



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA

DERLY RODRIGUES DE SOUZA

TUMORES GERMINATIVOS COM ÊNFASE EM SEU IMUNODIAGNÓSTICO

Recife
2023

DERLY RODRIGUES DE SOUZA

**TUMORES GERMINATIVOS COM ÊNFASE EM SEU
IMUNODIAGNÓSTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Luciano Tavares Montenegro

RECIFE
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Souza, Derly Rodrigues de.

Tumores germinativos com ênfase em seu imunodiagnóstico / Derly
Rodrigues de Souza. - Recife, 2023.
47 p. : il., tab.

Orientador(a): Luciano Tavares Montenegro
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2023.

1. Tumores Germinativos. 2. Biomarcadores. 3. Diagnóstico. 4. Prognóstico.
5. Neoplasias. I. Montenegro, Luciano Tavares. (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)

DERLY RODRIGUES DE SOUZA

TUMORES GERMINATIVOS COM ÊNFASE EM SEU IMUNODIAGNÓSTICO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Luciano Tavares Montenegro

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares Montenegro
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Patologia

Prof. Dr. Adriana Maria da Silva Telles
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Patologia

Prof. Dr. Déborah Pitta Paraíso Iglesias
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Patologia

Dedico este trabalho à minha família, amigos e todas as pessoas que me apoiaram e incentivaram durante toda a minha caminhada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Tavares Montenegro, que me auxiliou na construção e desenvolvimento deste trabalho. Aos demais professores do curso de Biomedicina, por todos os ensinamentos e correções que tornaram possível um melhor aprendizado e desempenho no meu processo de formação profissional.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco, que se tornou a minha segunda casa e me deu a chance e todas as ferramentas necessárias para a conclusão dessa jornada de maneira satisfatória.

À Deus, pela bênção da vida e por ter me ajudado e conduzido ao longo do curso a ultrapassar todas as adversidades. E também à minha família e amigos, que sempre acreditaram em mim e estiveram me apoiando, auxiliando com tudo que estive ao alcance e compreendendo minha ausência temporária.

“O menor virá a ser mil, e o mínimo,
uma nação forte; eu, o Senhor, a seu
tempo farei isso prontamente.”
(Bíblia: Isaías 60:22)

SOUZA, Derly Rodrigues. **Tumores Germinativos com ênfase em seu imunodiagnóstico**. 2023. 46 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

RESUMO

Os tumores de células germinativas (TCG's) têm origem das células germinativas pluripotentes primordiais. Em sua maioria, se desenvolvem no ovário e no testículo, sendo os extragonadais considerados raros. Os TCG's são um grupo de tumores de caráter bem heterogêneo, por isso, cada caso é avaliado de forma individual pela idade do paciente ao diagnóstico, a localização do tumor, sua histologia e os níveis séricos dos marcadores biológicos. Os tumores ovarianos e testiculares, que serão principalmente abordados neste trabalho, são mais frequentes na população entre 15 e 19 anos, representando 14% dos tumores malignos dentro dessa faixa etária. Já na população infantil, os tumores gonadais e extragonadais de células germinativas são considerados muito incomuns. As causas dos TCG's ainda são desconhecidas e o diagnóstico precoce é de extrema importância, por esse motivo, diversas categorias de marcadores e métodos que utilizam múltiplos biomarcadores têm sido investigados para aumentar a sensibilidade dos testes de diagnóstico e monitoramento. Um estadiamento específico e cuidadoso ao diagnóstico leva a um tratamento precoce adequado com base em uma abordagem multidisciplinar, e juntamente com um acompanhamento rigoroso e início adequado de terapias direcionadas para o tipo de tumor, são fundamentais para resultados bem sucedidos. Por meio de uma revisão narrativa de literatura, foram fornecidas informações úteis sobre os principais marcadores séricos e histopatológicos de tumores germinativos, especificamente de tumores ovarianos e testiculares, contribuindo assim, para a melhoria das estratégias de monitoramento desses tumores. Para o levantamento bibliográfico foram utilizadas principalmente as bases de dados National Library of Medicine and The National Institute of Health (PUBMED) e Scientific Electronic Library Online (SCIELO) com a determinação de um período de 20 anos (2002-2022) em que os artigos foram publicados para filtrar a busca, foram excluídos artigos que estejam fora desse espaço de tempo, bem como artigos incompletos e/ou sem relevância para a pesquisa. Para a análise e desenvolvimento da revisão, foi realizada a leitura completa de todos os artigos selecionados e houve a discussão dos resultados encontrados. Visando assim, agregar informações para melhores perspectivas tanto no diagnóstico específico dos pacientes, como no prognóstico, monitoramento e tratamento mais direcionado.

Palavras-chave: Tumores germinativos. Biomarcadores. Diagnóstico. Prognóstico. Neoplasias.

SOUZA, Derly Rodrigues. **Germ Tumors with emphasis on their immunodiagnosis**. 2023. 46 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

ABSTRACT

Germ cell tumors (GCT's) originate from primordial pluripotent germ cells. They mostly develop in the ovary and testis, with extragonadal ones being considered rare. GCT's are a group of tumors of a very heterogeneous nature, so each case is evaluated individually based on the patient's age at diagnosis, tumor location, histology and serum levels of biological markers. Ovarian and testicular tumors, which will be mainly addressed in this work, are more frequent in the population between 15 and 19 years old, representing 14% of malignant tumors within this age group. In the pediatric population, gonadal and extragonadal germ cell tumors are considered very uncommon. The causes of GCT's are still unknown and early diagnosis is extremely important, for this reason, several categories of markers and methods that use multiple biomarkers have been investigated to increase the sensitivity of diagnostic and monitoring tests. Specific and careful staging at diagnosis leads to adequate early treatment based on a multidisciplinary approach, and together with strict follow-up and adequate initiation of targeted therapies for the tumor type, are fundamental for successful outcomes. Through a narrative literature review, useful information was provided on the main serum and histopathological markers of germ tumors, specifically ovarian and testicular tumors, thus contributing to the improvement of monitoring strategies for these tumors. For the bibliographic survey, the National Library of Medicine and The National Institute of Health (PUBMED) and Scientific Electronic Library Online (SCIELO) databases were used, with the determination of a period of 20 years (2002-2022) in which the articles were published to filter the search, articles that are outside this time frame were excluded, as well as incomplete articles and/or without relevance to the research. For the analysis and development of the review, all selected articles were read in full and the results found were discussed. Thus, aiming to add information for better perspectives both in the specific diagnosis of patients, as well as in prognosis, monitoring and more targeted treatment.

Key words: Germ tumors. Biomarkers. Diagnosis. Prognosis. Neoplasms.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tipos histológicos de tumores germinativos ovarianos e biomarcadores sorológicos de câncer associados. -----	27
Tabela 2 – Principais marcadores histoloquímicos em diferentes tipos histológicos de OMGCTs. -----	27

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 – Esquema de suposta origem dos vários tipos de tumores de células germinativas. -----	14
Figura 2 – Esquema da histogênese dos tumores germinativos testiculares em relação ao desenvolvimento normal das células germinativas. -----	16
Figura 3 – Disgerminoma Ovariano. -----	26
Figura 4 – Histologia de um Disgerminoma Ovariano. -----	26
Figura 5 – Teratoma Ovariano Imaturo com diferenciação neuroectodérmicas. -	29
Figura 6 – Tumor de Saco Vitelínico Ovariano. -----	30
Figura 7 – Histologia de um Tumor de Saco Vitelínico Ovariano. -----	30
Figura 8 – Características macroscópicas e microscópicas de um tumor de saco vitelínico em paciente de 67 anos. -----	31
Figura 9 – Níveis de hPLAP em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes com tumor escrotal benigno. -----	38
Figura 10 – Curva ROC de sensibilidade por especificidade para os marcadores hPLAP, AFP, hCG e a combinação dos três. -----	39
Figura 11 – Imunomarcacão de neoplasias germinativas in situ em biópsias de testículos. -----	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFP - Alfa-fetoproteína

ANOVA - Cálculo de Intervalos de Confiança e Análise de Variância.

ASCO - Sociedade Americana de Oncologia Clínica

BRCA - Gene do Câncer de Mama

CA125 - Antígeno glicosídeo CA125

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

EGC - Célula Germinativa Embrionária Pluripotente

ESMO - Sociedade Européia de Oncologia Médica

FIGO - Federação Internacional de Obstetrícia e Ginecologia

FSH - Hormônio Folículo Estimulante

GCNIS - Neoplasia de Células Germinativas in situ

GPC3 - Proteína codificada pelo gene GPC3

GPR30 - Receptor 1 de estrogênio acoplado à proteína G

hCG - Gonadotrofina Coriônica Humana

hCG-h - Gonadotrofina Coriônica Humana hiperglicosilada

HMGA1 - Proteína codificada pelo gene humano HMGA1

HMGA2 - Proteína codificada pelo gene humano HMGA2

hPLAP - Fosfatase Alcalina Placentária Humana

IGCCCG - Grupo Colaborativo Internacional de Câncer de Células Germinativas

LDH - Lactato Desidrogenase

LDH-1 - Isoenzima 1 da Lactato Desidrogenase

LH - Hormônio Luteinizante

miRNA - micro Ácido Ribonucleico

NACB - Academia Nacional de Bioquímica Clínica

OCT3 - Transportador de Cátions Orgânicos 3

OCT4 - Transportador de Cátions Orgânicos 4

OMGCT - Tumores Ovarianos Malignos de Células Germinativas

PATZ1 - Proteína codificada em humanos pelo gene PATZ1

PGC - Célula Germinativa Primordial

RNA - Ácido Ribonucleico

ROC - Características Operacional do Receptor

ROCA - Algoritmo de Risco de Câncer de Ovário

SOX17 - Proteína codificada em humanos pelo gene SOX17

SOX2 - Gene Fator de Transcrição SOX2

TCG - Tumor de Células Germinativas

TCGO - Tumor de Células Germinativas Ovarianas

TCGT - Tumor de Células Germinativas Testiculares

TIN - Neoplasia Intraepitelial Testicular

TNM - Sistema Tumor Nódulo Metástase

TSV - Tumor de Saco Vitelino

β -hCG - Subunidade beta da Gonadotrofina Coriônica Humana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Tumores Ovarianos de Células Germinativas (OMGCTs)	18
2.2 Tumores Testiculares de Células Germinativas (TCGTs)	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4 METODOLOGIA	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Os tumores de células germinativas (TCG's) têm origem nas células germinativas pluripotentes primordiais. Eles podem ser gonadais ou extragonadais, desses últimos, os tipos mais comuns são o sacrococcígeo, o retroperitônio, o mediastino e o sistema nervoso central. Em sua maioria, se desenvolvem no ovário, compreendendo 30% das neoplasias ovarianas, e nos testículos, compreendendo 95% das neoplasias testiculares, sendo os extragonadais considerados raros. (CRU, 2022; INCA, 2022; ZYNGER, 2010).

Os TCG's são um grupo de tumores de caráter heterogêneo, são histologicamente diversos, por isso, têm diferentes prognósticos e tratamentos, cada caso é avaliado de forma individual pela idade do paciente ao diagnóstico, a localização do tumor, sua histologia e os níveis séricos dos marcadores biológicos. (INCA, 2022; ZYNGER, 2010)

Representadas na figura 1, estão as possíveis origens dos TCGs, o desenvolvimento normal das células germinativas, a partir de uma célula germinativa primordial (PGC), resultando em um oócito (feminino) ou espermatozóide (masculino). Durante esse processo, o padrão biparental de impressão genômica é removido, enquanto um padrão uniparental é estabelecido, seja feminino ou masculino. Os TCGs de tipo I e II são encontrados com maior frequência, os de tipo I compreendem os teratomas e tumores de saco vitelínico, e os de tipo II englobam os disgerminomas ou seminomas e os não seminomas. A origem dos tumores tipo I é uma PGC em locais extragonadais, ou um gonócito nas gônadas que sofreu reprogramação imediata para se tornar uma célula germinativa embrionária pluripotente (EGC). Provavelmente, nesses tipos a célula de origem esteja em meiose I parada, como ilustrado ainda na figura I. (OOSTHERHUIS, 2005)

Os tumores de células germinativas do tipo II se originam apenas quando o microambiente favorece a sobrevivência e a proliferação de PGCs, ou seja, nas gônadas, no timo e na glândula pineal/hipotálamo/hipofisária. Nesses locais, o tumor padrão é um seminoma ou disgerminoma/germinoma. Os não seminomas são o resultado da reprogramação de uma célula tumoral seminomatosa para uma célula de carcinoma embrionário pluripotente (CEC). (OOSTHERHUIS, 2005)

O desenvolvimento feminino e masculino apresentam momentos diferentes do início da meiose. As células germinativas femininas entram em meiose durante o

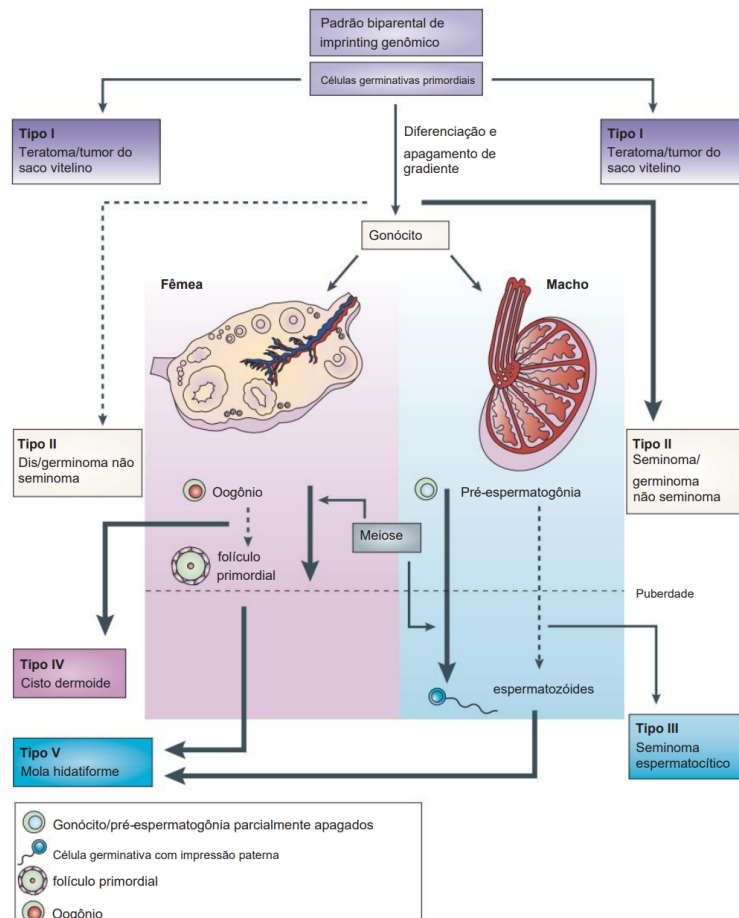
desenvolvimento intra-uterino (11–12 semanas de gestação), enquanto que para as células germinativas masculinas isso só acontece após o início da puberdade. Isso poderia explicar a diferença na incidência dos GCTs gonadais tipo II entre mulheres e homens. (OOSTHERHUIS, 2005)

De fato, o número de células-alvo (PGCs/gonócitos) para iniciação é significativamente menor nas mulheres em comparação com os homens. Por outro lado, as células-alvo para os GCTs tipo I são mais frequentes no ovário do que nos testículos, onde não ocorrem além da infância. Os tumores de tipo III são os seminomas espermatócitos, são originados de células germinativas masculinas, que sofreram imprinting paterno. Os GCTs tipo IV, os cistos dermóides, são originados mais frequentemente de células germinativas meióticas no ovário que sofreram imprinting materno. Os tumores do tipo V se originam de células germinativas masculinas maduras completamente impressas paternalmente e compreendem as molas hidatiformes. (OOSTHERHUIS, 2005)

Os tumores ovarianos e testiculares são mais frequentes na população entre 15 e 19 anos, onde representam 14% dos tumores malignos dentro dessa faixa etária. Já na população infantil, os tumores gonadais e extragonadais de células germinativas são considerados raros, correspondendo a cerca de 3% dos tumores malignos diagnosticados. (INCA, 2022).

Os tumores de células germinativas ovarianos (TCGO) são raros e geralmente afetam mulheres jovens de até 30 anos de idade, esses tumores podem ser benignos ou malignos. Dos benignos, há o teratoma maduro que é o tipo mais comum dos TCGO, é mais comum em mulheres em idade reprodutiva. Já os tumores malignos correspondem a cerca de 1 ou 2% dos cânceres de ovário e incluem os teratomas imaturos, disgerminomas, tumores de saco vitelino, coriocarcinomas e carcinomas embrionários. Mulheres com mutação BRCA têm risco aumentado de câncer. (CRU, 2022; LENTZ, 2020; RAY-COQUARD, 2018;)

Figura 1 – Esquema de suposta origem dos vários tipos de tumores de células germinativas.



Fonte: Adaptado de OOSTHERHUIS, 2005.

No painel do meio, há a representação do desenvolvimento normal das células germinativas, a partir de uma célula germinativa primordial (PGC), contendo de origem, um padrão biparental de imprinting genômico e resultando em um oócito (feminino) ou espermatozóide (masculino). Seguindo as setas, é possível observar como ocorre o processo normal e em que etapa do processo ocorre a formação de cada tipo tumoral.

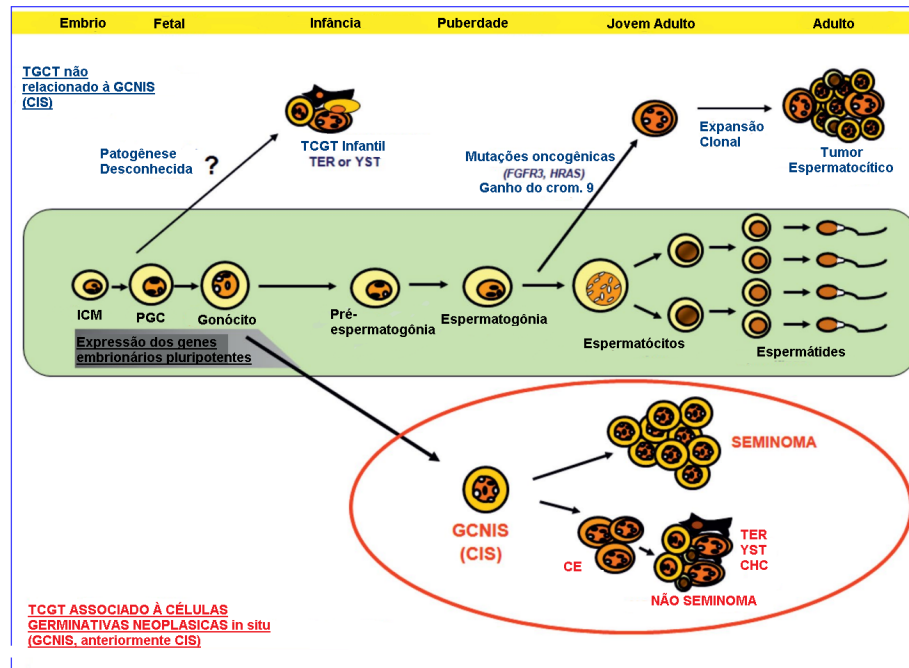
Já os tumores de células germinativas (TCGT) correspondem à maioria dos cânceres testiculares. Podem se desenvolver a partir de neoplasias de células germinativas, desses é previsto que cerca de 50% dos homens desenvolverão câncer em 5 anos, esses tumores geralmente se desenvolvem após a puberdade e são classificados em seminomas e não seminomas. Há também tumores que apresentam uma mistura de células seminomas e não seminomas, sendo chamados de tumores mistos de células germinativas, e, pelos médicos, são tratados da mesma forma que tumores não seminomas. (CRU, 2022; LAGUNA, 2021)

Os tumores de células germinativas em homens ocorrem em três faixas etárias, segundo estudo de Meyts et al, e, em cada faixa etária, os tumores são derivados de um estágio diferente do desenvolvimento das células germinativas, conforme pode ser observado na figura 2. É importante para a compreensão da patogênese do TGCT derivado do GCNIS que, embora a maioria dos pacientes sejam homens normalmente virilizados, essas neoplasias estão associadas a um desenvolvimento inicial perturbado do testículo, que muitas vezes é manifestado na idade adulta como aglomerados de túbulos mal formados, células de Sertoli diferenciadas, microlitíase e micronódulos de células de Leydig. (MEYTS, 2015)

Entre os fatores de risco para GCNIS/TGCT, estão o criptorquidismo, malformações genitais, baixa porcentagem de aneuploidia de cromossomos sexuais e algumas formas de infertilidade também estão ligados ao desenvolvimento fetal perturbado, portanto, todas essas condições foram agrupadas na síndrome de disgenesia testicular (TDS). A incidência de TGCT e alguns outros distúrbios TDS têm aumentado em todo o mundo, o que sugere um forte componente ambiental na patogênese, mas combinado com suscetibilidade genética. (MEYTS, 2015)

A figura 2 ilustra, na parte central sombreada de verde, o desenvolvimento normal das células germinativas. Na parte superior, há a representação dos TGCT raros não relacionados com neoplasia de células germinativas in situ (GCNIS), do TGCT infantil e do tumor espermatocítico. Na parte inferior, dentro do círculo vermelho, há a representação dos TGCTs mais comuns derivados de células germinativas fetais, os gonócitos, através do estágio de GCNIS. (MEYTS, 2015)

Figura 2 - Esquema da histogênese dos tumores germinativos testiculares em relação ao desenvolvimento normal das células germinativas.



Fonte: MEYTS, 2015.

Esquema representando a histogênese dos tumores testiculares de células germinativas em relação ao desenvolvimento normal das células germinativas de acordo com as etapas maturativas. O passo a passo do desenvolvimento normal das células germinativas é exibido na parte central sombreada em verde da figura. Na parte superior da imagem, são apresentados o TCGT infantil e tumor espermatocítico. Na parte inferior, dentro do círculo vermelho, estão os TGCT mais comuns representados por abreviaturas, CHC - coriocarcinoma; CE - carcinoma embrionário; ICM - massa celular interna; PGC - célula germinativa primordial; TER - teratoma; YST - tumor do saco vitelino.

Os tumores seminomas puros correspondem a cerca de 55 a 60% dos TCGT, a maioria dos outros tumores são não seminomas. Os não seminomas podem se desenvolver a partir de apenas um tipo de célula ou a partir de uma mistura de tipos de células, os mais comuns são o teratoma, o carcinoma embrionário, o coriocarcinoma e tumores do saco vitelino. (OLDENBURG et al, 2022).

Os cânceres testiculares que não se desenvolvem a partir de células neoplásicas, incluem principalmente os teratomas e tumores do saco vitelino do tipo pré-púbere, que tendem a ser menos agressivos que os pós-púberes e são menos propensos a se espalharem ou reincidirem, e os tumores espermatocíticos, que geralmente são diagnosticados em homens mais velhos que os outros tipos de

câncer testiculares, tendem a ser menos agressivos e se comportam diferente dos seminomas e não seminomas. (OLDENBURG et al, 2022).

As causas dos TCG's ainda são desconhecidas e o diagnóstico precoce é de extrema importância. A presença de um tumor de linha média nos sítios primários direciona para o diagnóstico de um tumor germinativo. Os sintomas variam de acordo com a localização do tumor podendo incluir volumosas massas exofíticas, massas tumorais dores ou indolores, distensão e desconforto abdominal. Há evidências de que em 20% dos casos ocorre metástase, geralmente no pulmão. (INCA, 2022)

O tratamento também deve ser individualizado, se baseando na idade do paciente, no local de origem tumoral, bem como tipo histológico, ressecabilidade e estadiamento. Em casos de tumores volumosos, é utilizada a quimioterapia neoadjuvante como abordagem inicial para reduzir a morbidade cirúrgica. A cirurgia é o principal método de tratamento utilizado para tratar tumores benignos e malignos e a quimioterapia também pode ser utilizada como terapia complementar no pós-cirúrgico. (INCA, 2022; CRU, 2022)

Um estadiamento específico e cuidadoso ao diagnóstico, leva a um tratamento precoce adequado com base em uma abordagem multidisciplinar, e juntamente com um acompanhamento rigoroso e início adequado de terapias direcionadas para o tipo de tumor, são fundamentais para resultados bem-sucedidos. (LAGUNA, 2021)

Para o diagnóstico precoce dos tumores germinativos, diversas categorias de marcadores têm sido investigados. São substâncias que podem ser detectadas e quantificadas no sangue ou outros fluidos orgânicos de pacientes portadores de neoplasias. Entre as principais categorias estão as sialomucinas epiteliais; proteases com seus inibidores complementares e produtos de clivagem; citocinas, receptores e reagentes de fase aguda; hormônios, fatores promotores e inibidores de crescimento; citoqueratinas; lípidos e lipoproteínas; proteínas oncofetais; autoanticorpos; e os perfis proteômicos. Estas substâncias podem ser utilizadas isoladamente ou em combinação. (REIS, 2005)

Diante das informações expostas, o presente estudo visou realizar uma revisão de literatura sobre os principais biomarcadores tumorais utilizados no imunodiagnóstico e acompanhamento evolutivo dos tumores germinativos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TUMORES OVARIANOS DE CÉLULAS GERMINATIVAS (OMGCTs)

Os TGCs constituem cerca de 20 a 25% de todas as neoplasias ovarianas, segundo Shaaban et al (2014), no qual 5% delas correspondem a neoplasias malignas e os outros 95% correspondem a teratomas císticos maduros benignos. Os tumores malignos de células germinativas mais frequentes incluem respectivamente os disgerminomas, os teratomas imaturos, tumores do saco vitelino e tumores mistos de células germinativas. Outros que ocorrem com menos frequência são os carcinomas embrionários, coriocarcinomas e os tumores malignos de Struma Ovarii. (SHAABAN, 2014)

Os OMGCTs constituem cerca de 2,6% das neoplasias ovarianas malignas e as neoplasias epiteliais ovarianas constituem cerca de 95%. Existem algumas diferenças clínicas consideráveis entre eles, os OMGCTs tendem a ser grandes ao diagnóstico e progridem de forma rápida, geralmente se manifestam na adolescência, entre 15 e 19 anos, com dor abdominal em 87% dos casos e uma massa abdominal em 85% dos casos. Cerca de 10% das pacientes apresentam abdome agudo resultante de torção, hemorragia ou ruptura tumoral, sendo mais comum em tumores do saco vitelino ou tumores mistos de células germinativas. E os sintomas menos comuns são distensão abdominal, febre e sangramento vaginal. Os sintomas duram em média de 2 a 4 semanas. (SHAABAN, 2014)

Na maioria dos casos os OMGCTs são unilaterais, mas em cerca de 4,3% dos casos pode ser encontrado bilateralmente, estes últimos são mais comuns em disgerminomas e em tumores mistos de células germinativas com linhagens celulares de noma não disgerminácea puro. Raramente os pacientes apresentam manifestações endócrinas resultantes da produção de hormônios pelas células tumorais, incluindo irregularidades menstruais e precocidade isossexual, que tem como resultado a secreção de hCG ou síndrome carcinóide de secreção de serotonina. (SHAABAN, 2014)

Os marcadores tumorais se elevam a depender dos componentes teciduais dos OMGCTs. Eles são muito importantes para o diagnóstico inicial, para o monitoramento terapêutico e pós-tratamento. Níveis elevados de AFP e de hCG devem ser medidos em todas as mulheres jovens que apresentam uma massa

pélvica, pois em níveis elevados praticamente diagnosticam as pacientes de OMGCTs. (SHAABAN, 2014)

Devido à presença de células gigantes sinciciotrofoblásticas multinucleadas, em 5% dos casos, os disgerminomas produzem baixos níveis de hCG, eles também ocasionalmente produzem LDH. Tanto o carcinoma embrionário quanto o poliembrioma podem produzir AFP, e, mais comumente, hCG. As concentrações séricas de AFP são consideravelmente elevadas no momento do diagnóstico na maioria dos teratomas ovarianos imaturos com focos de tumor de saco vitelino e ocasionalmente são levemente elevadas em teratomas imaturos sem tumor de saco vitelino. Os tumores mistos de células germinativas podem secretar hCG, AFP ou ambos, dependendo dos componentes. Aproximadamente 88% dos tumores de células germinativas ovarianas apresentam os níveis da LDH-1 e da LDH sérica aumentados. (SHAABAN, 2014)

Reconhecer e diferenciar os subtipos de TCG algumas vezes pode parecer um desafio. O tumor de saco vitelino, em particular, possui uma variedade de padrões de crescimento, que podem ser interpretados de forma errada ou confundidos com outros tipos ou componentes de tumores de células germinativas. Em um tumor primário de saco vitelino, geralmente há o crescimento em conjunto com o teratoma maduro, então, uma interpretação incorreta pode levar erroneamente a um diagnóstico benigno, alterando o prognóstico e o manejo clínico, por exemplo. Por esse motivo, surgiram estudos avaliando a sensibilidade de marcadores para a detecção desse tipo de tumor e seus vários padrões de crescimento, mostrando resultados muito positivos. (ZYNGER, 2010)

Existem dois sistemas de estadiamento para OMGCTs: o sistema tumor, nódulo, metástase (TNM) e o sistema cirúrgico mais comumente usado da Federação Internacional de Obstetrícia e Ginecologia (FIGO). Ambos os sistemas incorporam os padrões mais comuns de disseminação tumoral, incluindo invasão direta das estruturas pélvicas circundantes e extensão além da pelve por meio de disseminação intraperitoneal, linfática ou hematogênica. Embora os OMGCTs sejam estadiados cirurgicamente, a imagem pré operatória pode ser usada para identificar extensão local, doença peritoneal e metástases à distância. Áreas suspeitas podem ser amostradas durante a cirurgia. (SHAABAN, 2014)

A disseminação linfática é o modo de disseminação mais comum entre os OMGCTs. Tanto os tumores do saco vitelínico quanto os carcinomas embrionários

metastatizam precocemente, principalmente através do sistema linfático. Já os disgerminomas se espalham tardiamente e isso também ocorre principalmente através do sistema linfático. Quando há a ruptura do tumor, pode haver o derramamento do conteúdo tumoral e implantação peritoneal extensa. (SHAABAN, 2014)

Os tumores do saco vitelino são altamente malignos e frequentemente invadem as estruturas circundantes, com extensa disseminação dentro da cavidade abdominal. Os teratomas císticos imaturos também possuem a capacidade de metastizar, pela via linfática, e se implantar em toda a cavidade peritoneal. Os coriocarcinomas, por sua vez, também são altamente malignos e localmente invasivos, espalham-se extensivamente por toda a cavidade abdominal e metastatizam precocemente. (SHAABAN, 2014)

Nos últimos 40 anos foram feitos avanços significativos no tratamento de pacientes com OMGCTs. Estudos sobre essa classe de tumores são difíceis porque são raros, mas sua semelhança com o câncer testicular permitiu aos pesquisadores que se baseassem e explorarem novos tratamentos. (SHAABAN, 2014)

A introdução da quimioterapia à base de platina para o tratamento de pacientes com OMGCTs melhorou em 100% as taxas de sobrevivência para portadores da doença no estágio inicial e em 75% para os portadores da doença em estágio avançado. Com exceção daqueles com teratoma imaturo estágio I e disgerminoma estágio Ia, todos os pacientes são submetidos a quimioterapia adjuvante. O sucesso da quimioterapia à base de platina permite que o monitoramento seja uma opção em pacientes com esses subtipos em estágio inicial, com excelentes taxas de salvamento em casos de recorrência. O alto grau de quimiossensibilidade também afeta a cirurgia, fazendo com que haja menos complicações na ressecção dos tumores em locais de difícil manipulação. O regime quimioterápico padrão em todos os estágios da doença consiste em bleomicina, etopo e cisplatina. (SHAABAN, 2014)

O estágio FIGO, tipo e grau histológico do tumor, marcadores tumorais e doença residual são os indicadores mais importantes do prognóstico. Um estágio FIGO avançado e um tipo histológico de noma não disgermínico ou teratoma imaturo estão associados a um alto risco de falha no tratamento. Um tipo histológico de saco vitelino é um indicador de mau prognóstico, bem como níveis elevados de marcadores tumorais pré-operatórios e tumor residual após cirurgia citoredutora

inicial e quimioterapia. O número de implantes e o volume total do tumor residual também são importantes. Preditores importantes de recorrência são idade superior a 45 anos e tratamento fora de um centro de referência. (SHAABAN, 2014)

2.2 TUMORES TESTICULARES DE CÉLULAS GERMINATIVAS (TCGTs)

Compõem o tipo de câncer mais frequente em pacientes entre 20 e 40 anos de idade. Embora sejam altamente malignos, os tumores testiculares, possuem taxas de cura muito altas, os classificando como um dos tipos de tumores sólidos mais tratáveis atualmente, isso devido à combinação cada vez mais otimizada de técnicas cirúrgicas, com a quimioterapia e radioterapia adicionais de acordo com o subtipo histológico e o estágio do tumor. A taxa de cura para tumores testiculares é superior a 90%. (NEUMANN, 2011)

Dos principais biomarcadores encontrados, há o LDH, que catalisa a redução de piruvato a lactato quando está presente o dinucleótido de nicotinamida adenina (NADH) reduzido. O citoplasma de todas as células vivas contém essa enzima. Para as células germinativas testiculares, o piruvato pode ser uma fonte de energia especialmente importante, por esse motivo, o LDH é um marcador tumoral útil para pacientes com TGCT. (EYBEN, 2003)

Em 1964, foi relatado por Zondag o padrão da isoenzima LD em mais de 200 pacientes com diferentes tipos de câncer, houve a descoberta de que pacientes com seminoma e disgerminoma tinham um padrão típico da isoenzima LD com um nível relativamente alto de LDH-1. Pacientes com outros os cânceres possuíam dois padrões diferentes de isoenzimas LD, sendo um com aumento predominante das isoenzimas LD intermediárias, LD-2 a LD-4, e outro com aumento predominante de LD-5 quando as metástases causavam danos ao fígado. Em um estudo posterior, de 1983, em pacientes com TGCT metastático foi exibido um grande aumento nos níveis de LDH-1. Tanto o LDH quanto o LDH-1 se correlacionaram com a carga tumoral e ambos previam a sobrevida, sendo úteis também ao prognóstico. (EYBEN, 2003)

A AFP, é outro marcador frequente, tanto para OMGCTs quanto TGCTs, é uma glicoproteína de cadeia simples, seu gene está localizado no cromossomo 4 na região 4q11-q13. Na gravidez, a AFP é produzida pelo endoderma do saco vitelino, uma estrutura extraembrionária. A maioria dos homens adultos normalmente apresentam a dosagem de AFP na faixa de 2 a 16 µg/L, porém, 1% deles, sem

distúrbios clinicamente evidentes, possuem AFP elevada. 50 a 60% dos pacientes com tumores não-seminoma metastáticos têm valores elevados da AFP, enquanto esse aumento é incomum para pacientes com seminoma, assim, a maioria dos oncologistas toma um AFP elevado como um indicador de um tumor não-seminoma. (EYBEN, 2003)

Em grávidas, o β -hCG é hormônio glicoproteico sintetizado nas células sincitiotrofoblásticas da placenta. Da mesma forma, pacientes com TCGs podem apresentar níveis elevados de hCG quando apresentam células gigantes sincitiotrofoblásticas, pois marca o citoplasma desse tipo celular, como em seminomas, bem como elementos de coriocarcinoma em tumores não seminomatosos e outros tipos tumorais. O hCG é composto por duas subunidades, a alfa e a beta, a alfa é idêntica à subunidades do LH, FSH e TSH, portanto, não é específica. Já a subunidade beta é única na família de hormônios glicoproteicos contendo beta. Em relação aos pacientes com TGCT metastático, 15 a 20% daqueles com seminoma e 30 a 60% daqueles com não seminoma têm um β -hCG elevado. (EYBEN, 2003)

Estudos apontam também o hPLAP como um marcador com bons níveis de especificidade na marcação de tumores testiculares de células germinativas. É uma isoforma fetal da enzima fosfatase alcalina, que está sempre presente em adultos e catalisa a clivagem de fosfato inorgânico de ésteres de fosfato. É produzido a partir do segundo trimestre nos sincitiotrofoblastos de mulheres grávidas, mas também em pequenas quantidades pelos pulmões, tireóide, intestinos e testículos. A meia-vida sérica normal de hPLAP após o descolamento do testículo é entre 0,6 e 2,8 dias, com meias-vidas mais longas com a expressão de aumento da carga tumoral, indicando estágios avançados da doença. É um marcador tumoral que é geralmente detectado no soro por imunoensaios enzimáticos específicos. (NEUMANN, 2011)

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Por meio de uma revisão sistemática de literatura, fornecer informações úteis que contribuirão para a melhoria das estratégias de monitoramento dos pacientes com tumores germinativos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Abordar e atualizar sobre os principais biomarcadores utilizados no diagnóstico de tumores germinativos, sendo eles especificamente para tumores ovarianos e tumores testiculares, abordando particularidades, bem como o valor diagnóstico e prognóstico deles.

4 METODOLOGIA

A abordagem do tema no presente estudo foi feita por meio de uma revisão de literatura narrativa. Para o levantamento bibliográfico foram utilizadas as bases de dados National Library of Medicine and The National Institute of Health (PUBMED) e Scientific Electronic Library Online (SCIELO). Foi utilizado também, o site Descritores em Ciências da Saúde, desenvolvido pela Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), para a busca de descritores específicos e palavras-chave em Português e Inglês para que a busca de artigos acadêmicos, nessas línguas, fosse mais precisa e ordenada. Foi utilizado o operador booleano AND como método na busca, utilizando os descritores encontrados, sendo eles principalmente o tipo e localização tumoral e os biomarcadores em geral ou específicos, por exemplo: Ovarian dysgerminoma biomarkers; Ovarian and dysgerminoma and LDH; Ovarian and dysgerminoma and Gonadotropin; Immature teratoma and ovarian and biomarkers. Com a determinação de um período de aproximadamente 20 anos (2002-2022) em que os artigos tenham sido publicados para filtrar a busca, foram excluídos artigos que estejam fora desse espaço de tempo. Foram excluídos também, artigos incompletos e/ou sem relevância para a pesquisa, para a seleção destes, foi realizada a leitura dos resumos na busca por conteúdos pertinentes para o tema. Para a análise e desenvolvimento da pesquisa, foi realizada a leitura completa dos artigos selecionados e houve discussão dos resultados encontrados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para ser considerado útil clinicamente, um marcador tumoral sérico deve preencher vários critérios. As suas medições no sangue devem ajudar a diagnosticar a presença de tumor ativo em um indivíduo e os níveis presentes devem refletir a extensão do tumor. Os pacientes devem ter valores elevados desses marcadores quando o tumor estiver presente, esse número deve diminuir à medida que haja a regressão do tumor e consequentemente voltar ao normal à medida que o tumor é removido, caso haja recidiva desse tumor, os níveis voltam a aumentar. No entanto, nenhum dos marcadores tumorais estabelecidos preenche todos os critérios. (EYBEN, 2003)

Os principais marcadores séricos de tumores de células germinativas são a alfafetoproteína (AFP), a subunidade beta da gonadotrofina coriônica humana (β -hCG) e a lactato desidrogenase (LDH). É prática de rotina medir esses três marcadores tumorais séricos no pré-operatório em qualquer mulher com menos de 40 anos com suspeita de câncer de ovário. Mesmo com o fato de que os níveis de AFP ou hCG sejam elevados em 85% dos pacientes, nos que apresentam doença em estágio 1 eles são elevados apenas em 20% dos pacientes, o que torna o seu papel limitado na triagem. (AGGARWAL, 2010)

A AFP é utilizada para marcação tumoral em tumores de saco vitelino, carcinomas embrionários, poliembrioma e teratomas imaturos, entretanto, não é considerado um marcador específico para OGCTs, pois seus níveis também se encontram aumentados em doenças hepáticas benignas, como hepatite. A AFP é empregada rotineiramente na tomada de decisões clínicas, seus altos níveis estão também associados à ressecção incompleta do tumor e maior morbidade. (AGGARWAL, 2010)

A subunidade beta da gonadotrofina coriônica humana (hCG) está elevada em tumores contendo elementos coriocarcinomatosos, incluindo o carcinoma de cório, o carcinoma embrionário, o poliembrioma e os tumores de células germinativas de tipo misto. O β -hCG é rotineiramente utilizado no acompanhamento do pós-tratamento para monitorar a resposta terapêutica e também é considerado um marcador de recidiva da doença. Como esses tumores estão mais comumente

presentes em mulheres em idade reprodutiva, a gravidez pode reduzir a utilidade deste marcador tumoral sérico. (AGGARWAL, 2010)

Medições do biomarcador LDH também são úteis no monitoramento das respostas terapêuticas e na detecção de recorrência da doença. Na prática de rotina, o LDH não é usado para identificação de OGCTs, embora possa ser extremamente útil no monitoramento de pacientes em que AFP e a β -hCG não são produzidos pelas células tumorais. (AGGARWAL, 2010)

Em um de seus trabalhos, von Eyben relatou que o nível de LDH apresentava correlação com a extensão da massa tumoral total e seguia suas mudanças no curso clínico da doença. Pacientes com LDH elevado apresentaram uma sobrevida menor do que pacientes com o nível de LDH normal. Houve então uma análise multivariada dos fatores de risco que confirmou que o LDH previu a sobrevida de forma significativa e independente, o tornando apto como marcador para esse tipo de tumor. (EYBEN, 2003)

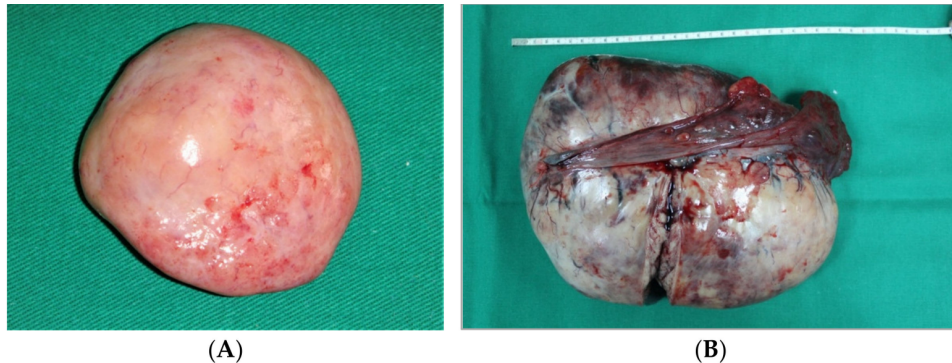
Uma revisão sistemática, posteriormente, em 1983 mostrou que os pacientes com TGCT metastático frequentemente possuíam níveis de LDH elevados. Assim, a revisão recomendou que os pacientes com TGCT deveriam ser monitorados com LDH, e o grande estudo colaborativo internacional adicionou o uso de AFP e hCG à recomendação. Estes três marcadores tumorais séricos, além dos tumores testiculares e ovarianos, também são úteis tumores de células germinativas extragonadaes, sendo os principais para esses grupos tumorais. É possível observar na tabela 1 e 2 os principais marcadores utilizados e estudados para o diagnóstico dos OMGCTs em diferentes tipos histológicos. (EYBEN, 2003)

Os disgerminomas são o tipo de OMGCT mais comum, correspondendo a cerca de 32,8% a 37,5% desse grupo. A faixa etária dos casos relatados variam entre 7 meses a 70 anos, porém, a maioria dos casos (80-85%) ocorre na adolescência e início da fase adulta, em pacientes com menos de 30 anos. A maioria das pacientes com esse tipo de tumor apresentam sintomas, contando com dor, inchaço e distúrbios menstruais. Os disgerminomas puros não secretam hormônios, mas 5% desses tumores podem apresentar blastos sinciciotróficos, que produzem hCG. A desidrogenase láctica e a fosfatase alcalina sérica costumam estar também elevadas, porém de forma inespecífica. (SHAABAN, 2014)

Macroscopicamente, conforme a figura 3, os disgerminomas são tumores bem encapsulados, firmes e sólidos, com contornos bosselados, superfície lisa e

coloração branco-acinzentada, podendo algumas vezes apresentar vasos visíveis em sua superfície. Os diâmetros variam entre 5 e 15 cm. Raramente, tumores grandes podem vir a ter complicações com torção e adesão inflamatória às estruturas circundantes. (GICA, 2022)

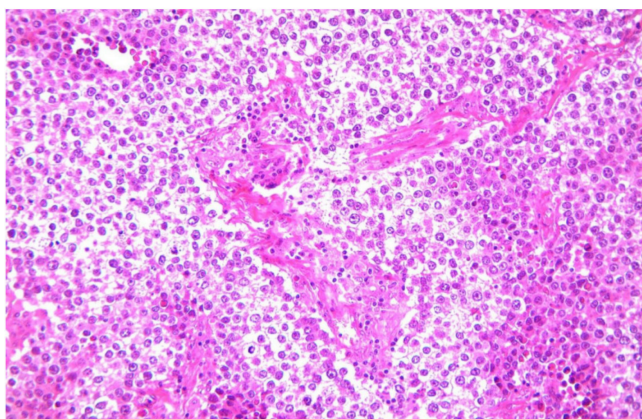
Figura 3 - Disgerminoma ovariano.



Fonte: GICA et al, 2022.

Microscopicamente, como apresentado na figura 4, os disgerminomas são compostos por uma população celular monótona. As células se assemelham a células germinativas primordiais que crescem em ilhas. As células tumorais têm uma forma redonda ou poligonal, seu citoplasma cora de pálido a eosinofílico e possui membranas celulares discretas, que são cercadas por tecido conjuntivo contendo linfócitos, principalmente linfócitos de células T. Os núcleos são grandes, arredondados e tipicamente centrais ou ligeiramente excêntricos, e podem conter um ou mais nucléolos proeminentes. Na imuno-histoquímica, as células são fortemente positivas para PLAP, kit CD117/ c, OCT4 e D2-40. (GICA, 2022)

Figura 4 - Histologia de um Disgerminoma Ovariano.



Fonte: GICA, 2022.

Vários artigos documentaram aumento dos níveis séricos de β -hCG em pacientes com diagnóstico de disgerminoma ovariano, que juntamente com a elevação dos níveis séricos de AFP também foram considerados preditores significativos de sobrevida global em tumores de células germinativas ovarianas. (CORMIO, 2018)

Tabela 1 - Tipos de tumores germinativos ovarianos e biomarcadores sorológicos de câncer associados	
Disgerminoma	β hCG e LDH
Tumor de seio endodérmico	AFP
Teratoma imaturo	AFP, LDH
Carcinoma embrionário	AFP, LDH
Coriocarcinoma	β hCG e LDH
Tumor de células mistas	AFP, β hCG e LDH

Fonte: Adaptado de AGGARWAL, 2010.

Tabela 2 - Principais marcadores histoquímicos em diferentes tipos histológicos de OGCTs.

	Sall4	OCT3/4	CD30	CD117	D2-40	AFP	Glypican-3
Disgerminoma	+	+	-	+	+	-	-
Tumor de saco vitelino	+	-	-	-	-	+	+
Carcinoma embrional	+	+	+	-	-	+/-	-
+ presente e - ausente							

Fonte: GICA et al, 2022.

O teratoma imaturo é considerado o segundo OMGCT mais comum, correspondendo a 35,6% a 36,2% de todos os casos. É responsável por 30% das

mortes por câncer de ovário em mulheres com menos de 20 anos. Seu pico de incidência é entre os 15 e 19 anos de idade, raramente ocorrendo na menopausa. (SHAABAN, 2014)

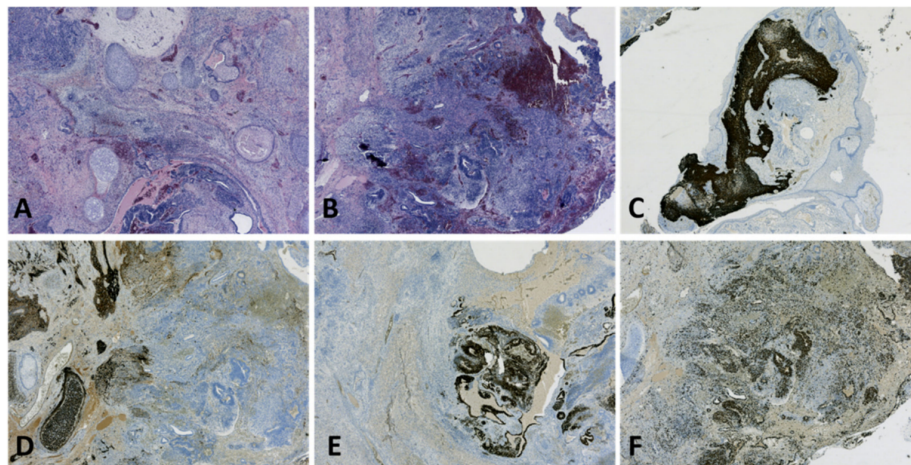
No tamanho, um teratoma imaturo é muito maior do que um teratoma cístico maduro, variando de 14 a 25 cm a 7 cm. Um teratoma imaturo é um tumor sólido ou tem uma estrutura mista contendo pequenos cistos. Esses cistos contêm fluido seroso ou mucinoso ou conteúdo sebáceo gorduroso. Eles têm uma cor marrom acinzentada e uma consistência carnuda. A superfície de um IT tem aspecto variegado devido à hemorragia e necrose, podendo ser redondo, ovóide ou lobulado, às vezes com superfície externa irregular ou rompida. (GICA, 2022)

Na microscopia, a maioria dos tumores consiste em uma mistura variável de elementos maduros e imaturos, em vários estágios de imaturidade. Elementos imaturos podem se originar em qualquer uma das três camadas embrionárias. O elemento imaturo mais comum é o neuroepitélio, de origem neuroectodérmica, que é o tecido imaturo mais fácil de reconhecer e quantificar para efeitos de classificação. O neuroepitélio é composto predominantemente por pequenos neuroblastos azuis, rosetas neuroepiteliais primitivas e túbulos revestidos por células colunares com núcleos hipercromáticos estratificados com alta relação núcleo-citoplasma (N:C) e com numerosas figuras mitóticas e corpos apoptóticos. A quantidade do componente neuroepitelial primitivo incluído é um fator importante na classificação e determinação do prognóstico. A imuno-histoquímica (IHC) não desempenha um papel importante no diagnóstico de uma IT, porém, em casos de tumores germinativos mistos, a IHC pode auxiliar na diferenciação de outros componentes malignos intrincados, especialmente carcinoma embrionário. Os derivados neuroectodérmicos imaturos expressam Sall4, SOX2 e glypican-3. (GICA, 2022)

Na figura 5, é possível observar um teratoma imaturo com diferenciação neuroectodérmica. Na imagem A, há a lesão teratóide composta por lúmenes glandulares dilatados de forma variável com epitélio tipo respiratório e digestivo e ilhas de cartilagem brandas, apresentando tecido neural imaturo (corado em HE, aumento de 25 ×); Na imagem B, observa-se áreas extensas (35% da imagem) de estruturas neurais imaturas, contendo túbulos neuroectodérmicos e rosetas de um teratoma imaturo com diferenciação neuroectodérmica, alto grau (G3) (HE, aumento 25×); na imagem C, há a coloração imuno-histoquímica de GFAP em áreas

neuroectodérmicas imaturas, com ausência de reação em elementos teratóides maduros (aumento de 25×); na imagem D, há a coloração imunohistoquímica S100 em estruturas neurais maduras e ilhas de cartilagem, uma reação focal fraca em áreas neuroectodérmicas imaturas, apresentando falta de reação em elementos teratóides maduros (aumento de 25×); na imagem E é apresentada coloração imuno-histoquímica de Sall4 em áreas neuroectodérmicas imaturas, com ausência de reação em elementos teratóides maduros (aumento de 25×); e por fim, na imagem F, é observado um aumento da atividade mitótica em áreas neuroectodérmicas imaturas (Ki67, aumento de 25 ×). (GICA, 2022)

Figura 5 - Teratoma Ovariano Imaturo com diferenciação neuroectodérmica.

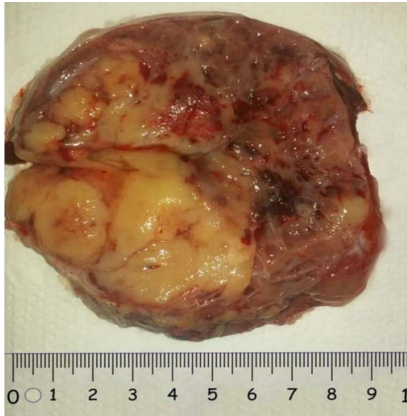


Fonte: GICA, 2022.

Os terceiros OMGCTs mais comuns, são os tumores do saco vitelino ovarianos, correspondendo a aproximadamente 14,5% a 16,4% de todos os casos. São mais comuns em mulheres na segunda e terceira décadas de vida e são raros em mulheres com mais de 40 anos. (SHAABAN, 2014)

Os TSV são na maioria dos casos unilaterais, com predileção pelo ovário direito. Quando há o envolvimento de ambos os ovários é tipicamente uma manifestação de disseminação metastática. Como ilustrado na figura 6, o tumor costuma ser grande, variando de 3 a 30 cm de diâmetro, com diâmetro médio de 15 cm. É geralmente oval, encapsulado, sólido e cístico, carnudo com necrose e apresenta hemorragias frequentes. Se calcificações forem encontradas, elas devem levantar a suspeita de outro componente do tumor de células germinativas. (GICA, 2022)

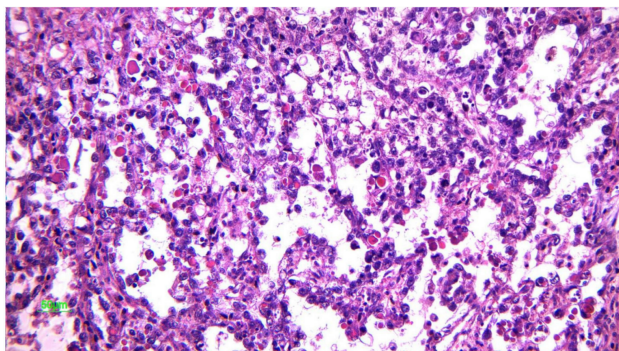
Figura 6 - Tumor de Saco Vitelínico Ovariano.



Fonte: GICA, 2022.

Microscopicamente, o padrão do seio endodérmico apresenta o clássico corpo de Schiller-Duval, constituído por uma faixa estreita de tecido conjuntivo com um capilar no centro. As células são cúbicas ou colunares baixas, semelhantes a células epiteliais, possuem nucléolos grandes e proeminentes e mostram atividade mitótica. A presença dessas estruturas diagnosticam o tumor do saco vitelino, porém, sua ausência não exclui o diagnóstico, pois apenas um terço dos casos apresenta corpúsculos de Schiller-Duval. O padrão vitelino polivesicular é composto por vários cistos e vesículas revestidas por epitélio plano ou colunar, circundadas por um estroma compacto de tecido conjuntivo. Gotículas hialinas podem estar presentes dentro ou fora das células tumorais, como apresentado na figura 7. A imuno-histoquímica do YST costuma ser positiva para AFP, porém sua sensibilidade é relativamente baixa. Outros marcadores positivos são glipican-3, SALL4 e LIN28, e além disso, CD30 deve ser negativo. (GICA et al, 2022)

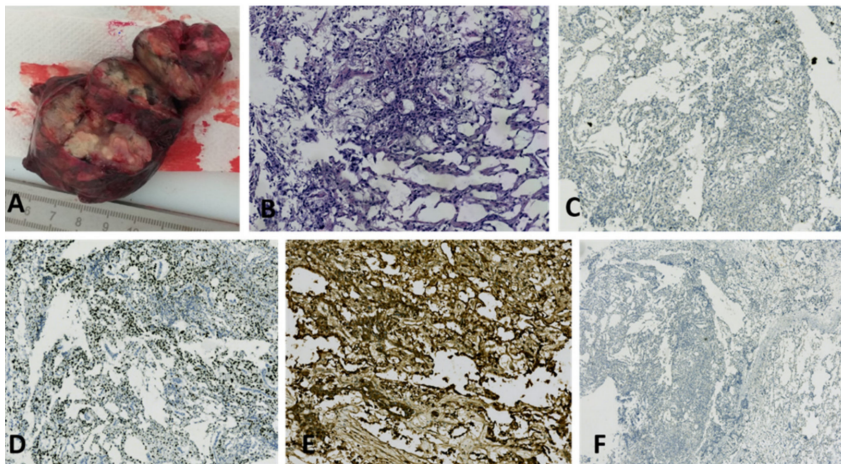
Figura 7 - Histologia de um Tumor de Saco Vitelínico Ovariano.



Fonte: GICA, 2022

Na figura 8, é possível observar imagens de um tumor de saco vitelínico em um paciente de 67 anos. Na imagem A, é apresentado o aspecto macroscópico do tumor no ovário direito com extensa necrose e hemorragia; na imagem B, apresenta-se uma neoplasia de alto grau nuclear com arquitetura reticular e microcistos (corada em HE, aumento de 100×); na imagem C, observa-se que não há reação imuno-histoquímica para CD30 em células tumorais (aumento de 50×); na imagem D, há reatividade imuno-histoquímica difusa para Sall4 nas células tumorais (aumento de 50×); na imagem E, há reatividade imuno-histoquímica intensa e difusa para AFP nas células tumorais (aumento de 100×); e por fim, na imagem F, é observado que não há nenhuma reação imuno-histoquímica para OCT4 nas células tumorais (aumento de 25×). (GICA, 2022)

Figura 8 - Características macroscópicas e microscópicas de um tumor de saco vitelínico em paciente de 67 anos.



Fonte: GICA, 2022.

O marcador GPC3 é uma proteína de superfície e se mostrou promissor na identificação de padrões do TSV que se assemelham ao carcinoma embrionário, ao disgerminoma e ao seminoma e ao teratoma imaturo, podendo também diferenciá-lo de outros tumores germinativos. Porém, ao ser comparado com o Teratoma imaturo, foi notável que o GPC3 não distinguiu de forma confiável os dois componentes. Já foi descrito em literatura um anticorpo monoclonal contra a porção terminal de GPC3, sendo utilizado para induzir toxicidade celular dependente de anticorpo,

levantando a possibilidade de utilizar essa terapia para pacientes com expressão de GPC3, como no tumor de saco vitelino. (ZYNGER, 2010)

No momento do diagnóstico, níveis de AFP acima de 10.000 ng/mL ou níveis de β -hCG acima de 50.000 mIU/mL estão associados a um mau prognóstico e uma taxa de sobrevida de 5 anos em 50%. Um estudo utilizando 113 mulheres demonstrou que uma combinação de altos níveis de β -hCG e AFP foi considerada de valor significativo na previsão de sobrevida. Pacientes com tais níveis elevados demonstraram ter uma sobrevida reduzida de um ano (50,4%) em comparação com pacientes com níveis normais (89,6%). Porém, os valores quando observados individualmente no pré-tratamento não foram considerados preditivos de sobrevivência. A ploidia do DNA fornece informações prognósticas significativas, além do estágio clínico em OMGCT com FIGO estágio II–IV. (AGGARWAL, 2010)

Nos tumores de células germinativas testiculares, o LDH possui relação com uma anormalidade cromossômica característica em todos os tipos, há um alto número de cópias do cromosoma, cerca de 12p. Por outro lado, a AFP e o hCG são encontrados principalmente em tumores de células germinativas não seminomatosos e estão relacionados à diferenciação histológica dos tumores. Níveis grosseiramente elevados de alfa-fetoproteína (AFP) e/ou beta gonadotrofina coriônica humana (β -HCG) na ausência de gravidez podem ser evidência suficiente para iniciar a quimioterapia em pacientes com evidência radiológica de doença avançada. (EYBEN, 2003; VAZQUEZ, 2013)

Uma investigação realizada por Palmer et al. e apoiados pelos dados de Murray, identificaram o potencial diagnóstico dos micro RNAs (miRNAs) curtos, RNAs não codificadores de proteínas, que possuem um papel significativo na regulação da expressão gênica. Apesar da suposição de que todos os TCGO's se originam de células germinativas primordiais, uma anormalidade biológica comum ainda não foi encontrada. Na pesquisa de Palmer, foram perfilados 615 miRNAs em 48 amostras de TCG pediátricos masculinos e femininos e usaram controles de espécimes de gônadas normais e linhas celulares de TCG de adultos. (VAZQUEZ, 2013)

Os miRNAs expressos com maior diferencial e significância eram todos dos grupos miR-371–373 e miR-302, que foram superexpressos independentemente do subtipo histológico (podendo ser tanto seminoma de tumor do saco vitelino quanto carcinoma embrionário), local (sendo tanto gonadal quanto extragonadal) ou idade

do paciente (sendo em pacientes pediátricos ou adultos). A superexpressão desses clusters coordenaram negativamente os mRNAs envolvidos em vias de valor biológico. (VAZQUEZ, 2013)

Na tentativa de traduzir clinicamente esses resultados encontrados, Murray et al. descreveram um protocolo de PCR detalhado com potencial de reprodução na população geral. Eles mostraram que oito membros principais dos grupos miR-371-373 e miR-302 estavam elevados no soro de um menino de 4 anos diagnosticado com tumor do saco vitelino, que voltou aos níveis normais após o tratamento bem-sucedido. (VAZQUEZ, 2013)

Em outro estudo, descrito no artigo de Vazquez em 2013, em uma revisão sistemática de biomarcadores nos diferentes subgrupos de TCG testicular, criaram uma hipótese de que o resultado terapêutico diferente dos diferentes TGCT pode ser explicado pelas propriedades das células gonocíticas das quais surgem as neoplasias testiculares. Diferentes biomarcadores, incluindo OCT3/ OCT4, SOX2, SOX17, HMGA1, HMGA2, PATZ1, GPR30, Aurora B e receptor de estrogênio b, foram e estão sendo pesquisados para diferenciar entre os subgrupos histológicos e servir de guia em futuras abordagens terapêuticas para o tratamento de TGCTs. (VAZQUEZ, 2013)

O marcador OCT4 é um fator de transcrição expresso em células tronco e germinativas embrionárias e está envolvido na regulação e manutenção da pluripotência. Foi detectado em tumores testiculares primários de células germinativas com potencial pluripotente, seminoma e carcinoma embrionário. Os diferentes tipos histológicos de TGCT foram examinados com coloração de hematoxilina e eosina e com anticorpos para o OCT4, como no estudo realizado por Jones et al em 2004. Neste estudo, em todos os casos de tumor misto de células germinativas com componentes de carcinoma embrionário e seminoma houveram mais de 90% de coloração nuclear com pouca ou nenhuma coloração de fundo. Os outros componentes do tumor de células germinativas, tumor do saco vitelino, teratoma maduro, teratoma imaturo e coriocarcinoma, não mostraram coloração. (JONES, 2004)

As SOX17 e SOX2 são membros da família SOX de fatores de transcrição, que compreende 20 proteínas marcadas por um domínio de ligação de DNA de caixa de grupo de alta mobilidade. São capazes de fazer parceria com a OCT4 e, como consequência, reconhecer e se ligar a motifs de ligação específicos. Foram

investigados os padrões de ligação e os genes-alvo de SOX17 e SOX2 em linhagens de células seminoma e carcinomas embrionários, respectivamente. Demonstramos que ambos os fatores de transcrição se ligam a motifs canônicos, supostamente em parceria com OCT4, bem como a motifs de ligação de DNA da família SOX. Desta forma, SOX17 e SOX2 regulam um conjunto comum de pluripotência e genes relacionados a células germinativas. (JOSTES, 2019)

Outro biomarcador apresentado como útil foi o fator de transcrição SALL4, ele possui associação com à pluripotência de células embrionárias e tem se mostrado um marcador imunohistoquímico útil para tumores de células germinativas. No entanto, as informações sobre a distribuição deste marcador em tecidos humanos normais e tumores de células não germinativas são limitadas. Em alguns estudos, incluindo o de Miettinen de 2014, foram examinados tecidos humanos normais e 3215 tumores para expressão de SALL4 usando um anticorpo monoclonal 6E3 e imunohistoquímica automatizada. Em tecidos adultos, foi detectado apenas em células germinativas, foi consistentemente expresso em todos os tumores de células germinativas, exceto alguns tumores trofoblásticos e componentes maduros de teratomas, nos quais foi expresso seletivamente em epitélio semelhante ao intestinal e em alguns epitélios escamosos. (MIETTINEN, 2014)

O câncer de testículo é o tipo de câncer mais comum entre homens de 15 a 35 anos. A taxa de cura da doença em estágio inicial é de cerca de 95% com o tratamento primário que geralmente é limitado à cirurgia. Porém, sem uma terapia adjuvante, as recidivas são bastante comuns e os pacientes precisam de monitoramento cuidadoso por cerca de 5 a 10 anos. Para isso, há a necessidade de marcadores que possibilitem a detecção precoce de recaídas. (LEMPIAINEN, 2008)

A AFP e a hCG estão entre os principais marcadores para este tipo de câncer, e no soro, estão aumentadas em cerca de 80% dos pacientes com câncer testicular não seminomatoso, mas nos pacientes que apresentam seminomas, há negatividade para o AFP e o hCG se encontra aumentado em cerca de 15 a 20% dos casos apenas. No entanto, foi descoberto que de 30 a 40% dos pacientes com seminoma apresentam concentrações séricas aumentadas da subunidade livre de hCG (β -hCG). (LEMPIAINEN, 2008)

O hCG é um hormônio glicoproteico composto pelas subunidades alfa e beta. A subunidade alfa é comum a todos os hormônios da coproteína gli, enquanto as subunidades beta diferem e transmitem a função biológica de cada hormônio. A hCG

é amplamente glicosilada, com cerca de 30% de seu peso molecular consistindo de carboidratos. No início da gravidez, a maior parte do hCG em circulação é hiperglicosilado (hCG-h), ou seja, contém cadeias de carboidratos mais complexas do que no final da gravidez. A hCG-h é secretada por citotrofoblastos que participam da invasão tecidual durante a implantação, enquanto os sinciciotrofoblastos secretam hCG regular. A hCG-h também é produzida por tumores trofoblásticos, seus níveis aumentam o crescimento e a invasão de linhas celulares do coriocarcinoma, e a inibição de sua expressão nas células, induz a apoptose das mesmas. Acredita-se que o hCG-h seja a principal forma de hCG produzida por tumores testiculares de células germinativas e é sugerido como marcador de acompanhamento tanto para o crescimento quanto para a invasão tumoral. (LEMPIAINEN, 2012)

Foi pesquisado se o hCG sérico de pacientes com câncer testicular é hiperglicosilado e se a medição do hCG-h sérico fornece informações clínicas adicionais em comparação com as determinações de hCG e da subunidade beta livre de hCG. Foi então obtido que as concentrações séricas pré-operatórias de hCG-h, hCG e hCG correlacionaram-se entre si e com o estágio da doença. As concentrações foram maiores em tumores não-seminomas do que em pacientes com seminoma. As concentrações mais altas foram observadas em um paciente com coriocarcinoma e em um paciente com um componente de coriocarcinoma em um tumor misto. No estudo de Lempiainen et al, do ano de 2012, foi concluído que a maior parte do hCG em cânceres testiculares consiste em hCG-h, os ensaios de hCG usados para diagnóstico e monitoramento dessa doença devem levar em consideração essas informações. (LEMPIAINEN, 2012)

O padrão-ouro para a detecção de ou metástase é a tomografia computadorizada do tórax, abdome e pelve. Porém, cerca de até 30% desses pacientes podem apresentar metástases ocultas, metástases que ficam invisíveis no momento do diagnóstico do tumor testicular, por conta disso, é imposto um monitoramento de acompanhamento mais rigoroso. Metástases ocultas de seminoma são consideradas um desafio, devido à baixa incidência e período de latência de 2 a 3 anos. Estudos nesse cenário também são raros. (RUF, 2013)

O tamanho do tumor primário testicular, em torno de 4 a 6cm ou mais, e a infiltração da rete testis foram considerados fatores de risco para metástases tanto ocultas quanto aparentes. Ambos os cenários são fundamentalmente semelhantes

na ocorrência de metástase. Assim, têm-se que exames retrospectivos de pacientes com metástases aparentes podem ajudar na identificação de biomarcadores que se aplicam igualmente a metástases ocultas. Ao incorporar biomarcadores específicos em futuros estudos prospectivos, o manejo pós-operatório dos tumores seminomas em estágios iniciais pode melhorar. (RUF, 2013)

Para esse estudo dos marcadores úteis para a detecção de metástases, foram recolhidos dados de pacientes homens portadores de tumores testiculares de células germinativas, tratados entre os anos de 2000 a 2011 no Departamento de Urologia do Hospital da Força da Polícia Militar de Hamburgo, Alemanha. Esses dados incluíam parâmetros demográficos e anamnésicos da idade do paciente na operação, altura, peso, apresentação clínica do tumor e duração dos sintomas; bem como informações sobre parâmetros histopatológicos e clínicos, incluindo magnitude testicular e tumoral, lateralidade do tumor, TIN, locais de infiltração, tumores secundários, terapia e acompanhamento por tomografia computadorizada. (RUF, 2013)

Além desses dados, também foram registrados dados de enzimas e hormônios séricos, principalmente AFP, HCG, LDH, PLAP, FSH, LH, estradiol, testosterona e prolactina, recolhidos do sangue periférico, no início e durante o acompanhamento, e da veia testicular. Esses níveis enzimáticos de sangue periférico foram registrados em até 10 ocasiões separadas, como no dia da cirurgia, pós-operatório, após a irradiação, antes dos ciclos 1 a 4 da quimioterapia e antes e depois da ressecção do nódulo. O projeto teve foco em tumores seminomas puros, estratificando os pacientes em doença metastática e não metastática. (RUF, 2013)

Obtiveram como resultados que o seminoma metastático correspondeu a um tamanho e volume testicular e tumoral maior, e foi frequentemente observado com infiltração da túnica albugínea, enquanto o TIN nas proximidades do tumor foi um valor menor. Além disso, o seminoma metastático esteve, com frequência, associado à invasão vascular linfática e sanguínea com um estágio pT mais alto e maior probabilidade de recidiva ou de um segundo tumor. OR aumentou até 2,7 vezes em relação à categoria de referência para pT, mas as áreas ROC correspondentes variaram apenas entre 0,5 e 0,6. (RUF, 2013)

Sobre os biomarcadores, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos de pacientes especificamente para HCG, LDH e hPLAP, foi observada a incidência de metástase em pacientes com maior concentração desses marcadores.

A porcentagem de valores de HCG superiores a 7 UI/L, medidos no dia da cirurgia, foi duas vezes maior em seminoma metastático, em cerca de 41,3% em comparação com não metástase, com 22%; os valores de PLAP foram encontrados maiores que 500 mIU/L antes do primeiro ciclo de quimioterapia; e para LH e testosterona nenhum padrão específico foi evidente. (RUF, 2013)

Foi concluído então que além dos parâmetros mais utilizados, novos biomarcadores promissores que devem ter atenção para um diagnóstico mais cedo são a ausência de TIN em testículos com tumor, volume testicular e volume tumoral, bem como potenciais determinantes de enzimas séricas no sangue periférico, principalmente observados o hCG, LDH, PLAP e LH. E que o uso desses parâmetros permanece precisando de mais experimentos e estudos. (RUF, 2013)

Outro estudo abordando os TCGTs foi o de Neumann, publicado em 2012, no qual foi realizado um estudo retrospectivo, foram investigados 152 pacientes portadores de câncer testicular e 75 pacientes com condições escrotais benignas. Em todos os pacientes foram medidos os marcadores tumorais fosfatase alcalina humana (hPLAP), alfa-fetoproteína (AFP), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e a enzima lactato desidrogenase (LDH). As análises estatísticas incluíram análise descritiva, boxplots, tabela quádrupla, característica operacional do receptor (ROC), cálculo de intervalos de confiança e análise de variância (ANOVA). (NEUMANN, 2011)

Dos pacientes, 145 pacientes tinham idade média de 34 anos. Houve 72 tumores classificados como seminomas, 33 não seminomas e 40 tumores mistos, dos quais 69% dos pacientes se encaixaram no estágio I, 19% no estágio II e 11% no estágio III. Os biomarcadores hPLAP, AFP e hCG foram estatisticamente e significativamente maiores em pacientes com câncer testicular em comparação com pacientes com condições escrotais benignas, podendo ser observado na Figura 9. O hPLAP apresentou a melhor sensibilidade/ especificidade, apresentando cerca de 51,1% a 84,0%, seguido de AFP com 35,7% a 97,1%), hCG com 32,6% a 98,6% e LDH com 31,4% a 97,8%. A análise ROC não demonstrou diferença entre hPLAP, AFP e hCG na faixa de especificidade de 80–100%, conforme apresentado na Figura 10. No entanto, uma combinação dos três marcadores hPLAP, AFP e hCG forneceu resultados estatisticamente significativamente melhores do que os marcadores sendo utilizados separadamente em todas as histologias. (NEUMANN, 2011)

Apesar de ter apresentado melhores resultados, há divergências nas diretrizes das sociedades profissionais, há a apresentação de diferentes recomendações para lidar com hPLAP. As diretrizes da German Cancer Society de 2002 sugeriram apenas que o hPLAP fosse utilizado opcionalmente no diagnóstico primário de seminoma. A Academia Nacional de Bioquímica Clínica (NACB) classificou hPLAP como um marcador experimental em 2008. As diretrizes da European Society of Medical Oncology (ESMO) em 2010, National Comprehensive Cancer Network (NCCN) em 2011 e American Society of Clinical Oncology (ASCO) também em 2010 nem sequer mencionaram o hPLAP em suas publicações de 2010 e 2011. E também, em contraste com os outros marcadores tumorais AFP, hCG e LDH, o hPLAP não serve como fator prognóstico categorizador na classificação IGCCCG. (NEUMANN, 2011)

Figura 9 - Níveis de hPLAP em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes com tumor escrotal benigno.

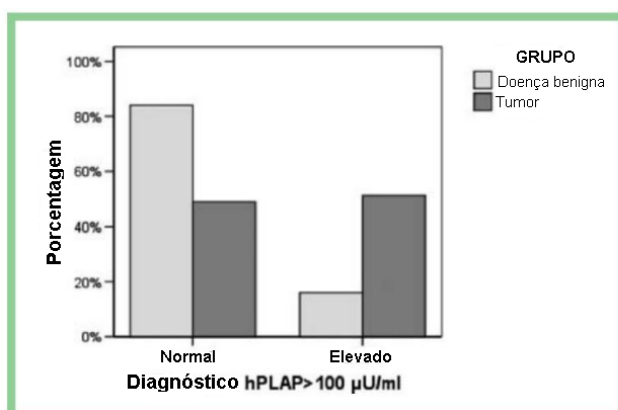


Fig. 1 hPLAP em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes portadores de doença escrotal benigna.

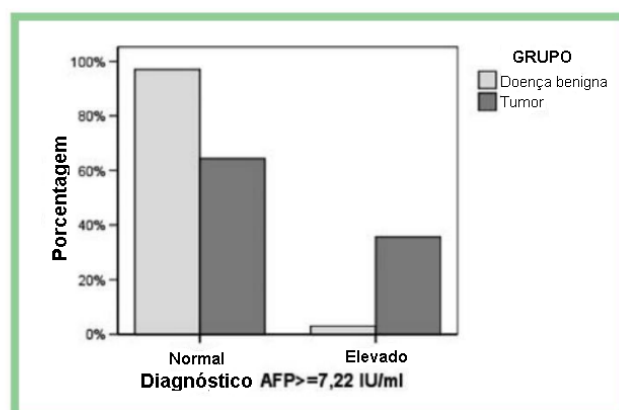


Fig. 2 AFP em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes portadores de doença escrotal benigna.

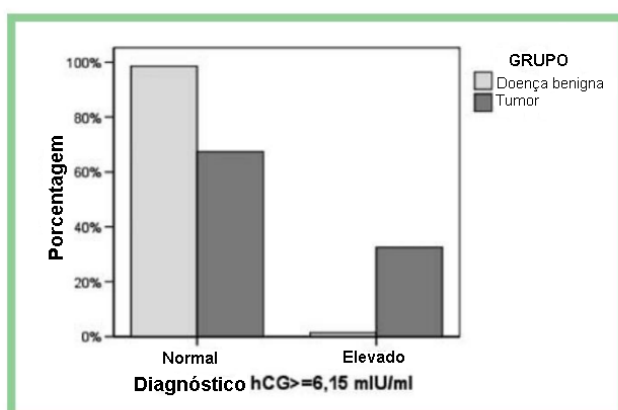


Fig. 3 hCG em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes portadores de doença escrotal benigna.

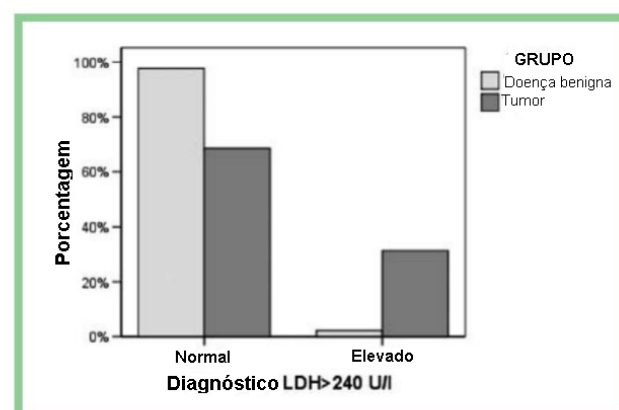
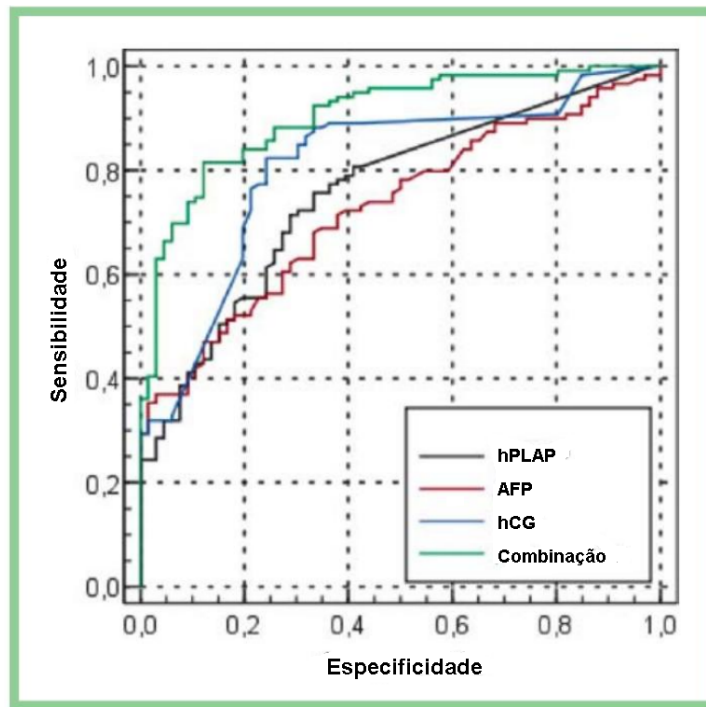


Fig. 4 LDH em pacientes com tumores testiculares em comparação com pacientes portadores de doença escrotal benigna.

Fonte: Adaptado de Neumann, 2011.

Figura 10 - Curva ROC de sensibilidade por especificidade para os marcadores hPLAP, AFP, hCG e a combinação dos três.



Fonte: Adaptado de Neumann, 2011.

Curva ROC para hPLAP, em comparativo com a curva para AFP, para hCG e para uma combinação utilizando estes três marcadores tumorais.

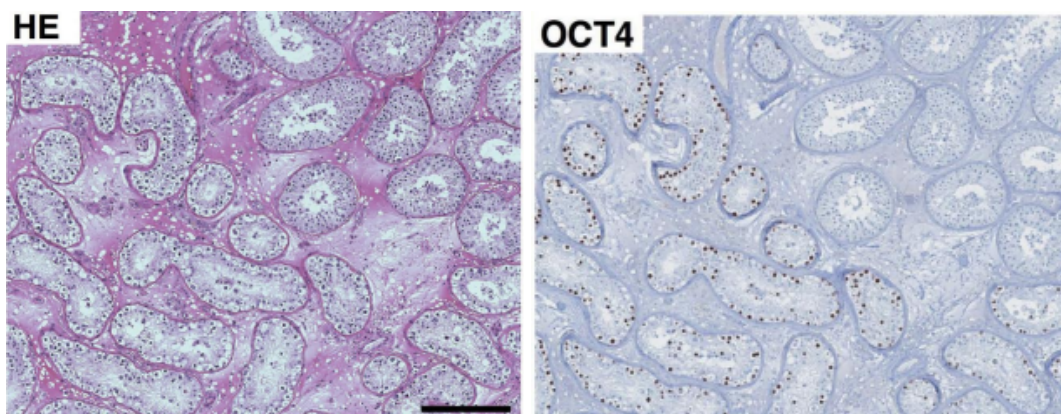
Uma limitação encontrada também para o uso do hPLAP foi a especificidade limitada do marcador em fumantes, onde há um aumento inespecífico no soro desses pacientes. As mudanças nos hábitos tabágicos também devem ser levadas em consideração na interpretação dos valores séricos, o que torna um pouco difícil de implementar devido aos dados de anamnese muitas vezes serem incompletos. Porém, os outros marcadores tumorais também têm especificidades limitadas se comparadas com as medições de hPLAP em fumantes, sendo uma sensibilidade apenas ligeiramente menos limitada. (NEUMANN, 2011)

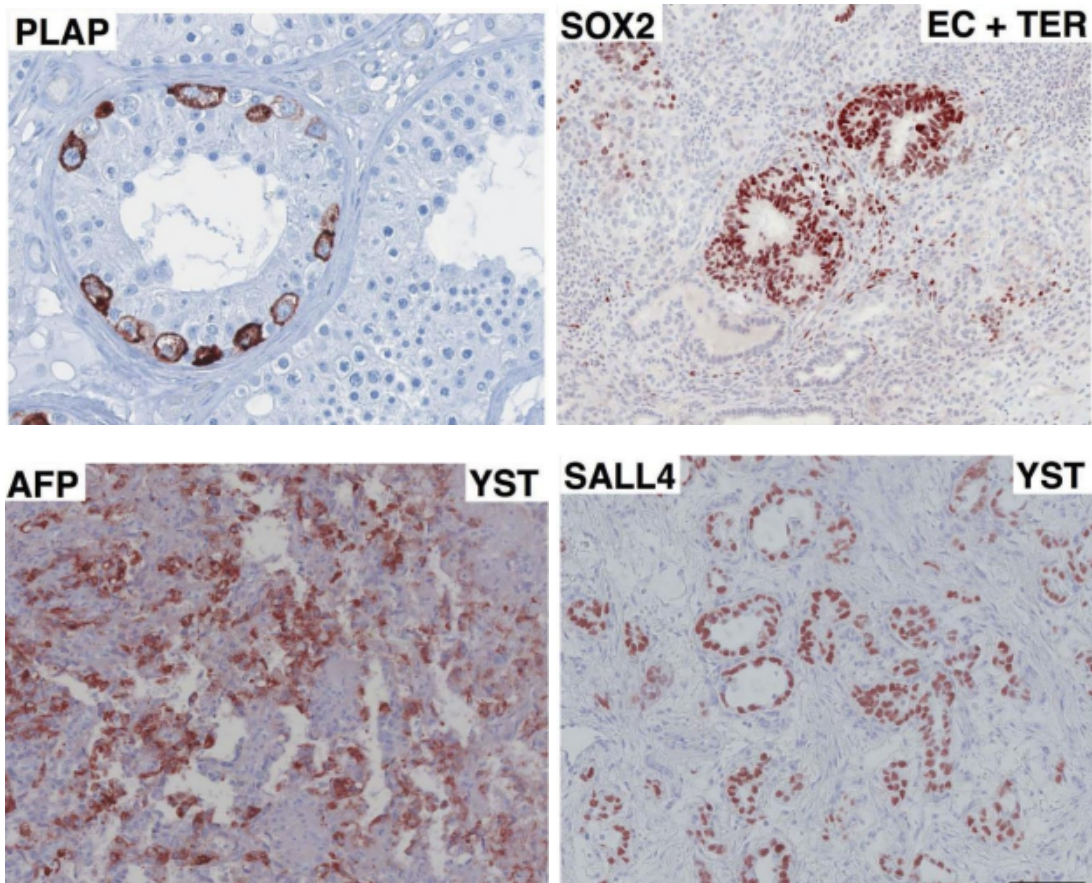
De acordo com os dados apresentados, o hPLAP tem potencial para oferecer um benefício significativo para o monitoramento da terapia de tumores testiculares. E deve, portanto, ser considerado nas diretrizes atuais das sociedades profissionais, onde o aumento inespecífico de hPLAP no soro de fumantes deve ser levado em

consideração, e, para corrigir isso, valores de referência específicos para dependentes do tabagismo podem representar uma solução, mas ainda não dados suficientes para isso atualmente. (NEUMANN, 2011)

Na figura 11 é possível observar a imunomarcção de Neoplasias de células germinativas in situ (GCNIS): histologia e marcadores imunohistoquímicos selecionados. Na imagem 1, há um corte de uma amostra de testículo adulto com GCNIS corado com HE e com barra de escala = 250 μm . Na imagem 2, há um corte corado com OCT4 com barra de escala = 250 μm . A coloração para OCT4 claramente ajuda a detectar GCNIS. Em seguida, um corte corado com outro marcador imunohistoquímico comumente usado, o PLAP, com barra de escala = 50 μm . Os túbulos com GCNIS são mostrados lado a lado com os túbulos com espermatogênese em andamento. Há também, um corte corado com SOX2 em carcinoma embrionário (EC) e contendo tecidos teratomatosos diferenciados (TER), e por fim, AFP e SALL4 em dois espécimes diferentes de tumores do saco vitelino (YST), com barra de escala = 100 μm .

Figura 11 – Imunomarcção de neoplasias germinativas in situ em biópsias de testículos.





Fonte: Adaptado de MEYTS, 2015.

6 CONCLUSÃO

Com esse estudo, concluiu-se que os biomarcadores tumorais são de extrema importância para um diagnóstico precoce e específico de tumores germinativos ovarianos e testiculares, auxiliando assim no monitoramento e na escolha de um tratamento eficaz. De acordo com as pesquisas deste trabalho, os principais marcadores utilizados para medir os níveis dos tumores germinativos ovarianos são a Alfa Fetoproteína (AFP), a Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) e a isoenzima-1 da Lactato Desidrogenase (LDH) sérica. Há também a pesquisa de outros marcadores que se mostram promissores, como o GPC3, útil principalmente para identificar os padrões do Tumor de Saco Vitelino, um dos tumores malignos mais frequentes dos OMGCT's. Para marcar os tumores germinativos testiculares, são utilizados também à AFP, o hCG e a LDH, além destes, estudos também apontaram o LH, o hPLAP e vários outros como microRNAs, OCT4, SOX2, SOX17 e

SALL4, que obtiveram bons resultados em pesquisas mas que precisam de mais testes e avaliações para que sejam empregados na rotina de diagnóstico. Como até o momento, não existem estratégias totalmente eficazes para prevenir e eliminar o câncer, a detecção antecipada continuará sendo essencial para reduzir a morbidade e a mortalidade por esta doença. Assim, há a necessidade de desenvolvimento e avaliação de novos marcadores, continuando ativa a busca por marcadores tumorais mais específicos.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, Pakhee; KEHOE, Sean. Serum tumour markers in gynaecological cancers. **Maturitas**, n. 1, v. 67, p. 46-53, Setembro, 2010.

CORMIO, Gennaro, et al. Increased human Chorionic Gonadotropin levels five years before diagnosis of an ovarian dysgerminoma. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**. Novembro, 2017.

CRU, Câncer Research Uk. **Germ cell ovarian tumors**. Disponível em:<<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/ovarian-cancer/types/germ-cell>>. Acesso em: 12 de jan. 2023

CRU, Câncer Research Uk. **Types of testicular cancer**. Disponível em:<<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/testicular-cancer/types>>. Acesso em: 12 de jan. 2023

CRU, Câncer Research Uk. **What are germ cell tumors**. Disponível em:<<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/germ-cell-tumours>>. Acesso em: 12 de jan. 2023

DIECKMANN, Klaus-Peter et al. Serum Tumor Markers in Testicular Germ Cell Tumors: Frequencies of Elevated Levels and Extents of Marker Elevation Are Significantly Associated with Clinical Parameters and with Response to Treatment. **BioMed Research International**. Maio, 2019.

von EYBEN, Finn Edler. Laboratory Markers and Germ Cell Tumors. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, Dinamarca, n. 4, v. 40, p. 377-427, Agosto, 2003.

FERRARO, Simona et al, Human Chorionic Gonadotropin Assays for Testicular Tumors: Closing the Gap between Clinical and Laboratory Practice. **Clinical Chemistry**, n. 02, v. 64, p.270-278, Fevereiro, 2018.

GICA, Nicolae et al. Ovarian Germ Cell Tumors: Pictorial Essay. **Diagnostics**, n. 9, v. 12, Agosto, 2022.

HASSAAN, Suher. Monitoring ovarian cancer patients during chemotherapy and follow-up with the serum tumor marker CA125. **Danish Medical Journal**, Copenhagen, v. 65, n. 5, p., 2018.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. **Tumores de Células germinativas**. Disponível em:<<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/infantojuvenil/especificos/tumores-de-celulas-germinativas>>. Acesso em:11 de jan. 2023.

JONES, Timothy D. et al. OCT4 Staining in Testicular Tumors: A Sensitive and Specific Marker for Seminoma and Embryonal Carcinoma. **Surgical Pathology**, n. 7, v. 28, p. 935-940, Julho, 2004.

JOSTES, Sina V. et al. Unique and redundant roles of SOX2 and SOX17 in regulating the germ cell tumor fate. **International Journal of Cancer**, n. 6, v. 146, p. 1592-1605, Outubro, 2019.

KOJIMA, Takahiro et al. Identification of a subgroup with worse prognosis among patients with poor-risk testicular germ cell tumor. **International Journal of Urology**, n. 10, v. 20, p. 923-927, Junho, 2015.

LAGUNA, MP et al. **EAU Guidelines on Testicular Cancer**. European Association of Urology, 2021.

LEMPIAINEN, Anna et al. Free beta-subunit of human chorionic gonadotropin in serum is a diagnostically sensitive marker of seminomatous testicular cancer. **Clinical Chemistry**, n. 11, v. 54, p.1840-1843, Novembro, 2008.

LEMPIAINEN, Anna et al. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin in serum of testicular cancer patients. **Clinical Chemistry**, n. 07, v. 58, p. 1123-1129, Julho, 2012.

LENTZ, Scott. Development of a longitudinal two-biomarker algorithm for early detection of ovarian cancer in women with BRCA mutations. **Gynecologic Oncology**, Julho, 2020.

MEYTS, Ewa Rajpert-De et al. Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline phosphatase to micro-RNAs. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, n. 3, v. 53, p. 177-188, Agosto, 2015.

MIETTINEN, Markku MD et al. SALL4 Expression in Germ cell and Non-Germ Cell Tumors: A Systematic Immunohistochemical Study of 3215 Cases. **Surgical Pathology**, v. 38, n. 3, p. 410- 420, Março, 2014.

NEUMANN, A. et al. Die humane plazentare alkalische Phosphatase (hPLAP) ist der am häufigsten erhöhte Serummarker beim Hodentumor. **Aktuelle Urologie**, n. 5, v. 42, p. 311-315, Setembro, 2011.

OLDENBURG, J. et al. Testicular seminoma and non-seminoma: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**, v. 33, n. 4, p. 362-375. Janeiro, 2022.

OOSTERHIUS, J. Wolter; LOOIJENGA, Leendert H.J. Testicular germ-cell tumours in a broader perspective. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, n. 3, p. 210-222. Março, 2005.

RAY-COQUARD, I, et al. Non epithelial ovarian cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow up. In: **Annals of Oncology**, 29, 2018. p.1-18.

REIS, Francisco. Rastreamento e diagnóstico das neoplasias de ovário: papel dos marcadores tumorais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v.27 , n. 4, p. 222-227, abril. 2005.

RUF, C. G et al. The Search for Biomarkers of Metastatic Seminoma. **The Journal of Urology**, Hamburgo, n. 3, v. 190, p. 1046-1051, Setembro, 2013.

SAMPAIO, RF; MANCINI, MC. Estudos de Revisão Sistemática: Um Guia Para Síntese Criteriosa da Evidência Científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, jan./fev. 2007

SHAABAN, Akram M., et al. Ovarian Malignant Germ Cell Tumors: Cellular Classification and Clinical and Imaging Features. **RadioGraphics**, v. 34, n. 3, Maio, 2014.

VAZQUEZ, Ignacio et al. Current Controversies in The Management of Germ Cell Ovarian Tumours. **Current Opinion in Oncology**, n. 5, v. 25, p. 539-545, Setembro, 2013.

ZYNGER, Debra L; et al. Glypican 3 has a higher sensitivity than alpha-fetoprotein for testicular and ovarian yolk sac tumour: immunohistochemical investigation with analysis of histological growth patterns. **Histopathology**, Chicago, n. 6, v. 56, p. 750-757, Abril, 2010.