



U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Caraterísticas do esperma em indivíduos com cancro do testículo e sua relação com o tipo histológico

João Manuel Duarte de Freitas

Junho 2012

Resumo

Introdução: O cancro do testículo afeta os homens em idades jovens, principalmente na terceira e quarta décadas de vida, com um índice de sobrevivência muito elevado graças à combinação da cirurgia com a quimio e radioterapia. Assim, dado os tratamentos poderem causar infertilidade, é importante garantir a estes doentes uma qualidade de vida adequada e a possibilidade de procederem à criopreservação do esperma. Até agora sabe-se que nos doentes com cancro do testículo, cerca de 24% apresenta azoospermia e 24% são oligospérmicos antes do início de qualquer terapia.

Objetivo: Determinar as diferenças a nível da qualidade do esperma em indivíduos com cancro do testículo antes do tratamento com quimio e radioterapia, tentando perceber se essas diferenças estão correlacionadas com o tipo histológico e estadio tumoral.

Material e Métodos: No estudo foram incluídos os doentes submetidos a orquidectomia radical unilateral com confirmação histológica de cancro testicular desde 2006 a 2011 no Centro Hospitalar do Porto-Hospital Santo António. Os dados relativos ao estadio tumoral, classificação patológica e espermograma foram obtidos pela consulta exclusiva dos processos clínicos dos doentes. O tratamento de dados foi efetuado por métodos de estatística descritiva.

Resultados: Dos 64 doentes incluídos no estudo, a média de idades foi de 32.8 anos. O total de cancros de células germinativas foi de 85.9%, e destes, 51.57% eram seminomas. 56.9% apresentavam-se no estadio I, 20.7% em estadio II e 22.4% em estadio III. Os doentes que efetuaram criopreservação de esperma foram 48,44%. Nestes, 60% apresentam oligozoospermia e 36% astenozoospermia. A percentagem de oligozoospermicos e de astenozoospermicos foi, nos seminomas 50% e 24%, respetivamente, sendo nos tumores não seminatosos de células germinativas (TNSCG) 72.73% e 36.36%, respetivamente.

Conclusões: Mesmo antes de efetuar qualquer tratamento, já uma grande parte dos doentes apresentava alterações no espermograma. Verificou-se que os TNSCG apresentam maior percentagem de oligozoospermia, estando os restantes parâmetros idênticos quanto aos tipos histológicos. O estadio tumoral parece não alterar as características do esperma.

Palavras-chave: Cancro testicular, classificação patológica, infertilidade, estadio tumoral, criopreservação, esperma

Abstract

Introduction: Testicular cancer occurs in younger men, mainly at the third and fourth decades, with a high survival rate, thanks to the combination of surgery with chemo and radiotherapy. Therefore, and because the treatments can cause infertility, it's important to guarantee an adequate quality of life and the possibility to proceed to the sperm cryopreservation. Until now, it is known that among the patients with testicular cancer, about 24% have azoospermia and 24% oligozoospermia, before the beginning of any kind of treatment.

Objective: To find the differences between the quality of sperm in individuals with testicular cancer, before the treatment with chemo and radiotherapy, and relate those differences with the histological type and tumor stage.

Material and Methods: In this study, were included the patients that underwent radical unilateral orchidectomy and histological confirmation of testicular cancer, within the period of 2006 to 2011, at Centro Hospitalar do Porto-Hospital Santo António. The data related to the tumor stage, pathological classification and spermogram were obtained only by consultation of the patients' clinical files. The data were treated and analyzed by descriptive statistical methods.

Results: From the 64 patients included in this study, the median of ages was 32.8 years old. The total of germ cells testicular cancers was 85.9%, and within those, 51.25% were seminomas. 56.9% presented at stage I, 20.7% at stage II, and 22.4% at stage III. The patients that had their sperm cryopreserved were 48.44%. Within those, 60% had oligozoospermia and 36% had astenozoospermia. The rate of oligozoospermia and of astenozoospermia was, for seminomas 50% and 24%, respectively, and for nonseminomatous germ cell tumors (NSGCT) was 72.73% and 36.36%, respectively.

Conclusões: Even before the beginning of the treatment, most of the patients had spermogram alterations. We verified that the NSGCT presented a higher rate of oligozoospermia, and that the other parameters were similar, considering the histological type. The sperm characteristics didn't seem to be changed by the progression of the tumor stage.

Keywords: Testicular cancer, pathological classification, infertility, tumor stage, cryopreservation, sperm

Introdução

O cancro do testículo é um tipo de tumor relativamente raro, sendo responsável por 1-1.5% dos casos de cancro nos homens, com pico de incidência entre a terceira e quarta década de vida, sendo o tumor sólido mais frequente nesta idade(1). A incidência desta neoplasia tem vindo a aumentar, nomeadamente a partir da segunda metade do século XX, sendo que vários factores podem ter contribuído para este facto, entre eles o aumento dos poluentes ambientais, da exposição a agentes nocivos, a diminuição da prática de exercício físico e a alimentação(2).

O diagnóstico patológico correto do tumor é de extrema importância, pois vai orientar o tipo de terapêutica a ser instituída e o prognóstico do doente. Assim, a Organização Mundial de Saúde classifica a nível patológico o cancro do testículo em 3 grandes categorias: Tumores das células germinativas, Tumores do cordão espermático/estroma gonadal e Tumores estromais mistos não específicos (1). Cerca de 90-95% destes tumores são neoplasias das células germinativas, dos quais 50% são seminomas, fazendo deste tipo histológico o mais comum(3).

O índice de sobrevivência do cancro do testículo é muito elevado graças à combinação da cirurgia com a quimio e radioterapia. De acordo com o *National Cancer Institute*, a sobrevivência a 5 anos ronda os 95%, e se a doença for localizada, este valor sobe para os 99%. No entanto, estes agentes podem alterar seriamente a espermatogénese levando por vezes a azoospermia transitória ou permanente e alterações na cromatina(4). Tendo em conta este facto, é importante garantir a estes doentes uma qualidade de vida adequada, em que os aspetos relacionados com a fertilidade e a função sexual devem ser tidos em linha de conta. Assim, como a maioria dos indivíduos afetados por esta doença estão ainda em idade reprodutiva e apresentam intenção de serem pais no futuro, todos aqueles que forem sujeitos a tratamentos com possibilidade de ficarem estéreis, devem proceder à criopreservação do esperma(5).

Nos estudos até agora realizados, verifica-se que, dos doentes com cancro do testículo, cerca de 24% apresenta azoospermia e 24% são oligozoospermicos antes do início de qualquer terapia(6). Apesar da etiologia destas alterações na qualidade do esperma ainda não estar completamente esclarecida, acredita-se que se devem a alterações do desenvolvimento genitourinário ou disfunção endócrina primária associada a um testículo contralateral alterado, à produção tumoral de fatores que alteram a espermatogénese e a fatores emocionais que alteram a produção de catecolaminas, prolactina e opióides endógenos(4). Associado a isto está o facto de o cancro do testículo e infertilidade apresentarem fatores de risco em comum, como a criptorquidia,

tumor contralateral, sendo que a própria infertilidade se apresenta como fator de risco para o cancro do testículo.

A forma como os diferentes tipos histológicos do cancro testicular afetam a qualidade do esperma ainda não se encontra devidamente descrita, pelo que o presente estudo pretende determinar se o tipo histológico e o estadio da doença alteram de forma característica a qualidade do esperma dos indivíduos afetados.

Materiais e Métodos

Este estudo está inserido na unidade curricular de dissertação/projeto/relatório de estágio do Mestrado Integrado em Medicina do sexto ano. Trata-se de um estudo observacional, descritivo, transversal, retrospectivo, cujo desenho foi submetido à Comissão de Ética do Centro Hospitalar do Porto – Hospital Geral de Santo António, a qual deu parecer positivo à sua realização.

Amostra

Os doentes incluídos no estudo foram todos os indivíduos submetidos a orquidectomia radical unilateral por suspeita de cancro de testículo no Centro Hospitalar do Porto – Hospital Geral de Santo António, com confirmação histológica da neoplasia, desde Janeiro de 2006 a Dezembro de 2011, no serviço de Urologia.

O estadio tumoral foi determinado de acordo com a classificação TNM de tumores malignos (UICC, 2009, 7ªed.) (24).

Recolha de dados

Os dados foram obtidos pela consulta exclusiva dos processos clínicos dos doentes, sem entrevista dos mesmos nem aplicação de qualquer questionário.

Os dados dos espermogramas foram obtidos pela sua solicitação à unidade de Procriação Medicamente Assistida da Maternidade Júlio Dinis do Centro Hospitalar do Porto, à unidade de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar S. João e ao Serviço de Genética da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. As normas de colheita e análise do esperma foram as recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (25).

Análise estatística

Dado o tamanho reduzido da amostra apenas foi possível efetuar uma análise estatística descritiva dos dados.

Resultados

O total de doentes do estudo foi de 64, com uma média de idades de 32.8 e a mediana de 32 anos, variando entre os 18 e os 54 anos. Em relação ao tipo histológico, a percentagem de tumores de células germinativas foi de 85.9%, de tumores do estroma gonadal/cordão sexual de 12.5% e outros de 1.56% (gráfico 1).

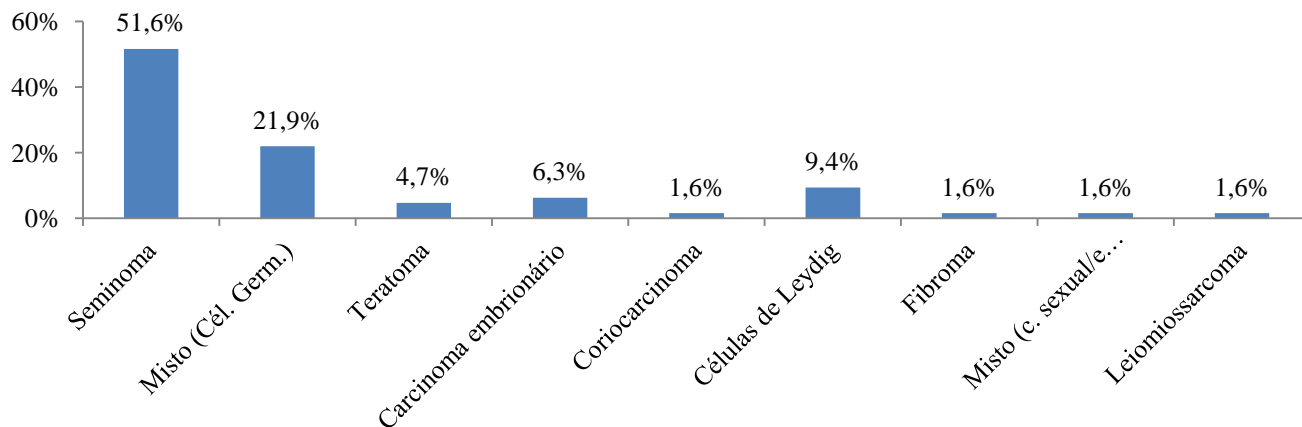


Gráfico 1 – Distribuição por tipo histológico no total de doentes.

Na amostra estavam representados vários estadios tumorais entre Ia e IIIc (gráfico 2). Assim, no estadio I temos 56.9% dos doentes, no estadio II 20.7% e no estadio III 22.4%.

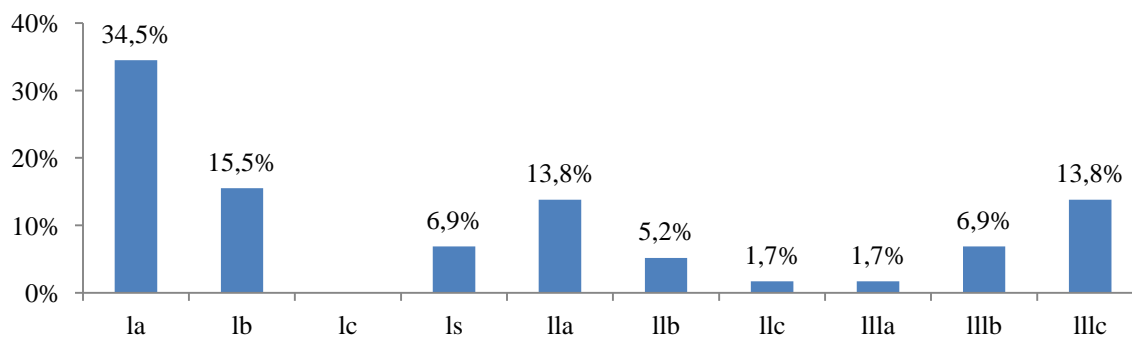


Gráfico 2 – Distribuição por estadio tumoral.

A nível dos seminomas, 67% encontrava-se ainda em estadio I, 27% em estadio II e 6% em estadio III (gráfico 4).

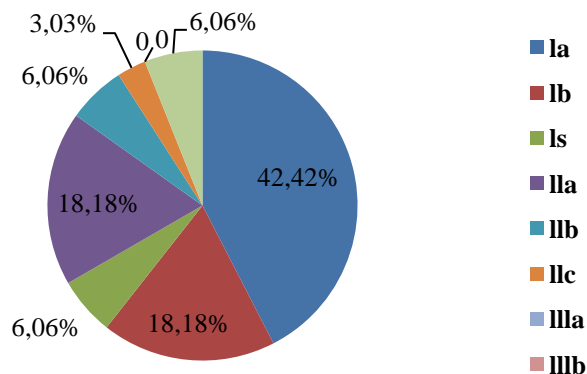


Gráfico 3 – Distribuição dos doentes com seminoma por estadio tumoral.

Dos tumores de células germinativas não seminomas, foram diagnosticados no estadio I 37% dos doentes, no estadio II 14% e no estadio III 45% dos doentes (gráfico 5).

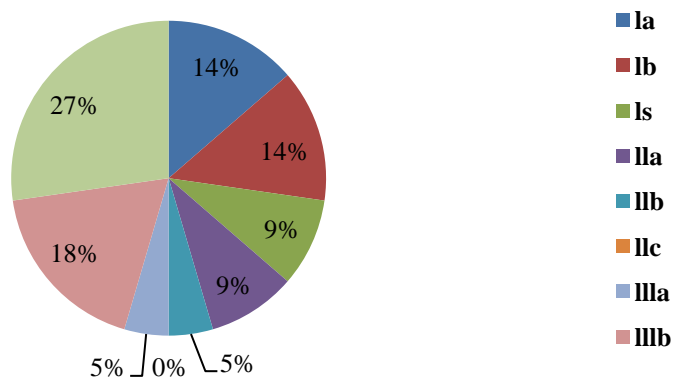


Gráfico 4 – Distribuição dos doentes com tumores de células germinativas não seminomas.

Os fatores de risco observados nos doentes que podem aumentar o risco de cancro do testículo ou levar a alterações no espermograma foram infertilidade, varicocele, doença crónica/infeciosa, tabagismo e neoplasia prévia, sendo que 33 doentes apresentavam pelo menos um destes fatores e 31 não apresentava nenhum fator de risco (gráfico 6).

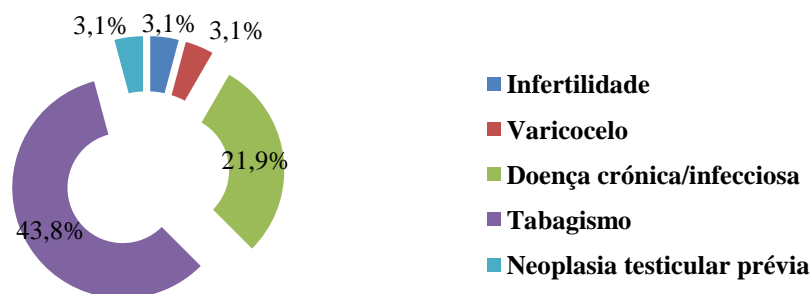


Gráfico 6 - Percentagem de cada fator de risco observado no total de doentes do estudo.

A recolha de esperma para sua criopreservação foi efetuada por 31 doentes (48.44%), havendo 31 doentes (48.44%) que não o realizaram. Em 2 dos casos (3.13%) não foi possível obter essa informação. A média de idades dos doentes que efetuaram criopreservação do esperma foi de 29.5 anos e a média de idade dos que não efetuaram foi de 36.9 anos.

A percentagem de doentes que fez recolha de esperma dos 18 aos 32 anos é de 69.7%, enquanto a percentagem dos que não fizeram é de 24.24% e em 6.06% não temos informação. No que se refere à faixa etária dos 33 aos 54 anos, 25.81% efetuou criopreservação de esperma, enquanto 74.19% não efetuaram.

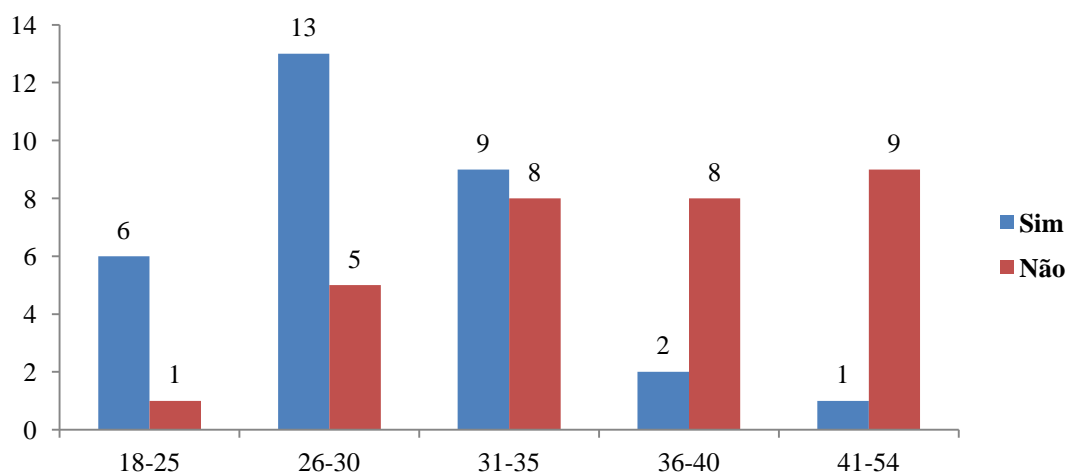


Gráfico 7 - Relação entre a realização ou não de criopreservação de esperma e a idade nos intervalos apresentados.

O gráfico seguinte apresenta o número de doentes que efetuou recolha de esperma por cada tipo histológico tumoral.

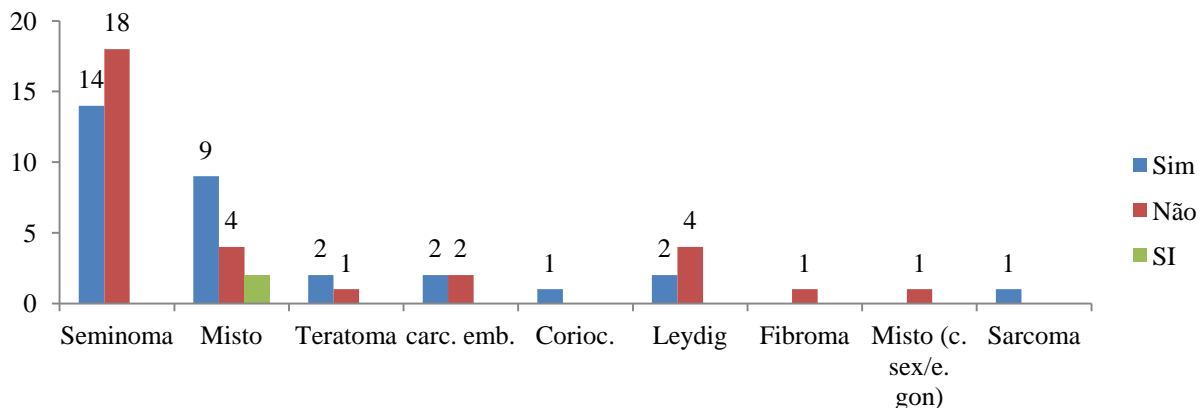


Gráfico 8 - Relação entre o tipo histológico tumoral e a recolha de esperma; SI- Sem Informação.

O gráfico 9 representa o número de doentes que em cada estadio tumoral que efetuou colheita de esperma.

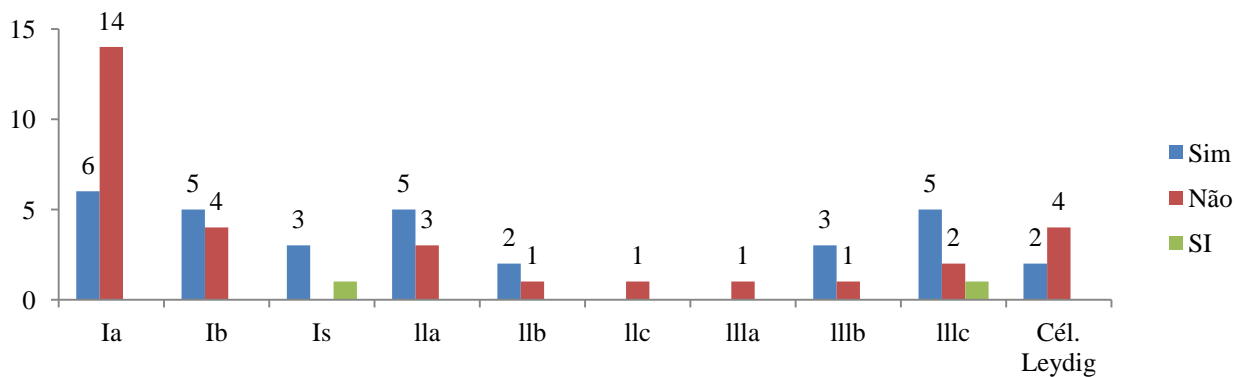


Gráfico 9 – Relação entre o estadio tumoral e a recolha de esperma; SI – Sem Informação

Os dados do espermograma facultados foram o número de espermatozoides por mililitro, a percentagem de motilidade rápida, de motilidade lenta, de motilidade in situ e de espermatozoides imóveis. Em 6 doentes não foi possível obter os resultados do espermograma.

Os doentes oligozoospermicos perfizeram um total de 60% (gráfico 10).

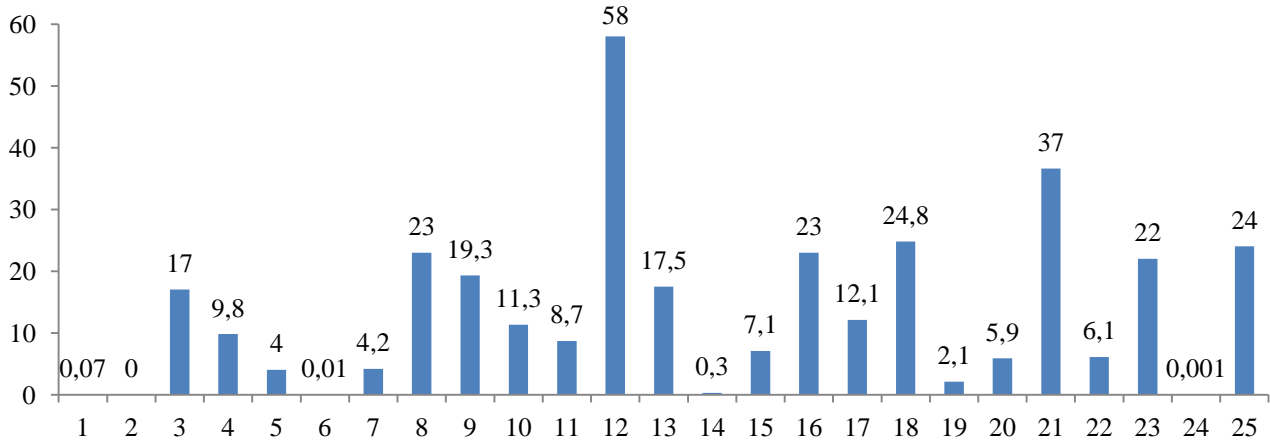


Gráfico 10 – Distribuição por número de espermatozoides (milhões/militro). Cada número no eixo das abcissas representa um doente.

A percentagem de doentes com astenozoospermia foi de 36% (gráfico 11).

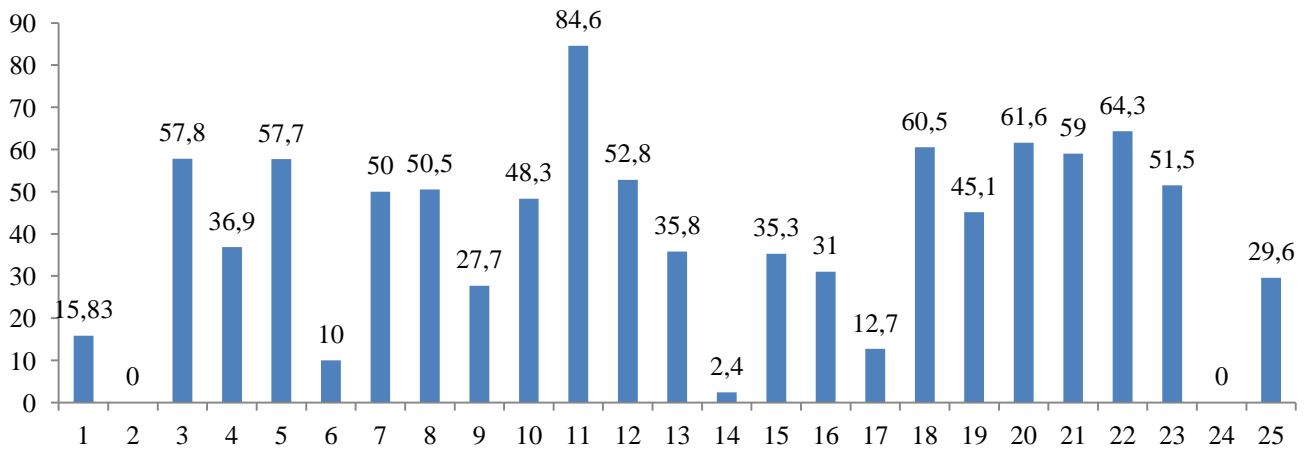


Gráfico 11 – Distribuição por motilidade útil (%). Cada número no eixo das abcissas representa um doente.

A percentagem de doentes oligozoospermicos nos seminomas foi de 50%.

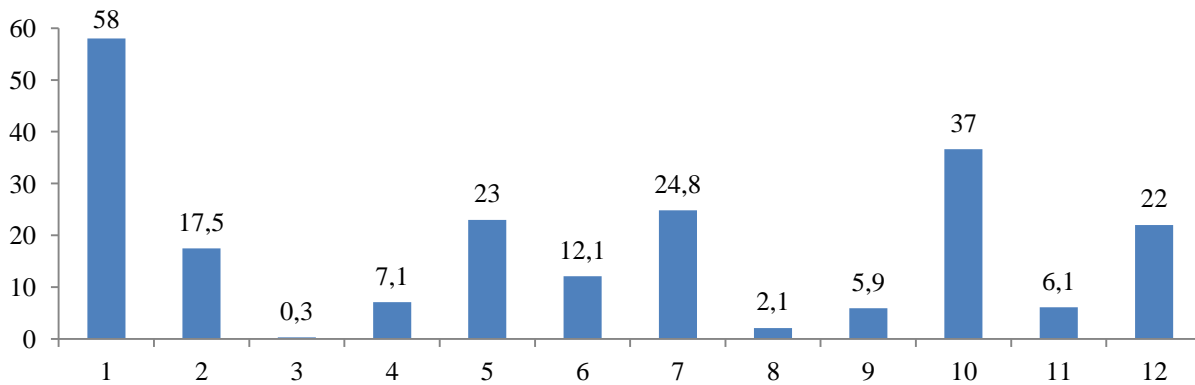


Gráfico 12 – Distribuição por número de espermatozoides (milhões/mililitro) nos seminomas; cada número no eixo das abcissas representa um doente.

A percentagem de doentes oligozoospermicos nos TNSCG foi de 72.73% (gráfico 13).

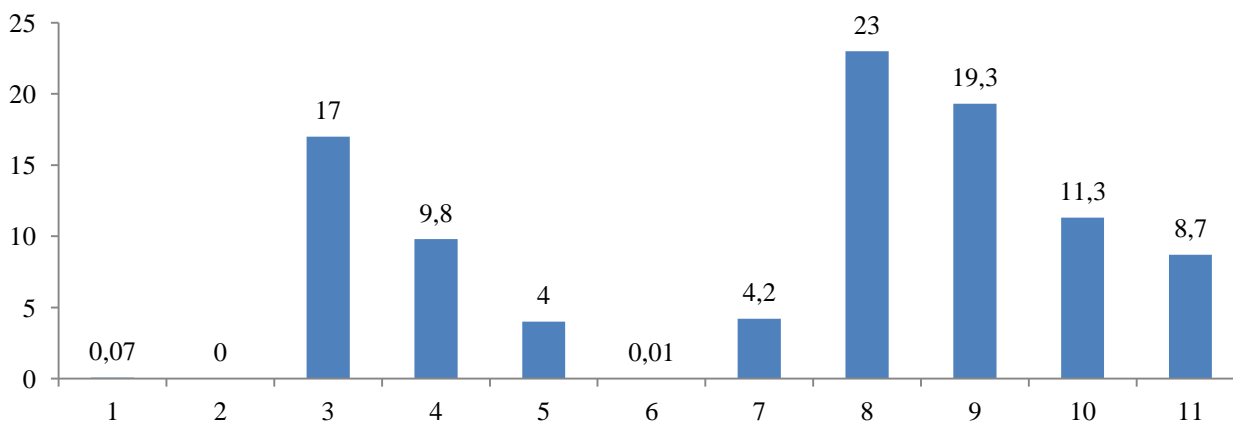


Gráfico 13 - Distribuição por número de espermatozoides (milhões/mililitro) nos TNSCG. Cada número no eixo das abcissas representa um doente.

A percentagem de doentes com astenozoospermia nos seminomas foi de 25% (gráfico 14).

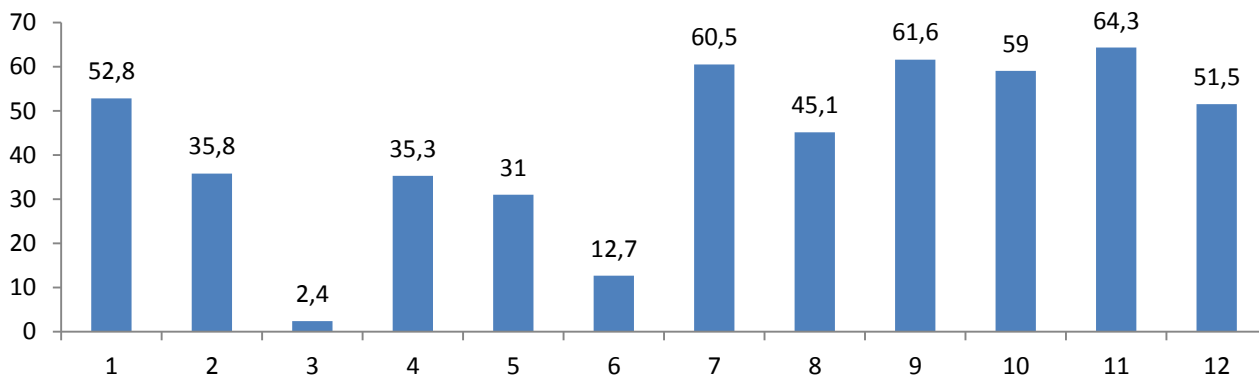


Gráfico 14 – Distribuição por motilidade útil (%) nos seminomas. Cada número no eixo das abcissas representa um doente.

A percentagem de doentes com astenozoospermia nos TNSCG foi de 36.36% (gráfico 15).

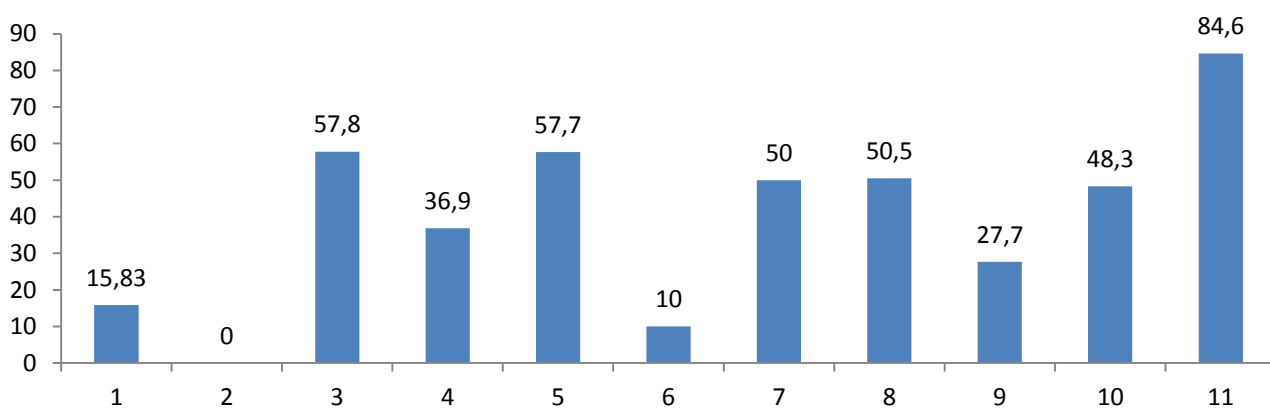


Gráfico 15 - Distribuição por motilidade útil (%) nos TNSCG. Cada número no eixo das abcissas representa um doente.

Tabela 1 - Médias dos parâmetros analisados no estudo e os valores normais: ml - mililitros.

	Estudo	Seminomas	TNSCG	Parâmetros normais
Espermatozoides	13,48 milhões/ml	17.96 milhões/ml	8.85 milhões/ml	>= 15 milhões/ml
Motilidade rápida	13.55%	17.09%	11.47%	>= 25%
Motilidade lenta	25.69%			
Motilidade <i>in situ</i>	13.44%			
Imóveis	39.68%			
Motilidade útil	39.24%	59.76%	51.41%	>= 32%

Tabela II – Distribuição da concentração de espermatozoides (milhões/mililitro) por estadio tumoral

Estadio							Média
Ia	23	19,3	23	5,9	37	24	22
Ib	9,8	4,2	0,01	17,5	22		10,7
Is	6,1						6,1
IIa	11,3	58	7,1	2,1			19,6
IIb	0,3	12,1					6,2
IIIb	17	8,7					12,9
IIIc	0,07	0,0	4	24,8			7,2

Tabela III - Distribuição da motilidade útil (%) por estadio tumoral

Estadio							Média
Ia	50,5	27,7	31	61,6	59	29,6	43,2
Ib	36,9	10	50	35,8	51,5		36,8
Is	64,3						64,3
IIa	48,3	52,8	35,3	45,1			45,4
IIb	2,4	12,7					7,6
IIIb	57,8	84,6					71,2
IIIc	15,83	0	57,7	60,5			33,5

Discussão

O cancro do testículo é a neoplasia maligna sólida mais comum em homens entre os 20 e os 35 anos. A incidência desta neoplasia tem vindo a aumentar no último século, com um aumento da incidência de 1.2% por ano na última década (23). O estudo mostrou que este tipo de neoplasia afeta sobretudo homens na terceira e quarta década de vida, o que vai de encontro à literatura já publicada (2).

A percentagem de tumores de células germinativas situa-se entre os 95%, sendo o seminoma o mais comum, representando cerca de 50 % de todos os tumores (3). No presente estudo, a percentagem de tumores de células germinativas situou-se nos 85%, estando um pouco abaixo dos valores publicados, enquanto que a percentagem de seminomas está de acordo com as publicações atuais.

Os estudos publicados revelam que esta neoplasia é diagnosticada em estadios precoces na grande maioria dos doentes, os quais se apresentam apenas com doença localizada(7). Os dados fornecidos pelo *National Kidney and Urologic Diseases Information Clearinghouse (NKUDIC)* revelam que 70% dos doentes se apresentam com doença localizada, 18% com disseminação local e 10% com metástases à distância. No presente estudo observou-se uma ligeira discrepância em relação aos dados do NKUDIC, em que os doentes com doença localizada é apenas pouco mais de metade, e a percentagem de doentes com metástases à distância é ligeiramente superior aos com disseminação local(8).

Ao avaliar os estadios separando os seminomas dos tumores de células germinativas não seminomas (TNSCG), verifica-se que apenas os seminomas apresentam altas percentagens de diagnósticos em estadios precoces. Nos TNSCG, o diagnóstico é feito maioritariamente em estadio III podendo estar relacionado com o facto de estes tumores apresentarem uma progressão mais rápida e mais agressiva (9).

O principal fator de risco confirmado para cancro do testículo é a criptorquidia. Os outros fatores identificados como podendo estar relacionados com o aumento da incidência ainda não estão inequivocamente confirmados (10)(11). A infertilidade e a existência de alterações no espermograma também estão associadas a um risco aumentado de cancro testicular (12). No presente estudo, os fatores de risco presentes são a infertilidade, história de atopia, mais concretamente asma, e história de neoplasia testicular prévia, em que cada fator se apresenta em cerca de 3% dos doentes. Apesar de mais nenhum fator de risco ter sido observado na população

do estudo, pode não ser tradutor da realidade pelo facto de os dados apenas serem recolhidos através do processo clínico, sendo que o profissional de saúde que acompanhou o doente pode não registado todos os dados relativos a estes fatores.

O cancro do testículo afeta principalmente homens em idade jovem dos quais uma parte significativa poderá ainda não ter descendência. Alguns estudos mostram que um número significativo de doentes com cancro e desejo de ter filhos apresentam maiores níveis de ansiedade perante a possibilidade de ficarem inférteis (13). Uma vez que o cancro testicular apresenta taxas de sobrevivência superiores a 90%, limitar as complicações do tratamento como a infertilidade, torna-se muito importante. A infertilidade já está associada ao cancro testicular mesmo antes de qualquer tratamento (14)(15). Várias hipóteses foram propostas, nomeadamente defeito pré-existente da espermatogénese, história de criptorquidia, hormonas produzidas pelo tumor (AFP e β -hCG), anticorpos anti-esperma, possível tumor contralateral ou intra-epitelial de células germinativas ou até o stress generalizado associado à doença (16)(17). Alguns estudos demonstram que antes de qualquer tratamento, 24% dos doentes são azoospermicos e 24% oligozoospermicos (6). A quimioterapia e a radioterapia, apesar de serem a grande razão do sucesso do tratamento, são gonadotóxicas, podendo levar a alterações irreversíveis na fertilidade, inclusive azoospermia em 45-80% dos doentes (6). A criopreservação do esperma fornece aos doentes a possibilidade de manter a fertilidade e idealmente deve ser feita antes de qualquer tipo de tratamento. Um estudo demonstrou que mesmo após a orquidectomia a qualidade do esperma se deteriora comparativamente aos níveis no pré-tratamento. Este facto pode dever-se à diminuição dos níveis de inibina B e o aumento da FSH após a orquidectomia. Sendo assim a altura correta para fazer a criopreservação talvez seja antes da orquidectomia (18).

Segundo as recomendações da Organização Mundial de Saúde todos os doentes jovens que sejam submetidos a tratamentos que alterem a fertilidade devem ser devidamente informados e aconselhados a fazer criopreservação, devendo ser dado ao doente o poder de escolha. Apesar destas recomendações, admite-se que apenas 20-30% dos doentes com cancro do testículo considerem fazer criopreservação e que apenas 10-20% realmente a faz (13).

No presente estudo, cerca de 48% dos doentes efetuaram criopreservação do seu esperma, não sendo possível determinar se esta foi efetuada antes ou após a orquidectomia. Estes valores são muito superiores ao de estudos internacionais. Ao avaliar as idades dos doentes que efetuaram

criopreservação, observa-se que a média de idades dos doentes que optaram por fazer é inferior em 7 anos relativamente aos que optaram por não o fazer.

Ao dividir os doentes em dois grandes grupos tendo em conta a mediana de idades verifica-se que até aos 32 anos quase 70% dos doentes efetuaram a recolha de esperma, tendência que é invertida após os 32 anos, em que cerca de 70% dos doentes não o fizeram. Estes valores são confirmados ao dividir os doentes por intervalos mais pequenos, em que se percebe com maior clareza que após os 35 anos poucos doentes optam pela colheita de esperma para criopreservação, e que mesmo na faixa etária dos 30 aos 35 anos, o número de doentes que procede à recolha é pouco superior aos que optam por não a efetuar. Todos estes dados podem estar relacionados com o facto de com o avançar da idade, a maior parte dos doentes já apresente a família completamente formada e com o número de filhos que o casal deseja, diminuindo a preocupação com a possibilidade de infertilidade futura.

Na análise do gráfico que relaciona o tipo histológico com a recolha de esperma verifica-se que nos seminomas mais de metade dos doentes optaram por não realizar recolha de esperma, enquanto em outros tumores com alguma representatividade, ou seja, os mistos de células germinativas e os teratomas, mais de metade optaram por o fazer. Este facto pode dever-se a que os seminomas são diagnosticados a sua maioria em estadios precoces, não tendo indicação para outros tratamentos adicionais além da orquidectomia. Nos tumores mistos de células germinativas e nos teratomas já não se verifica o mesmo, e sendo estes mais agressivos, a quimioterapia é utilizada com maior frequência. Os factos anteriores são corroborados pela análise do gráfico 9 onde se verifica que a maioria dos doentes em estadio Ia não efetuaram criopreservação, facto que se inverte nos estadios tumorais mais avançados. Apesar das recomendações dizerem que se deve efetuar recolha de esperma antes da orquidectomia, nem sempre se verifica este facto, pelo que após a decisão de que o doente não realizará mais nenhum tratamento com potencial de alterar a fertilidade, a criopreservação já não se torne tão pertinente.

De todos os parâmetros observados, apenas a média da motilidade útil está dentro dos valores de referência, o que reflete uma alteração significativa destes parâmetros. A percentagem de doentes oligozoospermicos deste estudo é significativamente superior a observada nos estudos internacionais. A percentagem de astenozoospermia representa um pouco mais de um terço dos doentes, o que pode refletir uma maior afeção na produção do esperma do que da sua qualidade por parte da neoplasia.

Segundo o estudo de Hallak et al, o tipo histológico do tumor não altera significativamente a qualidade do esperma, sendo que os tipos histológicos seminoma e TNSCG produzem alterações semelhantes (26). O avanço do estadio tumoral parece não diminuir significativamente a qualidade do esperma (26). Neste estudo, a média de concentração de espermatozoides nos seminomas é um pouco superior ao dos TNSCG, sendo nestes a oligozoospermia mais elevada, podendo refletir uma tendência para que os TNSCG alterem as características do esperma de forma mais acentuada, sendo estes valores diferentes dos já publicados. A nível da motilidade útil, ambos os tumores apresentam valores semelhantes, apesar de nos TNSCG a percentagem de astenozoospermia ser superior.

Ao analisar os valores da concentração de espermatozoides, apenas no estadio Ia se verifica que esta é ligeiramente superior, no que se refere a motilidade útil verifica-se que não há uma evidente diferença entre os valores, constatação que vai de encontro aos estudos já publicados.

Conclusão

O tumor do testículo afeta principalmente indivíduos em idades jovens, sendo o tipo histológico de células germinativas o mais frequente, em que o tipo histológico com maior percentagem é o seminoma. A maioria dos doentes é diagnosticada em estadios precoces, levando a que as taxas de sobrevivência sejam muito elevadas. Assim sendo é necessário garantir que os doentes tenham a possibilidade de efetuar criopreservação de esperma, visto serem submetidos a tratamentos com potencial infértil. No entanto, mesmo antes de efetuar qualquer tratamento, já uma grande parte dos doentes apresentam alterações no espermograma. Ao analisar se essas alterações poderiam estar dependentes do tipo histológico tumoral verificou-se que os TNSCG apresentam maior percentagem de oligozoospermia, sendo que os restantes parâmetros não apresentam grandes diferenças. As características do esperma parecem não serem alteradas pelo estadio tumoral em que o indivíduo se apresenta.

Referências bibliográficas

1. Albers, P., Albrecht, W., Algaba, F., Bokemeyer, C., Cohn-Cedermark, G., Fizazi, K., Horwich, A., and Laguna, M.P. 2011. EAU guidelines on testicular cancer: 2011 update. *European urology* 60:304-319.
2. Garner, M.J., Turner, M.C., Ghadirian, P., and Krewski, D. 2005. Epidemiology of testicular cancer: an overview. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 116:331-339.
3. Ulbright, T.M. 2008. The most common, clinically significant misdiagnoses in testicular tumor pathology, and how to avoid them. *Advances in anatomic pathology* 15:18-27.
4. Gandini, L., Sgro, P., Lombardo, F., Paoli, D., Culasso, F., Toselli, L., Tsamatropoulos, P., and Lenzi, A. 2006. Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Human Reproduction* 21:2882-2889.
5. Fraietta, R., Spaine, D.M., Bertolla, R.P., Ortiz, V., and Cedenho, A.P. 2010. Individual and seminal characteristics of patients with testicular germ cell tumors. *Fertility and sterility* 94:2107-2112.
6. Howell, S.J., and Shalet, S.M. 2001. Testicular function following chemotherapy. *Human reproduction update* 7:363-369.
7. Dearnaley, D.P., Huddart, R.A., and Horwich, A. 2001. Regular review - Managing testicular cancer. *British Medical Journal* 322:1583-1588.
8. Mitchell H. Sokoloff, MD, Geoffrey F. Joyce, PhD e Matthew Wise, MPH. Chapter 17, Testicular cancer. Litwin MS, Saigal CS, editors. *Urologic Diseases in America*. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Washington, DC: US Government Printing Office, 2007; NIH Publication No. 07-5512 [pp. 555 - 585]
9. Bosl, G.J., and Motzer, R.J. 1997. Testicular germ-cell cancer. *The New England journal of medicine* 337:242-253.
10. Gori S., Porrozzì S., Roila F., Gatta G., Giorgi U., Marangolo M. Germ cell tumours of the testis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 53 (2005) 141–164.
11. Swerdlow A. J., Huttly S. R., Smith P. G. Testicular cancer and antecedent diseases. *Br J Cancer*. 1987 January; 55(1): 97–103.

12. Jacobsen R, Bostofte E, Engholm G, et al. Risk of testicular cancer in men with abnormal semen characteristics: cohort study. *BMJ* 2000;321:789–92.
13. Saito, K., Suzuki, K., Iwasaki, A., Yumura, Y. and Kubota, Y. (2005), Sperm cryopreservation before cancer chemotherapy helps in the emotional battle against cancer. *Cancer*, 104: 521–524.
14. Presti, J.C., Herr H.W., and Carroll P.R.: Fertility and testis cancer. *Urol Clin North Am* 20: 173-179,1993.
15. Foster R.S., McNulty A., Rubin L.R., et al: The fertility of patients with clinical stage I testis cancer managed by nerve-sparing retroperitoneal lymph node dissection. *J Urol* 152:1139–1142,1994.
16. Carter M.: Fertility in the testicular cancer patient. *World J Urol* 11: 70–75,1993.
17. Meirow D.,and Schenker J.G.: Cancer and male infertility. *Hum Reprod* 10: 2017–2022,1995.
18. Petersen P.M., Skakkebek N.E., Rorth M., Giwercman A. Semen quality and reproductive hormones before and after orquidectomy in men with testicular cancer. *The Journal of Urology* Volume 161, Issue 3 , Pages 822-826, March 1999.
19. Mann K. Tumor markers in testicular cancer. *Urologe A*. 1990 Mar;29(2):77-86.
20. Albrecht W. *et al.* Testicular tumor markers: Corner-stones in the management of malignant germ cell tumors. *J Lab Med* 2004;28(2):109–115
21. Hoshi, S., Suzuki, K.-I., Ishidoya, S., Ohyama, C., Sato, M., Namima, T., Saito, S. and Orikasa, S. (2000), Significance of simultaneous determination of serum human chorionic gonadotropin (hCG) and hCG- β in testicular tumor patients. *International Journal of Urology*, 7: 218–223.
22. Nørgaard-Pedersen B., Schultz H. P., Arends J., Brincker H., Krag Jacobsen G., Lindeløv B., Rørth M., and Svennekjær I. L. Tumour Markers in Testicular Germ Cell Tumours Five-Year Experience from the DATECA Study 1976–1980. *Acta Oncologica* 1984 23:4, 287-294.
23. McGlynn KA, Devesa SS, Sigurdson AJ, Brown LM, Tsao L, Tarone RE. Trends in the incidence of testicular germ cell tumors in the United States. *Cancer*. Jan 1 2003;97(1):63-70.
24. Sobin LH, Gospodariwicz M, Wittekind C (eds). TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer, 7th edn. Wiley-Blackwell, 2009 Dec; pp 249-254. <http://www.uicc.org/tnm/>
25. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th edn. WHO, 2010. <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/9789241547789/en/index.html>

26. Hallak J, Kolettis PN, Sekhon VS, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Sperm cryopreservation in patients with testicular cancer. *Urology*. 1999 Nov;54(5):894-9.
27. Bosl GJ, Lange PH, Fraley EE, Goldman A, Nochomovitz LE, Rosai J, et al. Human chorionic gonadotropin and alphafetoprotein in the staging of nonseminomatous testicular cancer. *Cancer* 1981;47(2):328-32.
28. International-Germ-Cell-Cancer-Collaborative-Group. International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. International Germ Cell Cancer Collaborative Group. *J Clin Oncol* 1997;15(2):594-603.
29. Trigo JM, Taberero JM, Paz-Ares L, García-Llano JL, Mora J, Lianes P, *et al.* Tumor markers at the time of recurrence in patients with germ cell tumors. *Cancer* 2000;88:162-8.