular associada a seminoma pode, no entanto, fazer parte de um espectro de variações morfológicas principalmente dos seminomas, dado o infiltrado linfocitário sempre presente nesses tumores. Da mesma forma, descrições de outras neoplasias germinativas associadas a infiltrado linfocitário têm sido feitas (JAHNUKAINEN et al., 1995).

7 CONCLUSÕES

Todas as especulações em torno das neoplasias testiculares, principalmente as germinativas, têm validade, dada a dificuldade em se entender corretamente tais tumores e sua baixa ocorrência, o que dificulta as inúmeras investigações. A avaliação do parênquima não-neoplásico adjacente à neoplasia germinativa demonstra que:

1. A espermatogênese encontra-se alterada em 100% dos casos de neoplasia germinativa testicular, alteração essa mais acentuada junto aos seminomas clássico e anaplásico, com predomínio de hipotrofia acentuada e de atrofia total. Esse achado sugere que os pacientes com tumor de linhagem germinativa testicular tenham prejuízo da espermatogênese prévio ou concomitante ao aparecimento da neoplasia.

2. As células intersticiais de Leydig apresentam redução numérica significativa em 69,5% dos casos, independentemente do tipo histológico de neoplasia associado, sugerindo que os pacientes com neoplasia testicular germinativa tenham alterações hormonais de origem tumoral ou mesmo prévias ao surgimento da neoplasia.

3. A neoplasia intratubular de células germinativas tem forte associação com neoplasias germinativas testiculares, principalmente aquelas que acometem homens no período pós-puberal, estando presente em 66,7% dos casos. Tal achado é concordante com a literatura e demonstra que as neoplasias germinativas testiculares não pediátricas são precedidas por alterações epiteliais facilmente reconhecíveis à microscopia óptica.

ANEXO

MÉTODOS DE COLORAÇÃO

Coloração Hematoxilina e Eosina

Técnica:

- 1) Lavar em água corrente;
- 2) corar em solução de hematoxilina de Harris por 50 segundos;
- 3) lavar em água corrente;
- 4) água amoniacal;
- 5) corar em solução de eosina;
- 6) lavar, desidratar, diafanizar e montar.

Soluções:

A Hematoxilina de Harris:

- hematoxilina - 5 g;
- álcool etílico - 50 ml;
- alúmen de potássio - 100 g;
- água destilada - 950 ml;
- óxido de mercúrio - 2,5 g;
- ácido acético glacial - 40 ml.

Dissolver a hematoxilina no álcool levemente aquecido (56°C) em banho-maria; dissolver o alúmen de potássio em água destilada aquecida em chama, acrescentar a solução alcóolica de hematoxilina e deixar ferver. Adicionar o óxido de mercúrio e então o ácido acético. Filtrar.

Ácido Periódico de Schiff (PAS)

Técnica:

- 1) Lavar os cortes em água destilada;
- 2) deixar em solução de ácido periódico por 5 minutos;
- 3) lavar em água destilada;
- 4) deixar em reagente de Schiff por 15 minutos;
- 5) lavar em água corrente por 5 minutos;
- 6) corar com hematoxilina de Harris por 50 segundos;
- 7) lavar, desidratar, diafanizar e montar.

Soluções:

- A) Ácido periódico aquoso a 1%;
- B) Reagente de Schiff:

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRATT, R.P.; REDDI, B.; SAREMBOCK, A. Testicular cancer and cryptorchidism. **British Journal of Urology**, v.70, p.656-659, 1992.
- BACKHOUSE, K.M. Embriology of testicular descent and maldescent. **Urologic Clinics of North America**, v.9, n.3, p.315-325, Oct. 1982.
- BANCROFT, J. D.; COOK, H. C.. **Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application**, New York, Churchill Livingstone, 1994.
- BEHESHTI, M.; HARDY, B.E.; MANCER, K. et al. Neoplastic potential in patients with disorders of sexual differentiation. **Pediatric Urology**, v.29, n.4, p.404-407, Apr. 1987.
- BERTHELSEN, J.G.; SKAKKEBÆK, N.E. Gonadal function in men with testis cancer. **Fertility and Sterility**, v.39, n.1, p.68-75, Jan. 1983.
- BERTHELSEN, J.G.; SKAKKEBÆK, N.E.; MOGENSEN, P. et al. Incidence of carcinoma in situ of germ cells in contralateral testis of men with testicular tumours. **British Medical Journal**, v.2, p.363-364, Aug. 1979.
- BERTHELSEN, J.G.; SKAKKEBÆK, N.E.; MAASE, H. et al. Screening for carcinoma in situ of the contralateral testis in patients with germinal testicular cancer. **British Medical Journal**, v.285, p.1683-1686, Dec. 1982.
- BOYLE, Z.; ZARIDZE, D.G. Risk factors for prostate and testicular cancer. **European Journal of Cancer**, v.29A, n.7, p.1048-1055, 1993.
- CARVALHO, F.; LEITÃO, B.; REIS, A. et al.. Tumores testiculares na pre-puberdade. **Acta Med Port**, v.11, n.7, p.627-629, 1998.
- CHEN, K.T.K.; CHENG, A.C. Retroperitoneal seminoma and intratubular germ cell neoplasia. **Human Pathology**, v.20, n.5, p.493-495, May 1989.
- CHEVILLE, J. C. Classification and pathology of testicular germ cell and sex cord-stromal tumors. **Urologic Clinics of North America**, v. 26, n. 3, p. 595-609, Aug, 1999.
- COFFIN, C.M.; EWING, S.; DEHNER, L.P. Frequency of intratubular germ cell neoplasia with invasive testicular germ cell tumors. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v.109, p.555-559, June 1985.

- CORMACK, D.H. O sistema reprodutor masculino. In: _____. **Ham : Histologia**. 10. ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1991. p.509-529.
- CORTES, D.; THORUP, J.M.; VISFELDT, J. et al. Is infertility after surgery for cryptorchidism congenital or acquired? **Pediatric Surgery**, v.14, n.1-2, p.6-8, Nov. 1998.
- CZAJA, J.T.; ULBRIGHT, T.M. Evidence for the transformation of seminoma to yolk sac tumor, with histogenetic considerations. **American Journal of Clinical Pathology**, v.97, n.4, p.468-477, Apr. 1992.
- DAUGAARD, G.; GIWERCMAN, A; SKAKKEBAEK, N.E.. Should the other testis be biopsied? **Seminars in Urology Oncology**, v.14, n.1, p.8-12, Feb. 1996.
- DEXEUS, F.H.; LOGOTHETIS, C.J.; CHONG, C. et al. Genetic abnormalities in men with germ cell tumors. **The Journal of Urology**, v.140, p.80-84, July 1988.
- DIECKMANN, K.P.; LOY, V. Prevalence of contralateral testicular intraepithelial neoplasia in patients with testicular germ cell neoplasms. **Journal of Clinical Oncology**, v.14, n.12, p.3126-3132, Dec. 1996.
- _____. The value of the biopsy of the contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer : the recent German experience. **Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavica**, v.106, n.1, p.13-20, Jan. 1998.
- ENSINGER, C.; MIKUZ, G. The impact of FISH on our understanding of testicular tumour development. **Journal of Pathology**, v.186, n.3, p.225-226, Nov. 1998.
- FRAM, R.J.; GARNICK, M.B.; RETIK, A. The spectrum of genitourinary abnormalities in patients with cryptorchidism, with emphasis on testicular carcinoma. **Cancer**, v.50, p.2243-2245, Nov. 1982.
- GEHRING, C.G.; RODRIGUEZ, F.R.; WOODHEAD, D.M. Malignant degeneration of cryptorchid testes following orchiopexy. **Journal of Urology**, v.112, p.354-356, 1974.
- GIWERCMAN, A.; BRUUN, E.; FRIMODT-MØLLER et al. Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism. **The Journal of Urology**, v.142, p.998-1002, Oct. 1989.

- HADŽISELIMOVIC, F. Cryptorchidism. Ultrastructure of normal and cryptorchid testis development. **Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology**, v.53, n.3, 1977.
- HALME, A.; KELLOKUMPU-LEHTINEN, P.; LEHTONEN, T. et al. Morphology of testicular germ cell tumours in treated and untreated cryptorchidism. **British Journal of Urology**, v.64, p.78-83, 1989.
- HARLAND, S.J.; COOK, P.A.; FOSSA, S.D. et al. Intratubular germ cell neoplasia of the contralateral testis in testicular cancer : defining a high risk group. **Journal of Urology**, v.160, n.4, p.1353-1357, Oct. 1998.
- HENTRICH, M.U.; BRACK, N.G.; SCHMID, P. et al. Testicular germ cell tumors in patients with human immunodeficiency virus infection. **Cancer**, v.77, p.2109-2116, 1996.
- HEZZMALL, H.P.; LIPSHULTZ, L.I. Cryptorchidism and infertility. **Urologic Clinics of North America**, v.9, n.3, p.353-360, Oct. 1982.
- HUFF, D.S.; HADZISELIMOVIC F.; SNYDER, H.M. et al. Post-natal testicular maldevelopment in unilateral cryptorchidism. **Journal of Urology**, v.142, p.546-548, 1989.
- HUSTIN, J.; COLLETTE, J.; FRANCHIMONT, P. Immunohistochemical demonstration of placental alkaline phosphatase in various states of testicular development and in germ cell tumours. **International Journal of Andrology**, v.10, p.29-35, 1987.
- JACOBSEN, G.K.; HENRIKSEN, O.B.; MAASE, H.V. Carcinoma in situ of testicular tissue adjacent to malignant germ-cell tumors. **Cancer**, v.47, p.2660-2662, June 1981.
- JAHNUKAINEN, K.; JORGENSEN, N.; POLLANEN, P. et al. Incidence of testicular mononuclear cell infiltrates in normal human males and in patients with germ cell neoplasia. **International Journal of Andrology**, v.16, n.6, p.313-320, Dec. 1995.
- JEWETT, M.A.S.; THACHILL, J.V.; HARRIS, J.F. Exocrine function of testis with germinal testicular tumour. **British Medical Journal**, v.286, p.1849-1850, Jun. 1983.
- JOB, J.C.; GENDREL, D. Endocrine aspects of cryptorchidism. **Urologic Clinics of North America**, v.9, n.3, p.360-369, Oct. 1982.

- JORGENSEN, N.; MÜLLER, J.; VISFELDT, J. et al. Infantile germ cells tumors associated with carcinoma-in-situ of the testis. **Onkologie**, v.14, n.8, suppl.4, 1991. Abstract.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Aparelho reprodutor masculino. In: _____. **Histologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1995. p.355-366.
- KRABBE, S.; BERTHELSEN, J.G.; VOLSTED, P. et al. High incidence of undetected neoplasia in maldescended testes. **The Lancet**, May 12, 1979.
- KRETZER, D.M.; KERR, J.B.; PAULSEN, C.A. The peritubular tissue in the normal and pathological human testis : an ultrastructural study. **Biology of Reproduction**, v.12, p.317-324, 1975.
- KULIN, H.E.; SAMOJLIK, E.; SANTNER, S. The effect of growth hormone on the Leydig cell response to chorionic gonadotrophin in boys with hypopituitarism. **Clinical Endocrinology**, v.15, n.5, p.463-472, Nov. 1981.
- LEFEBVRE, H.; LAQUERRIERE, A.; CLERET, J.M.; KUHN, J.M.. A hCG-secreting seminoma revealed by male infertility: mechanism of hCG-evoked endocrine disturbances. **Andrologia**, v.25, n.5, p.283-287, Sep.-Oct., 1993.
- LENZ, S.; SKAKKEBAEK, N.E.; HERTEL, N.T.. Abnormal ultrasonic pattern in contralateral testes in patients with unilateral testicular cancer. **World Journal of Urology**, v.14, suppl.1, p.55-58, 1996.
- LEVIN, H.S. Nonneoplastic disease of the testis. In: STERNBERG, S.S. **Diagnostic Surgical Pathology**. 2nd ed. New York : Raven Press, 1994. v.2, p.1855-1883.
- LOOIJENGA, L.H.; OOSTERHUIS, J.W. Pathogenesis of testicular germ cell tumours. **Reviews on Reproduction**, v.4, n.2, p.90-100, May 1999.
- MARK, G.J.; HEDINGER, Chr. Changes in remaining tumor-free testicular tissue in cases of seminoma and teratoma. **Virchows Archives of Pathological Anatomy and Histopathology**, v.340, p.84-92, 1965.
- MARTIN, D.C. Malignancy in the cryptorchid testis. **Urologic Clinics of North America**, v.9, n.3, p.371-376, Oct. 1982.
- MENGEL, W.; WRONECKI, K.; SCHROEDER, J. et al. Histopathology of the cryptorchid testis. **Urologic Clinics of North America**, v.9, n.3, p.331-338, Oct. 1982.

- MOLLER, H. Clues to the aetiology of testicular germ cell tumours from descriptive epidemiology. **European Urology**, v.23, p.8-15, 1993.
- MOLLER, H.; PRENER, A.; SKAKKEBAEK, N.E. Testicular cancer, cryptorchidism, inguinal hernia, testicular atrophy, and genital malformations: case-control studies in Denmark. **Cancer Cases Control**, v.7, n.2, p.264-274, Mar. 1996.
- MOLLER, H. SKAKKEBAEK, N.E. Risk of testicular cancer in subfertile men: case-control study. **British Medical Journal**, v.318, n.7183, p.559-562, Feb. 27, 1999.
- MONTIE, J.E. Carcinoma in situ of the testis and bilateral carcinoma. **Urologic Clinics of North America**, v.20, n.1, p.127-132, Feb. 1993.
- MOSS, A.R.; OSMOND, D.; BACCHETTI, P. et al. Hormonal risk factors in testicular cancer. **American Journal of Epidemiology**, v.124, n.1, p.39-52, 1986.
- MOSTOFI, F.K. Testicular tumors : epidemiologic, etiologic and pathologic features. **Cancer**, v.32, n.5, p.1186-1201, Nov. 1973.
- MÜLLER, J.; SKAKKEBÆK, N.E.; NIELSEN, O.H. et al. Cryptorchidism and testis cancer : atypical infantile germ cells followed by carcinoma in situ and invasive carcinoma in adulthood. **Cancer**, v.54, p.629-634, Aug. 1984.
- NIELSEN, H.; NIELSEN, M.; SKAKKEBÆK, N.E. The fine structure of a possible carcinoma-in-situ in the seminiferous tubules in the testis of four infertile men. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, v.82, p.235-248, 1974.
- NISTAL, M.; PANIAGUA, R.; QUEIZÁN, A. Histologic lesions in undescended ectopic obstructed testes. **Fertility and Sterility**, v.43, n.3, p.455-462, Mar. 1985.
- OKADA, H.; FUJIOKA, H.; TATSUMI, N. et al. Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic. **Human Reproduction**, v.14, n.4, p.946-952, Apr. 1999.
- PEARCE, N.; SHEPPARD, R.A.; HOWARD, J.K. et al. Time trends and occupational differences in cancer of the testis in New Zeland. **Cancer**, v.56, p.1677-1682, May 1987.
- PETERSEN, P.M.; GIWERCMAN, A.; HANSEN, S.W. et al. Impaired testicular function in patients with carcinoma-in-situ of the testis. **Journal of Clinical Oncology**, v.17, n.1, p.173-179, Jan. 1999.

- PETERSEN, P.M.; GIWERCMAN, A.; SKAKKEBAEK, N.E.; RORTH, M.. Gonadal function in men with testicular cancer. **Seminars in Oncology**, v.25, n.2, p.224-233, Apr. 1998.
- PETERSEN, P.M.; LENZ, S.C.; GIWERCMAN, A.J. et al. [Testicular carcinoma in situ detected by ultrasoun in infertile men]. **Ugeskrift for Laeger**, v.159, n.25, p.3962-3963, June 1997. Abstract.
- PETERSEN, P.M.; SKAKKEBAEK, N.E.; GIWERCMAN, A. Gonadal function in men with testicular cancer: biological and clinical aspects. **Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavica**, v.106, n.1, p.24-36, Jan. 1998
- PETERSEN, P.M.; SKAKKEBAEK, N.E.; VISTISEN, K. et al. Semen quality and reproductive hormones before orquiectomy in men with testicular cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v.17, n.3, p.941-947, Mar. 1999.
- RAJPERT-DE MEYTS, E.; JORGENSEN, N.; BRONDUM-NIELSEN, K. et al.. Developmental arrest of germ cells in the pathogenesis of germ cell neoplasia. **Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavica**, v.106, n.1, p.198-206, Jan. 1998.
- RAJPERT-DE MEYTS, E.; SKAKKEBAEK, N.E. Testicular microlithiasis and carcinoma in situ [letter; comment]. **Urology**, v.48, n.5, p.794-796, Feb. 1999
- RAMANI, P.; YEUNG, C.K.; HABEEBU, S.S.M. Testicular intratubular germ cell neoplasia in children and adolescents with intersex. **The American Journal of Surgical Pathology**, v.17, n.11, p.1124-1133, 1993.
- SAKASHITA S.; KOYANAGI, T.; TSUJI, I. et al. Congenital anomalies in children with testicular germ cell tumor. **The Journal of Urology**, v.124, p.889-891, 1980.
- SIGG C.; HEDINGER C. Atypical germ cells in testicular biopsy in male sterility. **International Journal of Andrology**, Suppl. 4, p.163-171, Mar. 1981.
- SINGH, K.K.; ASTHANA, A.K.; CHANDRA, A. et al. Germ cell tumour of testis. **Indian Journal of Medical Sciences**, v.52, n.9, p.406-411, Sept. 1998.
- SKAKKEBÆK, N.E. Abnormal morphology of germ cells in two infertile men. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, v.80, p.374-378, 1972.
- _____. Atypical germ cells in the adjacent "normal" tissue of testicular tumours. **Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavica**, v.83, p.127-130, 1975.

WHEELER, J.E.; RUDY, F.R. The testis, paratesticular structures, and male external genitalia. In: SILVERBERG, S.G.; DeLELLIS, R.A.; FRABLE, W.J. **Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology**. New York: Churchill Livingstone, 1997. p.2237-2293.