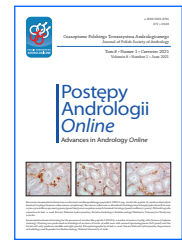




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

PATOGENEZA NOWOTWORÓW ZARODKOWYCH JĄDER W ŚWIETLE NAJNOWSZYCH BADAŃ

CURRENT UNDERSTANDING OF THE PATHOGENESIS OF TESTICULAR GERM CELL TUMOURS

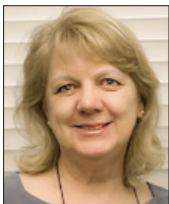
Ewa Rajpert-De Meyts 

Department of Growth & Reproduction, Copenhagen University Hospital (Rigshospitalet), Kopenhaga, Dania

Autor do korespondencji/corresponding author: Ewa.Rajpert-De.Meyts, Copenhagen University Hospital (Rigshospitalet), 2100 Kopenhaga, ul. Blegdamsvej 9, Dania

e-mail: Ewa.Rajpert-De.Meyts@regionh.dk

Otrzymano/received: 21.06.2021 r. • Zaakceptowano/accepted: 05.07.2021 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2021.04](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2021.04)

Ewa Rajpert-De Meyts – dr n. med., konsultant w Departamencie Wzrostu i Reprodukcyjności Kopenhaskiego Szpitala Uniwersyteckiego w Danii, gdzie do 2018 r. kierowała grupą badawczą. Jest absolwentką Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, następnie kształciła się naukowo w zakresie endokrynologii i biologii molekularnej w Brukseli (Belgia) oraz w Los Angeles (USA). Jej badania koncentrują się na patogenezie i wczesnej diagnostyce nowotworów zarodkowych, aspektach rozwojowych rozrodu człowieka, zaburzeniach rozwoju płci oraz genetyce niepłodności męskiej. Jest autorką lub współautorką ponad 300 artykułów naukowych. Była redaktorem naczelnym International Journal of Andrology (2009–2012 r.) i Andrology (2012–2016 r.). Obecnie jest Sekretarzem Rady Wykonawczej Europejskiej Akademii Andrologii.

Ewa Rajpert-De Meyts – MD, PhD, DMSc, a senior research consultant at the Department of Growth & Reproduction of Copenhagen University Hospital, Denmark where until 2018 she led a research group. She graduated from the Silesian Medical University in Poland, then trained in basic endocrinology and molecular biology in Brussels, Belgium and in Los Angeles, USA. Her research is focused on the pathogenesis and early diagnosis germ cell tumours, developmental aspects of human reproduction, disorders of sex development, and genetics of male infertility. She authored or co-authored more than 300 scientific articles. She was the Editor-in-Chief of International Journal of Andrology (2009–2012) and Andrology (2012–2016). She is currently the Secretary of the Executive Council of the European Academy of Andrology.

Streszczenie

Artykuł jest przeglądem aktualnego stanu wiedzy na temat patogenezy raka jąder. Androlodzy powinni być świadomi, że ten nowotwór występuje u stosunkowo młodych pacjentów i ma związek z dysgenezą jąder oraz obniżoną płodnością. Rak jądra jest synonimem nowotworów komórek zarodkowych jądra (NZJ), które wywodzą się z neoplazji komórek germinalnych *in situ* (GCNIS) i obejmują nasieniaka i nienasieniaka. Wysokie ryzyko NZJ u pacjentów z zaburzeniami rozwoju płci i zespołem dysgenezy jąder wskazują na duży wpływ okresu



Artykuł jest udostępniany na podstawie Licencji Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

rozwojowego. Komórki GCNIS są zablokowanymi w rozwoju gonocytami płodowymi, które zachowują wysoką ekspresję czynników pluripotencji i embrionalny profil mikroRNA (miR-371a-3p). Blok rozwojowy jest prawdopodobnie spowodowany zakłóceniem komunikacji między rozwijającymi się komórkami rozrodczymi a ich niszą somatyczną, która jest regulowana przez wiele czynników. Wśród zaburzonych szlaków zidentyfikowano kaskadę sygnalizacyjną różnicowania płci, sygnalizację androgenową, sygnalizację gonadotropinową oraz problemy z podziałem mejotycznym. Nie można wykluczyć, że zostaną odkryte jeszcze inne szlaki uczestniczące w etiopatogenezie NZJ. Szybko zmieniające się trendy zachorowalności na NZJ wskazują na główną rolę czynników środowiskowych, które jak do tej pory pozostają nieznanne. Natomiast różnice etniczne w zachorowalności na NZJ potwierdzają rolę podłoża genetycznego, z najsilniejszym zagrożeniem populacji rasy kaukaskiej. Genetyczne markery podatności zidentyfikowane w badaniach sekwencjonowania całego genomu wskazują na liczne szlaki związane głównie z różnicowaniem płci i rozwojem gonad, ale także z cyklem centrosomów i funkcją telomerazy, m.in. *KITLG*, *SPRY4*, *BAK1*, *DMRT1*, *AR*, *TERT*, *GATA4*, *AMHR2*. Nowotwory zarodkowe jądra wykazują uderzający brak mutacji onkogennych z wyjątkiem wtórnych zmian adaptacyjnych w czasie rozwoju choroby nowotworowej, m.in. poliploidyzacji genomu, amplifikacji 12p i mutacji *KIT* i *KRAS/NRAS*.

Podsumowując, rak jądra jest chorobą związaną z rozwojem gonad, o wielogenowej i wieloczynnikowej etiologii. Etiopatogeneza NZJ jest złożona i obejmuje różnorodne zaburzenia prawidłowego rozwoju gonad u osób podatnych genetycznie. Zaburzenia rozwoju są najprawdopodobniej wywoływane przez wiele różnych czynników środowiskowych, które wymagają weryfikacji w dużych i dobrze kontrolowanych badaniach kohortowych.

Słowa kluczowe: rak jądra, dysgenезja jąder, niepłodność

Abstract

This review article discusses the latest evidence concerning pathogenesis of testicular cancer. Andrologists should be aware of this malignancy, because of the association with testicular dysgenesis and decreased fertility in relatively young patients. Cancer of the testis is synonymous with testicular germ cell tumours (TGCT) which are derived from germ cell neoplasia *in situ* (GCNIS) and comprise seminoma and non-seminoma. A high risk of TGCT in patients with differences in sex development and testicular dysgenesis syndrome strongly implicate developmental period. GCNIS cells are developmentally arrested and transformed gonocytes which retain a high expression of pluripotency factors and an embryonic profile of micro-RNAs (miR-371a-3p). The arrest is likely caused by a disruption of the cross-talk between developing germ cells and their somatic niche, which is regulated by a multitude of factors. Among the disrupted pathways, the sex differentiation signalling cascade, the androgen signalling, the gonadotrophin signalling and the sex-dimorphic mitosis-meiosis switch have been identified, but other pathways likely will be discovered. The rapidly changing incidence trends of testicular cancer implicate mainly environmental/lifestyle factors, which remain unknown, while ethnic differences in the incidence support a role of genetic background, with Caucasian populations being at greatest risk. Susceptibility loci identified in genome-wide sequencing and targeted genomic studies have implicated numerous pathways mainly linked to sex differentiation and gonadal development, but also centrosome cycle and telomerase function, e.g. *KITLG*, *SPRY4*, *BAK1*, *DMRT1*, *AR*, *TERT*, *GATA4*, *AMHR2*. By contrast, testicular germ cell tumours display a striking paucity of oncogenic driver mutations, except secondary genomic changes, incl. polyploidization, amplification of 12p and mutations in *KIT* and *KRAS/NRAS*.

In conclusion, TGCT is a developmental disease, with polygenic and multifactorial aetiology. The etiopathogenesis of testicular cancer is complex, and likely involves disruption of normal gonadal development in genetically susceptible individuals by a multitude of environmental factors, which need to be identified in large and well-controlled cohort studies.

Key words: testicular cancer, testicular dysgenesis, infertility

Skróty / Abbreviations

AFP – α -fetoproteina (ang. *α -fetoprotein*); AGD – odległość anogenitalna (ang. *anogenital distance*); AIS – zespół niewrażliwości na androgeny (ang. *androgen insensitivity syndrome*); AR – gen kodujący receptor androgenowy (ang. *androgen receptor*); CIS (łac.): carcinoma *in situ*; DES – dietylostylbestrol (ang. *diethylstilbestrol*); DSD – zaburzenia różnicowania płciowego (ang. *disorders of sex development*); GCNIS – neoplazja komórek germinalnych *in situ* (ang./łac. *germ cell neoplasia in situ*); GWAS – całogenomowe badanie sprzężeń genetycznych (ang. *genome-wide association study*); hCG – ludzka gonadotropina kosmówkowa (ang. *human chorionic gonadotropin*); NZJ – nowotwory zarodkowe jądra (ang. *testicular germ cell tumours*); RoH – serie homozygotyczności (ang. *runs of homozygosity*); SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. *single-nucleotide polymorphism*); TDS – zespół dysgenезji jąder (ang. *testicular dysgenesis syndrome*); WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organisation*)

Niniejszy artykuł jest skierowany do andrologów i specjalistów z pokrewnych dyscyplin, którzy interesują się biologią i patogenezą raka jądra. Rak ten jest nietypowym typem guza łitego, ponieważ jest to nowotwór występujący najczęściej u młodych mężczyzn i ma silne

powiązania z wczesnym okresem rozwojowym. Ważne jest, aby androlodzy pamiętali o możliwości wystąpienia nowotworu jądra u pacjentów z niepłodnością lub innymi zaburzeniami układu rozrodczego, zwłaszcza w świetle faktu, że guzy jąder stały się częstsze w ostatnich

dziesięcioleciach. Na szczęście większość nowotworów jąder jest wyjątkowo wrażliwa na chemioterapię i radioterapię, stąd też rokowanie w zakresie przeżycia jest bardzo dobre, a śmiertelność niska w porównaniu z innymi nowotworami złośliwymi.

Częstość występowania nowotworów jąder wykazuje od kilku dekad tendencję wzrostową, ale z bardzo znaczącymi różnicami geograficznymi i dynamicznymi zmianami w ciągu względnie krótkiego czasu. Nie zostało w pełni wyjaśnione, dlaczego cechy epidemiologiczne i biologiczne raka jądra są tak nietypowe w porównaniu z innymi chorobami nowotworowymi. Na pewno pochodzenie z komórek germinalnych odgrywa dużą rolę. Niemniej jednak coraz więcej badań wskazuje na znaczenie czynników środowiskowych, działających na populację lub osoby z podatnym podłożem genetycznym we wczesnym okresie rozwojowym. Głównym tematem poniższego przeglądu jest omówienie patomechanizmów związanych z genetycznymi, epigenetycznymi i środowiskowymi czynnikami powodującymi rosnącą częstość nowotworów jąder.

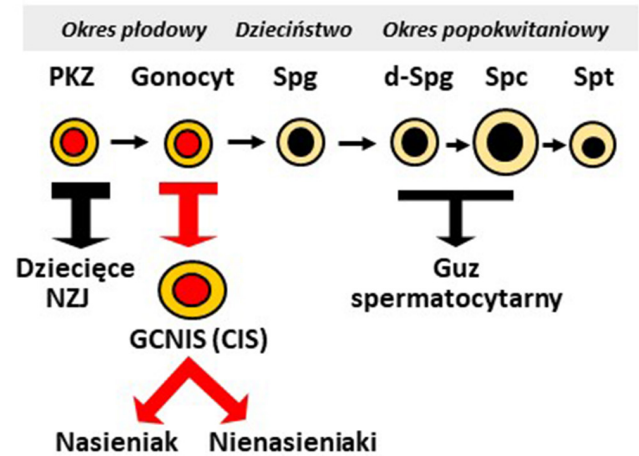
Histopatologia nowotworów jąder

Krótką informacją na temat histopatologii jest konieczna dla zrozumienia patogenyzy nowotworów jądra. Nowotwory jądra mogą wywodzić się z kilku typów komórek, ale popularny termin „rak jądra” jest praktycznie synonimem złośliwych nowotworów pochodzących z komórek rozrodczych (płciowych), zwanych nowotworami germinalnymi albo zarodkowymi, które stanowią zdecydowaną większość przypadków. Inne guzy jąder, które pochodzą z komórek somatycznych obecnych w jądrze, są znane jako nowotwory sznurów płciowych (guzy komórek Sertolego) i podścieliska (guzy komórek Leydiga).

Nowotwory zarodkowe jądra (NZJ¹, ang. *testicular germ cell tumours*) obejmują ok. 95% przypadków raka jąder. NZJ mogą wystąpić w każdym wieku, ale są rzadkie u dzieci i osób starszych, natomiast ich ogromna większość występuje u młodych mężczyzn (15–45 lat), począwszy od nastolatków po okresie pokwitania. Częstość występowania raptownie spada u mężczyzn w piątej dekadzie życia, co jest nietypowe dla guzów litych, które zwykle występują u osób starszych. Według najnowszej klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) (Moch i wsp., 2016) NZJ dzielą się na dwie grupy w zależności od tego, czy wywodzą się ze zmiany przedinwazyjnej, tzw. nowotworu germinalnego *in situ* (GCNIS, ang. *germ cell neoplasia in situ*), uprzednio znanego jako *carcinoma in situ* (CIS) (Berney i wsp., 2016; Skakkebaek, 1972). Należy wspomnieć, że oprócz GCNIS istnieje pokrewny stan przednowotworowy, tzw. gonadoblastoma, który występuje najczęściej u osób z zaburzeniami

różnicowania płci (DSD, ang. *disorders of sex development*) (Hersmus i wsp., 2017; Słowikowska-Hilczer i wsp., 2015). U niepłodnych mężczyzn, szczególnie z atroficznymi jądrami, zaobserwowano również jednocześnie występowanie GCNIS i gonadoblastoma (Jørgensen i wsp., 2015).

Najczęstsze NZJ, które występują u młodych mężczyzn, wywodzą się z GCNIS i obejmują tzw. nasieniaki (łac. *seminoma*) i nienasieniaki (łac. *nonseminoma*) (rycina 1). Nienasieniaki charakteryzują się uderzającą różnorodnością morfologiczną i obejmują: raka zarodkowego (łac. *carcinoma embryonale*), guz pęcherzyka żółtkowego (łac. *tumor sinus endodermalis, yolk sac tumor*),



Ryc. 1. Nowotwory zarodkowe jąder (NZJ) wywodzą się z różnych typów komórek germinalnych, zależnie od stadium ich dojrzewania – od okresu płodowego do dojrzałej spermatogenezy. Komórki z jądrami w kolorze czerwonym zachowują ekspresję embrjonalnych czynników pluripotencji. Dziecięce NZJ wywodzą się z pierwotnych komórek zarodkowych (PKZ). Najczęstsze NZJ występujące u młodych mężczyzn (nasieniaki i nienasieniaki) wywodzą się z gonocytów płodowych, ze zmiany przedinwazyjnej, tzw. nowotworu germinalnego *in situ* (GCNIS), uprzednio znanego jako *carcinoma in situ* (CIS). Guz spermatocytarny rozwija się tylko u dorosłych mężczyzn z dojrzałych spermatogonii (d-Spg) lub wczesnych spermatozoów (Spc)

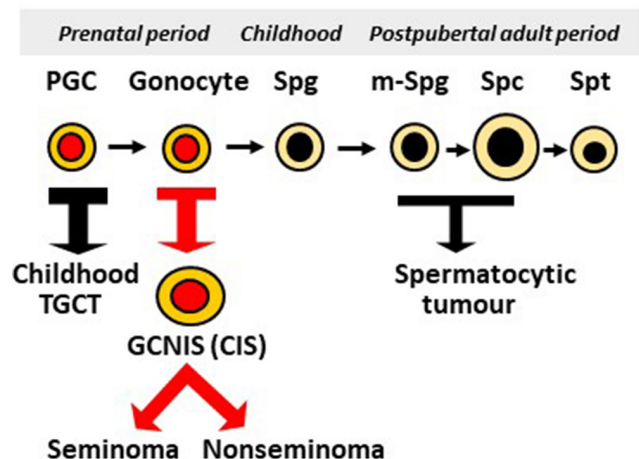


Fig. 1. Testicular germ cell tumours originate from various types of germ cells, depending on their stage of maturation from the fetal period to the period of post-pubertal mature spermatogenesis. Cells marked with red nuclei retain the expression of embryonal pluripotency factors. Childhood germ cell tumours originate from primordial germ cells (PKZ). The most common tumours of young men (seminoma and nonseminomas) originate from fetal gonocytes through the precancerous stage of germ cell neoplasia *in situ* (GCNIS), formerly known as *carcinoma in situ* (CIS). Spermatozoic tumor develops only in adult males from mature spermatogonia (m-Spg) or early spermatozoa (Spc)

1. Skrót w języku angielskim – TGCT (przyp. red.)

kosmówczaka (łac. *choriocarcinoma*) i potworniaka (łac. *teratoma*). Kosmówczak przypomina trofoblast ciążowy i wytwarza duże ilości ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej hCG (ang. *human chorionic gonadotropin*), natomiast guz pęcherzyka żółtkowego wydziela α -fetoproteinę (AFP, ang. *α -fetoprotein*), co pomaga w diagnozowaniu nienasieniaków, które najczęściej występują jako guzy mieszane złożone z kilku podtypów histologicznych (*Moch i wsp., 2016*).

GCNIS, gonadoblastoma, nasieniak i nieodróżniony rak zarodkowy charakteryzują się profilem ekspresji genów, który jest bardzo zbliżony do normalnych pierwotnych komórek rozrodczych i gonocytów płodowych, z zachowaną znaczną ekspresją czynników pluripotencji, np. OCT4/POU5F4, NANOG, AP2-gamma/TFAP2C, LIN28, a także specyficznych dla komórek macierzystych typów mikro-RNA (*Almstrup i wsp., 2020; Sonne i wsp., 2009*). Aktywacja czynników pluripotencji tłumaczy heterogenność nienasieniaków, które mogą zróżnicować się w kierunku wszystkich możliwych typów tkanek somatycznych. Ten profil ekspresji, normalnie nieobecny w dojrzałych komórkach płciowych u dorosłych, jest wykorzystywany do diagnozy NZJ w biopsjach jąder lub w rozmazach nasienia (*Rajpert-De Meyts i wsp., 2015*).

Dziecięce NZJ i guz spermatocytarny u starszych mężczyzn nie są związane z GCNIS, lecz wywodzą się z innych etapów dojrzewania komórek zarodkowych, co tłumaczy ich inną patogenezę niż NZJ (rycina 1). Te guzy są rzadkie, więc nie będą dalej omawiane w tym artykule. Poniżej podano tylko krótką informację na temat ich patogenezy.

Dziecięce NZJ obejmują dwa główne typy histologiczne: łagodne klinicznie potworniaki (w tym torbiele nabłonkowe) oraz złośliwe guzy pęcherzyka żółtkowego typu przedpokwitaniowego. Rzadkie przypadki potworniaków typu przedpokwitaniowego opisano również u młodych dorosłych (*Oosterhuis i wsp., 2015*). W świetle nowszych badań dojrzałe potworniaki mogą być częstsze u dorosłych mężczyzn niż dawniej sądzono (*Semjen i wsp., 2017*), więc dokładne diagnozowanie różnicowe jest niezbędne, szczególnie w przypadkach cyst dermoidalnych u młodych mężczyzn (*Michalski i wsp., 2018*). Cechy histopatologiczne są takie same jak u odpowiedników popokwitaniowych, ale w kariotypie guzów dziecięcych lub typu przedpokwitaniowego nie ma izochromosomu 12p. Dziecięce NZJ nie mają też związku z dysgenезją jąder i są najprawdopodobniej spowodowane nieznanymi jeszcze mutacjami genów, które wpływają na różnicowanie pierwotnych komórek płciowych (*Murray i wsp., 2015; Oosterhuis i Looijenga, 2019*).

Guz spermatocytarny jest bardzo rzadki i występuje u starszych mężczyzn w wieku ok. 52–56 lat (*Hu i wsp., 2019; Rajpert-De Meyts i wsp., 2016*). Guz ten nie ma związku z wczesnym rozwojem jąder i powstaje z wolno rosnących klonalnie dojrzałych spermatogonii lub wczesnych pierwotnych spermatocytów i ma bardzo

podobny do tych komórek profil immunohistologiczny (rycina 1). Pochodzenie od dojrzałych spermatogonii tłumaczy, dlaczego jest to jedyny guz germinalny bez odpowiednika jajnikowego (*Moch i wsp., 2016; Oosterhuis i Looijenga, 2019*). Guzy spermatocytarne są spowodowane rzadkimi mutacjami *de novo* w genach stymulujących podział spermatogonii, zwłaszcza w szlaku sygnałowym RAS-MAKP (*FGFR2, FGFR3, PTPN11, HRAS, NRAS*) lub dużymi aberracjami chromosomalnymi (chr. 9, chr. 20, chr. 7) prowadzącymi do aneuploidii (*Giannoulitou i wsp., 2017; Goriely i wsp., 2009*). Aberracje te są związane ze starzeniem się komórek rozrodczych (tzw. mutacje samolubne) i jeśli zostaną przekazane następnemu pokoleniu przez starszych ojców, mogą powodować u dzieci ciężkie choroby, takie jak achondroplazja, dysplazja tanatoforyczna, dysplazja Cruzona, zespół Noonan czy zespół Costello (*Goriely i wsp., 2009*).

Cechy epidemiologiczne nowotworów wywodzących się z GCNIS

Występowanie

Cechy epidemiologiczne raka jądra są zupełnie inne niż nowotworów litych tkanek somatycznych, które występują przeważnie u osób starszych. Ogólnie częstość występowania raka jądra jest znacznie niższa niż np. raka prostaty czy płuc, ale NZJ jest najczęstszym nowotworem u młodych mężczyzn rasy kaukaskiej, podczas gdy wśród młodych mężczyzn pochodzenia afrykańskiego rak jądra zajmuje drugie miejsce tuż po raku jelita grubego (*Ward i wsp., 2019*). Wskaźniki zapadalności są najwyższe w niektórych obszarach Europy (>10/100 tys.), a najniższe (<0,5/100 tys.) w populacjach afrykańskich i wschodnioazjatyckich (*Gurney i wsp., 2019*). Częstość występowania wzrosła w ostatnich dziesięcioleciach XX w., ale z wyraźnymi różnicami geograficznymi. Najwyższe wskaźniki odnotowano w Europie Północnej (Norwegia i Dania), ale zapadalność w Skandynawii ustabilizowała się w ostatnich dekadach i ma tendencję spadkową, podczas gdy w sąsiadującej Finlandii, która zawsze miała bardzo niskie wartości, zaobserwowano gwałtowny wzrost zachorowań (*Gurney i wsp., 2019; Ylönen i wsp., 2018*). Podobny wzrost zachorowań zaobserwowano także w Europie Południowo-Wschodniej, która wcześniej była obszarem o niskiej zachorowalności – szczególnie w Chorwacji (6% wzrostu rocznie) i Słowenii, a poza Europą wzrost raka jądra wystąpił wśród populacji latynoskich w obu Amerykach (*Chien i wsp., 2014; Gurney i wsp., 2019*).

W Polsce zapadalność na raka jądra plasuje się poniżej przeciętnych wartości dla krajów europejskich: w okresie 2008–2012 Polska zajmowała 19. miejsce w Europie i tylko kraje bałtyckie miały niższe wartości (*Gurney i wsp., 2019*). Jednakże niepokojące jest to, że w ciągu ostatnich 30 lat, od końcowych dekad XX w. do drugiej dekady XXI w., zachorowalność w Polsce wzrosła prawie

trzykrotnie. Standaryzowany wskaźnik zapadalności wahał się od 3,0 do 5,2 na 100 tys. na terenie całego kraju, ale z regionalnymi „hot-spots”, np. w Wielkopolsce, gdzie w tym samym okresie zapadalność wynosiła 4,4–7,3 na 100 tys. (*Stawińska-Witoszyńska i wsp., 2016*). Według danych z międzynarodowego rejestru *Cancer Incidence in Five Continents (CI5)* wzrost zachorowań w Polsce w okresie od 1978 do 2012 szacuje się na 4% rocznie (*Gurney i wsp., 2019*). Jeśli ten trend nie ulegnie zmianie, przewiduje się, że w 2035 r. wskaźnik zapadalności w Polsce może osiągnąć 9/100 tys. (*Znaor i wsp., 2020*).

Nasieniaki i nienasieniaki stanowią każdy około połowy przypadków NZJ, ale te proporcje zmieniały się w ciągu ostatniego stulecia. W pierwszej połowie XX w. nasieniaki stanowiły ok. 60% NZJ, potem zaczęły procentowo przeważać nienasieniaki, a na przełomie XX i XXI w. proporcje zaczęły się odwracać i obecnie znów dominują nasieniaki (*Ruf i wsp., 2014*). Przyczyny tych trendów są nieznane, ale wpływają one na średni wiek pacjentów diagnozowanych, ponieważ dwa główne typy NZJ różnią się nieco pod względem ich szczytowej częstości występowania. Nasieniak osiąga szczyt zapadalności w wieku ok. 30–35 lat, podczas gdy nienasieniak występuje u stosunkowo młodszych mężczyzn i osiąga szczyt w wieku ok. 20–25 lat (*Trabert i wsp., 2015*).

Czynniki ryzyka

Osoby z DSD i nieprawidłowościami rozwojowymi gonad są narażone na duże ryzyko wystąpienia nowotworu zarodkowego, ale stopień ryzyka jest zmienny i zależy od zaburzenia (*Hersmus i wsp., 2017; Jørgensen i wsp., 2015; Słowikowska-Hilczler i wsp., 2015, 2020*). Największe ryzyko wystąpienia NZJ mają osoby z dysgenезją gonad i chromosomem Y (lub jego fragmentem), najczęściej w wyniku aneuploidii chromosomów płciowych (*Ljubcic i wsp., 2019*). Osoby z kariotypem 46,XY i zespołem niewrażliwości na androgeny (AIS, ang. *androgen insensitivity syndrome*) są również narażone na ryzyko NZJ, ale u osób z całkowitym AIS, które są fenotypowo kobietami, bardzo rzadko rozwijają się jawne NZJ (*Cools i wsp., 2017*).

U normalnie zwirylizowanych mężczyzn bez wyraźnych cech DSD występują także nieprawidłowości rozwojowe jąder powodujące wnetrostwo, spodziectwo oraz po okresie pokwitania często niepłodność ze zmniejszoną objętością jąder i jakością nasienia oraz zwiększonym ryzykiem NZJ. Zaburzenia te są łączone w tzw. zespół dysgenезji jąder (TDS, ang. *testicular dysgenesis syndrome*) (*Skakkebaek i wsp., 2001*). Zespoły TDS i DSD częściowo zazębiają się ze sobą, ale w przeciwieństwie do DSD w większości przypadków TDS nie znajduje się wyraźnej aberracji genetycznej i podejrzewa się wpływ czynników środowiskowych (*Jørgensen i wsp., 2015; Skakkebaek i wsp., 2016*).

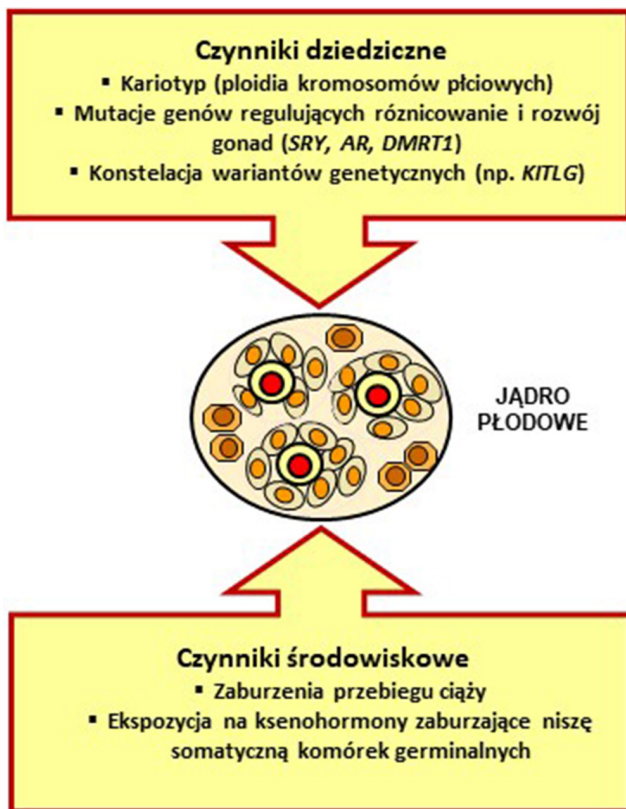
Poza DSD najsilniejsze czynniki ryzyka NZJ to wnetrostwo oraz uprzednio przeżyty NZJ w jednym jądrze. U ok. 5% pacjentów z niezstąpionym jądrem/jądrami rozwinięciu się nowotwór jądra, gdy osiągną dojrzałość płciową.

Ponadto wnetrostwo i NZJ mają większość wspólnych czynników ryzyka, co jest zgodne z patogenetycznym powiązaniem między nimi w ramach zespołu TDS (*Trabert i wsp., 2013*). Względne ryzyko nowotworu jest największe w jądrze niezstąpionym (RR = 6,3), ale ryzyko jest również podwyższone w normalnie zstąpionym jądrze u mężczyzn z jednostronnym wnetrostwem (*Akre i wsp., 2009*). Niektóre badania sugerowały, że orchidopexja przed okresem dojrzewania może obniżyć ryzyko NZJ (*Pettersson i wsp., 2007*), ale inni autorzy tego nie stwierdzili (*Myrup i wsp., 2007; Weidner i wsp., 1999*), więc ten aspekt wymaga dalszych badań.

Mężczyźni, którzy przeżyli jednostronny NZJ, mają zwiększone ryzyko nowotworu w drugim jądrze w związku z obecnością kontralateralnego GCNIS u ok. 5–7% pacjentów, szczególnie u tych z małymi jądrami (*Kier i wsp., 2015; Rud i wsp., 2013; Ruf i wsp., 2015*). Z uwagi na te ryzyko w wielu ośrodkach (w Danii w całym kraju) rutynowo w czasie orchidektomii wykonuje się diagnostyczną biopsję przeciwległego jądra, aby wykluczyć GCNIS, co obniża ryzyko nawrotu choroby (*Kier i wsp., 2015*). Wśród pacjentów, u których nie wykonano biopsji, metachroniczny NZJ wystąpi u ok. 3–4%, na ogół przed upływem 2 lat, ale czasem po bardzo długiej przerwie, przekraczającej nawet 20 lat (*Andreassen i wsp., 2011; Dieckmann i wsp., 2013*). Ryzyko zależy także od przebytego leczenia – u części pacjentów z nienasieniakami leczonymi chemoterapią dojdzie również do likwidacji GCNIS w drugim jądrze, co zapobiegnie rozwinięciu się NZJ (*Blok i wsp., 2021*).

Ważny dla andrologów jest fakt, że pacjenci z niepłodnością i upośledzoną spermatogenezą mają zwiększone ryzyko NZJ i powinni być dokładnie przebadani pod tym kątem, aby wykluczyć możliwość zmian złośliwych, które mogą wystąpić zarówno u mężczyzn z azoospermią, jak i oligozoospermią (*Del Giudice i wsp., 2020; Djaladat i wsp., 2014*). Ryzyko NZJ u pacjentów z obniżoną spermatogenezą jest wyższe, jeśli obraz kliniczny zawiera również atrofie jąder, mikrozwapnienia (łac. *microlithiasis*), a w wywiadzie pacjent podaje wnetrostwo lub raka jądra u członków rodziny (*Olesen i wsp., 2017; Xu i wsp., 2019*).

Znaczna większość czynników ryzyka NZJ ma powiązania z okresem okołoporodowym (włączając czynniki matczyne) lub okresem niemowlęcym (rycina 2). Wśród czynników wymienia się: starszy wiek matki lub jej nadwagę, krwawienie w czasie ciąży, poród przedwczesny, niską wagę urodzeniową, kolejność urodzenia (pierwsze dziecko ma wyższe ryzyko), żółtaczkę noworodków (*Cook i wsp., 2010*). W okresie niemowlęcym dochodzą do tego wady zewnętrznych narządów płciowych, takie jak wspomniane wyżej wnetrostwo i spodziectwo oraz przepuklina pachwinowa (*Cook i wsp., 2010*). Identyfikacja specyficznych czynników przyczynowych powodujących zaburzony rozwój jąder w okresie płodowym okazała się bardzo trudna z uwagi na wiele możliwości oraz bardzo długi odstęp między okresem narażenia a występowaniem choroby. Wśród wielu hipotetycznych czynników



Ryc. 2. Czynniki zwiększające ryzyko nowotworów zarodkowych jądra. Kluczowym okresem wrażliwości jest wczesny okres płodowy w czasie wirylicacji niszy somatycznej gonocytów

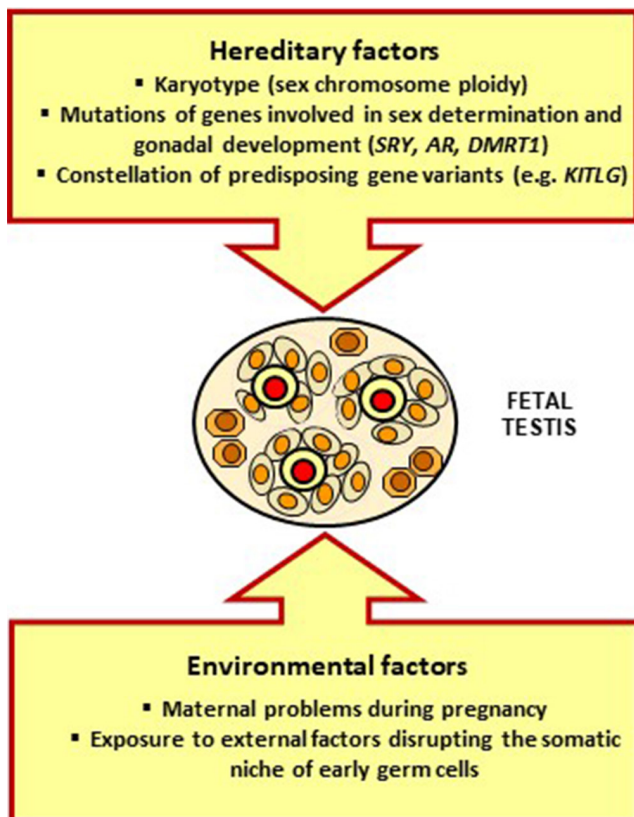


Fig. 2. Risk factors increasing the risk of testicular germ cell tumors. The key period of sensitivity is the early fetal period during virilization of the somatic niche of gonocytes

środowiskowych zasugerowano czynniki związane ze stylem życia matki lub ekspozycję wewnątrzmaciczną lub okołoporodową na ksenobiotyczne substancje zaburzające funkcjonowanie układu hormonalnego (rycina 2) (*Skakkebaek i wsp., 2016*). Wczesne badania koncentrowały się głównie na związkach estrogenowych, tzw. ksenoestrogenach, w tym na jatrogennej ekspozycji płodu na dietylostylbestrol (DES, ang. *diethylstilbestrol*) oraz narażeniu na bisfenol A (*Toppari i wsp., 1996*). Tę ścieżkę badań częściowo zaniechano po odkryciu wysokich stężeń endogennych estrogenów w jądrach płodowych oraz braku wpływu estrogenów (włączając DES) na tkanki jąder ludzkich w warunkach in vitro (*Kilcoyne i Mitchell, 2019*). W literaturze istnieją bardzo rozbieżne wyniki badań dotyczących ekspresji receptorów estrogenowych, *Era*, *Erβ* i ich wariantów, więc do tej pory nie istnieje zgoda co do znaczenia ksenoestrogenów w etiologii dysgenезji jąder.

Następnie wiele badań poświęcono związkom antyandrogenowym, włączając związki chloroorganiczne (DDT/DDE, chlordan, PCB) i ftalany, które zaburzają rozwój jąder i powodują TDS u zwierząt eksperymentalnych. Jednakże wyniki badań u ludzi są niespójne i pozostają kontrowersyjne, szczególnie jeśli chodzi o ftalany, które są znacznie mniej toksyczne u ludzi niż u gryzoni (*Mitchell i wsp., 2012; Kilcoyne i Mitchell, 2019*). Ponadto należy wziąć pod uwagę, że ludzie są narażeni na mieszaniny wielu związków chemicznych w tym samym czasie, co bardzo utrudnia znalezienie czynników etiologicznych (*Bonde i wsp., 2016*).

W ostatnich latach znaczne zainteresowanie wzbudziły potencjalne skutki stosowania farmaceutycznych środków przeciwbólowych i przeciwgorączkowych (jak np. paracetamol, ibuprofen, aspiryna) w czasie ciąży. Badania wykazały związek epidemiologiczny z kilkoma objawami TDS, zwłaszcza wnętrstwem, oraz bezpośredni wpływ paracetamolu i ibuprofenu na obniżenie poziomu androgenów i *INSL3* w jądrach płodowych in vitro (*Ben Maamar i wsp., 2017; Kristensen i wsp., 2011*). Prenatalna ekspozycja na paracetamol została również powiązana ze zmniejszoną odległością anogenitalną (AGD, ang. *anogenital distance*) u chłopców, co jest odczytem niskich androgenów w krytycznym okresie płodowym (*Fisher i wsp., 2016; Lind i wsp., 2017; van der Driesche i wsp., 2017*). Najnowsze badania wykazały względne skrócenie AGD u pacjentów z NZJ – jak na razie na poziomie populacji, co wyraźnie implikuje obniżoną aktywność androgenów w okresie płodowym (*Moreno-Mendoza i wsp., 2020; Priskorn i wsp., 2021*). Nie wiadomo jednak, co jest przyczyną skrócenia AGD, a przede wszystkim nie wykazano jak dotąd powiązania przyczynowego między analgetykami a rakiem jądra.

Wysoki wzrost w dzieciństwie i wieku dorosłym został powiązany z wyższym ryzykiem NZJ, ale ten związek jest nadal dyskusyjny (*McGlynn i wsp., 2018*). Z innych czynników podejrzewano udział wirusów w patogenezie NZJ, analogicznie do niektórych nowotworów systemu płciowego u kobiet, które są powodowane zakażeniem

wirusowym (np. ludzki papillomawirus, HPV). Jednakże jak dotąd znaleziono tylko lekko podwyższone ryzyko NZJ w metaanalizie badań dotyczących zakażeń wirusem Epsteina–Barra (EBV, OR = 7,38) oraz wirusem niedoboru odporności (HIV, OR² = 1,71) (Garolla i wsp., 2019). Jednakże bezpośredniego związku przyczynowego między tymi wirusami a NZJ nie stwierdzono, ponieważ nie znaleziono w tkance guzów żadnych pozostałości wirusowych kwasów nukleinowych (Mollerup i wsp., 2019).

Pomimo wielu badań nie zidentyfikowano znamienych czynników ryzyka dla NZJ związanych ze stylem życia i narażeniem zawodowym w wieku dojrzałym (po okresie pokwitania) (Ylönen i wsp., 2018). Zwiększone ryzyko u strażaków oraz u pracowników narażonych na wysokie temperatury, zidentyfikowane w niektórych badaniach, nie zostało potwierdzone przez innych badaczy (Bates i wsp., 2001; Laroche i L'Espérance, 2021). Jedyny kilkakrotnie potwierdzony czynnik ryzyka związany ze stylem życia to nałogowe palenie konopi indyjskich (*cannabis*, marihuana), które zwiększa ryzyko NZJ, ale praktycznie tylko nienasieniaka (Song i wsp., 2020). Wy tłumaczenia mechanizmu działania jednak do tej pory nie znaleziono.

■ Czynniki genetyczne

Należy rozróżnić czynniki genetyczne, które są związane z odziedziczoną (konstytucyjną) linią germinalną DNA (ang. *germline DNA*, *constitutive DNA*) i które decydują o predyspozycji do NZJ, od wtórnych zmian (aberracji) genetycznych, do których dochodzi w trakcie rozwoju i wzrostu nowotworu z już obecnych zmian przedrakowych.

Predyspozycja dziedziczna

NZJ należą do nowotworów o wysokim stopniu dziedzicznego ryzyka, szacowanego na ok. 40–45%, ale jednocześnie charakteryzują się bardzo złożonym wielogenowym podłożem. Rodzinne ryzyko NZJ jest dość duże: bracia osób z rakiem jądra mają 8–10-krotnie podwyższone ryzyko, a synowie 4–6-krotnie większe ryzyko rozwinięcia NZJ (Hemminki i Chen, 2006). W związku z tym wysokim ryzykiem dziedzicznym od wielu lat podejrzewano obecność mutacji w tzw. onkogenach albo genach supresorowych, np. *TP53*, *HRAS*, których obecność znacznie zwiększa ryzyko innych nowotworów litych. Jednakże mimo wielu badań nigdy nie udało się zidentyfikować specyficznych dla NZJ silnych onkogennych mutacji (ang. *oncogenic driver mutation*) o wysokiej penetracji, typu np. *BRCA1* lub *BRCA2* ani w rodzinnych, ani w sporadycznych przypadkach. Brak takich mutacji w NZJ został potwierdzony w badaniach sekwencji części kodującej genomu linii germinalnej, tzw. egzomu

(ang. *exom*), u dużej liczby pacjentów z NZJ i zdrowych osób z grupy kontrolnej (Litchfield i wsp., 2018; Loveday i wsp., 2018). Jedyny gen o umiarkowanej penetracji, którego patogenne warianty powiązane z ryzykiem NZJ, to *CHEK2* (Al Dubayan i wsp., 2019).

Obserwacje epidemiologiczne większego względnego ryzyka u braci w porównaniu z synami mężczyzn z NZJ były źródłem hipotezy, że być może istnieją recesywne mutacje zwiększające podatność na NZJ. Molekularną sygnaturą alleli działających recesywnie są tzw. serie homozygotyczności (RoH, ang. *runs of homozygosity*). Analiza RoH całego genomu w dużej liczbie przypadków rodzinnych NZJ nie potwierdziła jednak podejrzewanej roli alleli działających recesywnie (Loveday i wsp., 2019). W sumie okazało się, że NZJ występujące rodzinie nie różnią się od sporadycznych przypadków obecnością specyficznych mutacji, ale najprawdopodobniej mają większą liczbę upodatniających wariantów genetycznych, włączając warianty ogólnie zwiększające ryzyko wszelkiego typu nowotworów.

Prowadzone w ostatniej dekadzie całogenomowe badania sprzężeń genetycznych (GWAS, ang. *genome-wide association study*) zidentyfikowały dużą liczbę wariantów genetycznych, tzw. polimorfizmów pojedynczego nukleotydu albo SNP (ang. *single-nucleotide polymorphism*), istotnie związanych z ryzykiem NZJ. Duża część tych markerów genetycznych implikuje szlaki zaangażowane w różnicowanie płci i rozwój komórek zarodkowych, co ma sens z biologicznego punktu widzenia (rycina 2) (Gilbert i wsp., 2011). Spośród znaczących kandydatów należy wymienić powtarzające się w kilku badaniach i metaanalizach loci: *KITLG*, *SPRY4*, *DMRT1*, *DAZL*, *PRDM14*, *HPGDS* (Litchfield i wsp., 2017; Wang i wsp., 2017). Zidentyfikowano również znamienne sprzężenia genetyczne implikujące cykl centrosomu, aktywność telomerazy i szlaki naprawy DNA, co jest typowe dla różnych nowotworów (Litchfield i wsp., 2017; Wang i wsp., 2017).

Najsilniejszym z tych czynników genetycznych jest *KITLG*, który został zidentyfikowany jako pierwszy (Kanetsky i wsp., 2009; Rapley i wsp., 2009) i potwierdzony we wszystkich kolejnych badaniach GWAS. *KITLG* koduje ligand aktywujący receptor kinazy tyrozynowej KIT, niezbędny czynnik przeżycia dla komórek rozrodczych i ich interakcji z komórkami Sertolego (które produkują *KITLG*), a także pełniący ważną rolę w różnicowaniu komórek tucznych i melanocytów. Warianty *KITLG* związane z większym ryzykiem NZJ są głównymi allelami w populacjach kaukaskich, co przynajmniej częściowo tłumaczy znacznie wyższe wskaźniki występowania NZJ u mężczyzn pochodzenia europejskiego w porównaniu z Afrykanami czy Azjatami (Kanetsky i wsp., 2009). W odróżnieniu od wielu innych wariantów, które są tylko „markerami” genetycznymi o nieznannej funkcji, co najmniej dwa SNP-y genu *KITLG* znajdują się w miejscu przyłączania *TP53* i znacząco wpływają na transkrypcję i funkcję genu (Zeron-Medina i wsp., 2013). O znaczeniu

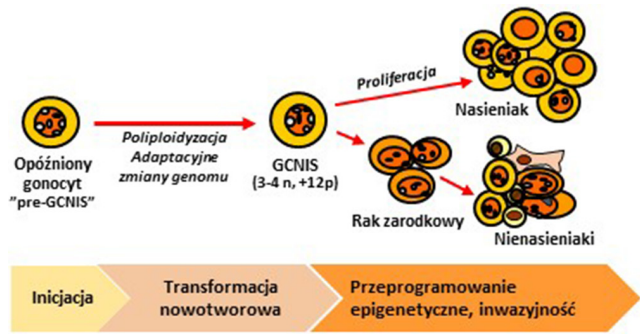
2 OR (ang. *odds ratio*) – iloraz szans na wystąpienie badanego zdarzenia w danej grupie w odniesieniu do szans na wystąpienie tego samego zdarzenia w innej grupie (przyp. red.)

KIT/KITLG w patogenezie NZJ świadczy również identyfikacja wariantów w sekwencji regionów regulacji genów *SPRY4*, *BAK1* i *GAB2*, które działają w tym samym szlaku sygnałowym (*Litchfield i wsp., 2017*).

Do tej pory zidentyfikowano w sumie 78 takich markerów genetycznych. Ich liczba szybko wzrosła w ostatnich latach dzięki dużym metaanalitycznym badaniom prowadzonym przez konsorcjum TECAC (ang. *Testicular Cancer Consortium*), które połączyło i zweryfikowało dane z tysięcy przypadków NZJ i osób z grup kontrolnych z USA i Europy (*Pluta i wsp., 2021*). Dane z najnowszego badania TECAC potwierdziły wiele uprzednio znanych markerów genetycznych, ale również zidentyfikowały nowe warianty, które wskazują na dodatkowe, potencjalnie ważne szlaki, w tym regulację funkcji enzymatycznych (*UCK2*, *TKTL1*, *MPV17L*) oraz organizację aktyny, cytoszkieletu i mikrotubuli (*CENPI*, *CYTH1*, *SSNA1*, *ENOS1*, *TNXB*, *TEX14*), które mogą przyczynić się do błędów w migracji komórek zarodkowych lub segregacji chromosomów (*Pluta i wsp., 2021*). Warte uwagi jest identyfikacja nowego wariantu zwiększającego podatność na NZJ w genie receptora androgenowego (*AR* ang. *androgen receptor*), co jest zgodne z długo istniejącą hipotezą, że względny spadek czynności androgenów w okresie rozwojowym zwiększa ryzyko choroby (*Henderson i wsp., 1982*). Wiele z nowo odkrytych alleli ryzyka ma wyższą częstość występowania u mężczyzn pochodzenia europejskiego w porównaniu z genetycznym pochodzeniem afrykańskim co jest zgodne z uderzającą różnicą w częstości występowania chorób między tymi grupami (*Gurney i wsp., 2019; Pluta i wsp., 2021*). W sumie wszystkie powyższe badania GWAS potwierdziły wielogenowy model wrażliwości genetycznej w NZJ.

Aberracje genomowe w NZJ

Inwazyjne NZJ charakteryzują się poliploidyzacją (ok. 3–3,5 n) i patognomiczną dla tego typu nowotworu amplifikacją chromosomu 12p, często w postaci izochromosomu krótkich ramion (*Oosterhuis i Looijenga, 2019*). W miarę wzrostu guzów dochodzi do wtórnych aberracji adaptacyjnych (rycina 3). Dominują zmiany liczby kopii całych ramion i regionów genomu, w tym wspomniane amplifikacje 12p i regionu Xq28 oraz odwrotne delecje (*Litchfield i wsp., 2015; Taylor-Weiner i wsp., 2016*). Mutacje punktowe pojedynczego genu są rzadkie w tkance NZJ, ogólna częstość mutacji została oszacowana na 0,5 mutacji na 1 Mb DNA, co jest wartością mniejszą niż w innych nowotworach litych (*Shen i wsp., 2018*). Również w odróżnieniu od innych guzów litych mutacje TP53 są rzadkie w NZJ, ale występują w niskim procencie zarodkowych guzów śródpiersia i wewnątrzczaszkowych (*Taylor i wsp., 2020*). Protoonkogen *KIT* jest najczęściej zmutowanym genem w NZJ, głównie w fenotypowo przypominających niedojrzałe komórki germinale nasieniakach (19%), którym pomaga aktywacja szlaku KIT/KITLG, podczas gdy mutacje *KRAS* (14%) i *NRAS* (4%) są wykrywane



Ryc. 3. Przebieg procesu nowotworowego komórek germinalnych jądra od zablokowania dojrzwania gonocytów i ich przekształcenia w neoplastyczne komórki germinalne *in situ* (GCNIS), poprzez zmiany adaptacyjne do powstania inwazyjnych nowotworów

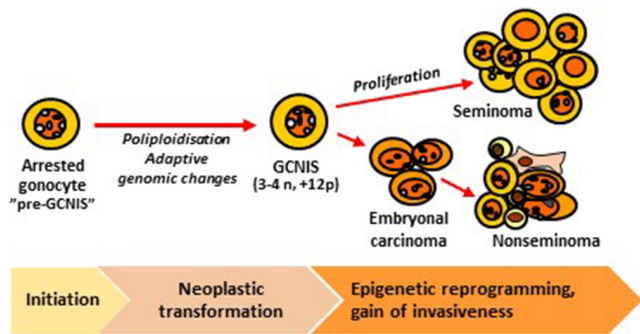


Fig. 3. Schematic illustration of the neoplastic transformation of germ cells in the testis from the arrest of gonocyte maturation into germ cell neoplasia *in situ* cells (GCNIS), through adaptive changes to malignant transformation into invasive tumours

głównie w nienasieniakach (*Lafin i wsp., 2019; Shen i wsp., 2018; Taylor-Weiner i wsp., 2016*).

Czynniki epigenetyczne

Procesy epigenetyczne wpływają na ekspresję genów bez zmiany sekwencji ich DNA. Istnieje wiele mechanizmów regulacji epigenetycznej, spośród których najlepiej poznane w NZJ są metylacja DNA, modyfikacje białek histonów oraz mikroRNA. Należy nadmienić, że komórki rozrodcze, szczególnie we wczesnym okresie płodowym, znacznie różnią się od komórek somatycznych pod względem regulacji epigenetycznej. To w dużej mierze wpływa na zmiany epigenetyczne zaobserwowane w NZJ, szczególnie we wczesnym stadium GCNIS, który jest najważniejszym ogniwem w patogenezie tych nowotworów.

Zmiany metylacji DNA i modyfikacje histonów w NZJ

Regulacja procesu metylacji DNA w normalnych płodowych ludzkich komórkach płciowych dopiero w ostatnich latach została opisana bardziej szczegółowo, a jej popularnym wskaźnikiem jest metylacja cytozyny w tzw. wyspach CpG, które są szczególnie wzbogacone ilościowo w regionach regulacji ekspresji genów, np. sekwencjach promotorów. Ogólnie biorąc, niski poziom metylacji

ułatwia aktywną transkrypcję. Ale od wielu lat wiadomo, że w różnych podtypach NZJ są uderzające różnice w metylacji genomu, które są głównie związane ze stanem zróżnicowania tkankowego nowotworu (*Kristensen i wsp., 2013; Singh i wsp., 2021*). Przedinwazyjny GCNIS oraz nasieniak, które fenotypowo przypominają komórki płodowe, charakteryzują się bardzo niskim poziomem metylacji DNA – praktycznie jej brakiem, podczas gdy DNA nienasieniaków jest ogólnie o wiele bardziej zmetylowane, pomimo że też wywodzą się z GCNIS (*Almstrup i wsp., 2010; Shen i wsp., 2018; Smiraglia i wsp., 2002*). Ponadto podtypy histologiczne nienasieniaka charakteryzują się odmiennymi poziomami metylacji DNA. W przypadku raka zarodkowego zaobserwowano metylację cytozyny w niekanonicznych miejscach, tzw. wyspach CpH (gdzie H=A, C lub T) (*Shen i wsp., 2018*). Zróżnicowana metylacja sekwencji regulacyjnych genów stanowi podstawę badań nad biomarkerami lub sygnaturami molekularnymi opartymi na metylacji, co pomaga ustalić podtypy NZJ i ich prognozowanie (*Lobo i wsp., 2021; Rijlaarsdam i wsp., 2015*).

Inny główny mechanizm regulacji ekspresji genów obejmuje potranslacyjne modyfikacje histonów (H), które są białkami budującymi chromatynę komórki. Histony mogą być modyfikowane przez acetylację, metylację, fosforylację, ubikwitynację, krotonylację itp., co zmienia strukturę chromatyny, ułatwiając lub uniemożliwiając wiązanie czynników transkrypcyjnych z DNA (*Chi i wsp., 2010*). Modyfikacje te wymagają działania specyficznych enzymów, np. acetylotransferazy, metylotransferazy lub demetylazy histonów, ta ostatnia kodowana przez rozwojowo regulowane geny *Jumonji* (*Franci i wsp., 2014*). Deregulacja modyfikatorów chromatyny jest ważną komponentą zmian rakowych i najnowsze badania wyraźnie wskazują, że tzw. mutacje onkohistonowe często stymulują transformację nowotworową.

Komórki GCNIS charakteryzują się bardzo otwartą strukturą chromatyny, z wysokimi poziomami H2A.Z, H3K4me1/2/3, H3K9ac, H3K27ac i H4/H2AR3me2 oraz brakiem modyfikacji restrykcyjnych, z wyjątkiem H3K9me3 (*Almstrup i wsp., 2010; Bartkova i wsp., 2011*). W połączeniu z bardzo niskim poziomem metylacji DNA ta „permissywna” chromatyna komórek GCNIS czyni je podatnymi na niestabilność genomową i wtórne aberracje, a także najprawdopodobniej na czynniki egzogenne, które mogą wpływać na przeprogramowanie w kierunku somatyczno-zarodkowym (*Kristensen i wsp., 2013*).

Profil mikroRNA w NZJ

Krótkie niekodujące cząsteczki mikroRNA (miRNA) są ważnym regulatorem ekspresji genów przez blokadę translacji mRNA. Ten rodzaj regulacji genów jest szczególnie ważny w okresie embriogenezy i specyficzny zestaw miRNA jest wydzielany przez wczesne pluripotentne komórki płciowe, włączając gonocyty. Ważnym odkryciem było, że różne typy nowotworów wydzielają bardzo duże ilości miRNA typu embrionalnego

miRNA-372 i miRNA-373, które neutralizują szlak TP53 i stymulują wzrost guzów z wysoką ekspresją RAS i „wild-type” TP53, co jest charakterystyczne dla NZJ (*Voorhoeve i wsp., 2006*). Następnie kilka grup badawczych potwierdziło, że główne typy miRNA, które są wydzielane do krążenia przez nowotwory jąder, to w szczególności miRNA-371a-3p i miRNA-302/367 (*Almstrup i wsp., 2020; Murray i wsp., 2015*). Warto zauważyć, że miRNA-371a-3p są wydzielane przez wszystkie podtypy histologiczne NZJ u dzieci i dorosłych z wyjątkiem potworniaka. GCNIS ma także taki sam profil miRNA, poza tym znaleziono silną korelację między ekspresją miRNA w komórkach GCNIS i gonocytach płodowych (*Novotny i wsp., 2012*).

Grupa miRNA-371a-3p jest nowym biomarkerem NZJ i wykazuje szczególnie wysoką czułość i swoistość w porównaniu z tradycyjnymi markerami w surowicy używanymi do diagnostyki klinicznej, takimi jak AFP, β -hCG i dehydrogenaza mleczanowa (LHD, ang. *lactate dehydrogenase*) (*van Agthoven i wsp., 2017; Almstrup i wsp., 2020; Belge i wsp., 2012*). Wykazano, że test miRNA-371a-3p ma bardzo wysoką dodatnią (97%) i ujemną (83%) wartość predykcyjną w analizie pierwotnej diagnozy NZJ i jest także przydatny w monitorowaniu odpowiedzi terapeutycznej zarówno w nasieniakach, jak i nienasieniakach, ale z wyjątkiem potworniaków (*Dieckmann i wsp., 2019*). Jednakże dotychczasowe wysiłki, aby zastosować miRNA-371a-3p test w diagnostyce GCNIS, nie są specjalnie obiecujące, ponieważ w większości przypadków jest zbyt mało komórek GCNIS, aby poziom markera we krwi był wykrywalny (*Radtke i wsp., 2017*). Ponadto okazało się, że testu miRNA nie można stosować do identyfikacji GCNIS w płynie nasiennym, gdyż normalne jądro też wydziela miR-371a-3p, w ilościach proporcjonalnych do gęstości nasienia (*Boellard i wsp., 2019; Radtke i wsp., 2019*).

■ Etiopatogeneza NZJ

Poglądy na temat patogenezy NZJ zmieniały się pod wpływem badań prowadzonych od początku XX w. W połowie ubiegłego stulecia rak jądra był rzadką chorobą i był traktowany jak każdy inny typ nowotworu. Sądzono powszechnie, że choroba jest wynikiem onkogennych aberracji występujących u dorosłych mężczyzn. Zmiana paradygmatu nastąpiła w latach 70. ubiegłego stulecia, gdy Niels Skakkebaek opublikował odkrycie przedinwazyjnej zmiany CIS w NZJ (*Skakkebaek, 1972*), który w 2016 r. zastąpiono terminem GCNIS (*Moch i wsp., 2016*). Duński zespół był pierwszym, który zaobserwował bardzo bliskie podobieństwo pomiędzy komórkami GCNIS a gonocytami płodowymi, najpierw przez obserwacje morfologiczne (*Skakkebaek i wsp., 1987*), potem na poziomie immunohistologicznej ekspresji licznych białek (*Rajpert-De Meyts i wsp., 2003*) oraz dzięki analizie globalnego profilu ekspresji genów (*Sonne i wsp., 2009*). Najbardziej charakterystyczną cechą tego profilu jest wysoka ekspresja zarodkowych czynników pluripotencji,

która czyni komórki GCNIS totipotencjalnymi (*Almstrup i wsp., 2004*). Tłumaczy to ich zdolność do różnicowania się w każdy typ tkanki somatycznej, w procesie niejako rekapitulującym rozwój zarodka, co szczególnie widzimy w potworniakach (*Skotheim i wsp., 2005*).

Obserwacja podobieństwa komórek rakowych jądra występujących u dorosłych mężczyzn do komórek płodowych jest bardzo ważna dla zrozumienia powstawania tych nowotworów, bowiem pozwala wnosić, że czas rozpoczęcia procesu przednowotworowego ma miejsce już we wczesnych okresach rozwoju (*Skakkebaek i wsp., 1987; Rajpert-De Meyts i wsp., 2003; Sonne i wsp., 2009*). O ile w przypadkach ciężkich zaburzeń rozwojowych układu rozrodczego typowych dla DSD proces nowotworowy jest wyraźnie wynikiem problemu o podłożu genetycznym, np. aneuploidii chromosomów płciowych albo mutacji *AR* czy *SRY* (ang. *sex-determining region Y*), o tyle sytuacja jest mniej jasna w ogromnej większości sporadycznych przypadków NZJ. Obecnie powszechnie zaakceptowana hipoteza zakłada, że inicjacja transformacji nowotworowej jest najprawdopodobniej spowodowana dyskretnymi zaburzeniami mikrośrodowiska różnicujących się komórek płciowych płodu, które jest zbudowane z komórek Sertolego i prekursorów komórek Leydiga i innych typów komórek śródmiąższowych. Mikrośrodowisko to, zwane także niszą somatyczną, jest we wczesnym okresie rozwoju regulowane przez ściśle zsynchronizowane kaskady wzajemnie się kontrolujących czynników, co czyni zarodkowe gonady niezwykle wrażliwymi na hormony i czynniki parakryne. Jeśli ta regulacja zostanie zakłócona, rozwijające się jądro może wykazywać cechy dysgenezy, co udokumentowano w licznych badaniach wykazujących zmiany histologiczne związane z GCNIS i NZJ, a także z wnętrstwem i innymi wadami rozwojowymi wchodzącymi w skład TDS (*Skakkebaek i wsp., 2001; Słowikowska-Hilczler i wsp., 2015*). Spośród oczywistych mechanizmów powodujących dysgenezę i często NZJ należy wymienić obniżoną funkcję androgenów, ale prawdopodobnie wiele innych możliwych szlaków może ulec zaburzeniu. W dysgenetycznej i niezupełnie zwirylizowanej niszy somatycznej, komórki rozrodcze mogą przedwcześnie inicjować mejozę, powodując aneuploidię. W ostatnich latach opracowano metody kultywowania ludzkich jąder płodowych *in vitro*, które umożliwiły eksperymentalne badania mechanistyczne. Badania te wykazały, że zmniejszenie choćby jednego elementu wspomnianej wyżej kaskady różnicowania płci może prowadzić do dysgenezy gonad, potwierdzając poligeniczne tło TDS (*Harpelunde Poulsen i wsp., 2019; Jørgensen i wsp., 2018*).

Identyfikacja konkretnych czynników etiologicznych okazała się bardzo trudna i obecnie przeważa opinia, że etiologia zarówno TDS, jak i NZJ jest wieloczynnikowa i jest kombinacją predyspozycji genetycznej i czynników środowiskowych. Jak już wspomniano, wśród hipotetycznych czynników środowiskowych podejrzewa się w szczególności czynniki prenatalne lub działające we wczesnym okresie niemowlęcym, gdy dokonuje się

ostateczne różnicowanie się spermatogonii z gonocytów. Ponieważ występowanie NZJ zmienia się dynamicznie w różnych krajach i ogólnie wzrasta, głównym „podejrzany” są czynniki związane ze współczesnym stylem życia, wśród nich związki chemiczne zaburzające metabolizm i funkcje endokrynne, tzw. ksenohormony (ang. *endocrine disrupters*). Pomimo wielu badań różnych związków estrogennych, antyandrogenowych (szczególnie pestycydów) oraz innych związków chloroorganicznych i ftalanów, a także wybranych leków farmaceutycznych, do tej pory nie uzyskano konkluzywnych danych, z wyjątkiem słabych powiązań ryzyka NZJ z ekspozycją na niektóre chlordaniny (*Bonde i wsp., 2016; Skakkebaek i wsp., 2016*). Oczywiście potrzebne są większe i dobrze kontrolowane badania oparte na bardzo dobrze scharakteryzowanych grupach chorych z NZJ, ich rodzicach, a także grupach kontrolnych, co nie jest łatwe, jeśli weźmie się pod uwagę wszechobecność tysięcy środków chemicznych i ich mieszanin w środowisku.

Różnicowanie gonocytów w spermatogonie jest procesem stosunkowo długim i powolnym, który zajmuje większość okresu płodowego i pierwsze miesiące okresu niemowlęcego. Podczas tej przemiany cechy embrionalne stopniowo zanikają, podczas gdy aktywowane są geny specyficzne dla spermatogenezy. Jeśli różnicowanie jąder jest upośledzone, program ten może zostać opóźniony, prowadząc do zachowania cech embrionalnych poza normalnym oknem ekspresji w części komórek germinalnych. Większość z tych nieprawidłowych komórek „pre-GCNIS” jest prawdopodobnie eliminowana, ale przeżyciu części tych komórek mogą sprzyjać postępujące zmiany adaptacyjne genomu, które mogą prowadzić do amplifikacji szlaków onkogennych i antyapoptotycznych (np. sygnalizacja KIT/KILG) (rycina 3). Do tego należy dodać epigenetyczny profil pierwotnych komórek germinalnych, które charakteryzują się „otwartą” strukturą chromatyny, ułatwiającą aktywną transkrypcję i podziały komórkowe, a także dostęp toksycznych czynników do DNA.

Niedojrzałe komórki rozrodcze nie są w stanie kontynuować procesu spermatogenezy stymulowanego w okresie dojrzewania, co może prowadzić do błędów w momencie przechodzenia z mitozy do mejozy (*Jørgensen i wsp., 2013*). Mechanizmy nie zostały jeszcze w pełni wyjaśnione, ale wiadomo, że przetwarzanie zreplikowanych chromatyd siostrzanych i modyfikacja histonów są różne w mitozie a mejozie. Można przypuszczać, że przedwczesna aktywacja niektórych mechanizmów specyficznych dla mejozy w jakiś sposób osłabia podział zreplikowanego genomu i może spowodować poliploidyzację. Postępujące błędy w podziale komórek i aberracje genomowe prowadzą następnie do dalszej niestabilności genomu w komórkach GCNIS, preferencyjnej amplifikacji regionu 12p i chromosomu X, i w końcu transformacji w złośliwe komórki inwazyjne (rycina 3). Te zmiany adaptacyjne i progresja inwazyjna są najprawdopodobniej wywołane drastyczną zmianą produkcji hormonów jąder związanych z dojrzewaniem,

szczególnie gonadotropin i androgenów, ponieważ po okresie pokwitania obserwuje się gwałtowny wzrost występowania NZJ. Znaczenie hormonów potwierdza fakt, że NZJ są bardzo rzadkie u pacjentów z ciężkim hipogonadyzmem hipogonadotropowym. Podobnie u pacjentów z całkowitą niewrażliwością na androgeny komórki GCNIS mogą utrzymywać się przez lata bez progresji do jawnych guzów (*Hannema i wsp., 2006*).

W ostatnim etapie transformacji inwazyjnej komórek GCNIS w jawne NZJ do tej pory nie ma jasnej odpowiedzi na pytanie, dlaczego w blisko połowie przypadków rozwija się morfologicznie homogeny nasieniak, a w drugiej połowie pojawiają się heterogenne nienasieniaki. Nowsze badania wskazują, że wytłumaczeniem mogą być adaptacyjne zmiany genomowe i somatyczne mutacje, np. mutacje *KIT* są wykrywane przeważnie w nasieniakach, a *KRAS/NRAS* w nienasieniakach (*Shen i wsp., 2018*). Wiek pacjenta i jego czynność hormonalna prawdopodobnie także odgrywają rolę, ponieważ nienasieniaki występują najczęściej u nastolatków i bardzo młodych mężczyzn. Do tego dochodzi plastyczność fenotypowa NZJ, która powoduje, że często ten sam pacjent może mieć różne typy histologiczne, a także inny typ może pojawić się w czasie nawrotu lub przerzutów guza.

Podsumowując, ostatnie lata przyniosły ogromny postęp w zrozumieniu patogenyzy NZJ, ale czynniki etiologiczne pozostają w dużej mierze nieznanne. Odkrycie przyczyn „epidemii” NZJ zaobserwowanej w niektórych krajach będzie wymagało dalszych wszechstronnych badań bardzo dużych grup pacjentów i grup kontrolnych. Przyszłe badania muszą ocenić znaczenie setek zewnętrznych czynników, szczególnie tych aktywnych w okresie prenatalnym, z uwzględnieniem konstelacji dziedzicznych wariantów genetycznych, które niewątpliwie modulują ryzyko.

■ Piśmiennictwo

Akre O., Pettersson A., Richiardi L.: Risk of contralateral testicular cancer among men with unilaterally undescended testis: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2009, 124(3), 687–689. doi: 10.1002/ijc.23936. PMID: 18973229.

Al Dubayan S.H., Pyle L.C., Gamulin M., Kulis T., Moore N.D., Taylor-Weiner A. *i wsp.*: Association of Inherited Pathogenic Variants in Checkpoint Kinase 2 (CHEK2) With Susceptibility to Testicular Germ Cell Tumors. *JAMA Oncol*. 2019, 5, 514–522. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.6477. PMID: 30676620.

Almstrup K., Høi-Hansen C.E., Wirkner U., Blake J., Schwager C., Ansgore W. *i wsp.*: Embryonic stem cell-like features of testicular carcinoma in situ revealed by genome-wide gene expression profiling. *Cancer Res*. 2004, 64(14), 4736–4743. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0679. PMID: 15256440.

Almstrup K., Lobo J., Mørup N., Belge G., Rajpert-De Meyts E., Looijenga L.H. *i wsp.*: Application of miRNAs in the diagnosis and monitoring of testicular germ cell tumours. *Nat Rev Urol*. 2020, 17(4), 201–213. doi: 10.1038/s41585-020-0296-x. PMID: 32157202.

Almstrup K., Nielsen J.E., Mlynarska O., Jansen M.T., Jørgensen A., Skakkebaek N.E. *i wsp.*: Carcinoma in situ testis displays permissive chromatin modifications similar to immature foetal germ cells. *Br J Cancer*. 2010, 103(8), 1269–1276. doi: 10.1038/sj.bjc.6605880. PMID: 20823885.

Andreassen K.E., Grotmol T., Cvancarova M.S., Johannesen T.B., Fosså S.D.: Risk of metachronous contralateral testicular germ cell tumors: a population-

based study of 7,102 Norwegian patients (1953–2007). *Int J Cancer*. 2011, 129, 2867–2874. doi: 10.1002/ijc.25943. PMID: 21626506

Bartkova J., Moudry P., Hodny Z., Lukas J., Rajpert-De Meyts E., Bartek J.: Heterochromatin marks HP1γ, HP1α and H3K9me3, and DNA damage response activation in human testis development and germ cell tumours. *Int J Androl*. 2011, 34(4 Pt 2), 103–113. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01096.x. PMID: 20695923.

Bates M.N., Fawcett J., Garrett N., Arnold R., Pearce N., Woodward A.: Is testicular cancer an occupational disease of fire fighters? *Am J Ind Med*. 2001, 40(3), 263–270. doi: 10.1002/ajim.1097. PMID: 11598972.

Belge G., Dieckmann K.P., Spiekermann M., Balks T., Bullerdiek J.: Serum levels of microRNAs miR-371-3: a novel class of serum biomarkers for testicular germ cell tumors? *Eur Urol*. 2012, 5, 61(5), 1068–1069. doi: 10.1016/j.eururo.2012.02.037. PMID: 22386195.

Ben Maamar M., Lesné L., Hennig K., Desdoits-Lethimonier C., Kilcoyne K.R., Coiffec I. *i wsp.*: Ibuprofen results in alterations of human fetal testis development. *Sci Rep*. 2017, 7, 44184. doi: 10.1038/srep44184. PMID: 28281692.

Berney D.M., Looijenga L.H., Idrees M.T., Oosterhuis J.W., Rajpert-De Meyts E., Ulbright T.M. *i wsp.*: Germ Cell Neoplasia in Situ (GCNIS). Evolution of the current nomenclature for testicular pre-invasive germ cell malignancy. *Histopathology*. 2016, 69(1), 7–10. doi: 10.1111/his.12958. PMID: 26918959.

Blok J.M., Groot H.J., Huelé E.H., de Wit R., Horenblas S., Nuver J. *i wsp.*: Dose-Dependent Effect of Platinum-Based Chemotherapy on the Risk of Metachronous Contralateral Testicular Cancer. *J Clin Oncol*. 2021, 39, 319–327. doi: 10.1200/JCO.20.02352. PMID: 33119475.

Bonde J.P., Flachs E.M., Rimborg S., Glazer C.H., Giwercman A., Ramlau-Hansen C.H. *i wsp.*: The epidemiologic evidence linking prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemicals with male reproductive disorders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2016, 23(1), 104–125. doi: 10.1093/humupd/dmw036. PMID: 27655588.

Boellaard W.P.A., Gillis A.J.M., van Leenders G.J.L.H., Stoop H., van Agthoven T., Dorssers L.C.J. *i wsp.*: Cellular origin of microRNA-371a-3p in healthy males based on systematic urogenital tract tissue evaluation. *Andrology*. 2019, 7(4), 463–468. doi: 10.1111/andr.12595. PMID: 30786164.

Chi P., Allis C.D., Wang G.G.: Covalent histone modifications – miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2010, 10(7), 457–469. doi: 10.1038/nrc2876. PMID: 20574448.

Chien F.L., Schwartz S.M., Johnson R.H.: Increase in testicular germ cell tumor incidence among Hispanic adolescents and young adults in the United States. *Cancer*. 2014, 120(17), 2728–2734. doi: 10.1002/cmcr.28684. PMID: 25044313.

Cook M.B., Akre O., Forman D., Madigan M.P., Richiardi L., McGlynn K.A.: A systematic review and meta-analysis of perinatal variables in relation to the risk of testicular cancer--experiences of the son. *Int J Epidemiol*. 2010, 39, 1605–1618. doi: 10.1093/ije/dyq120. PMID: 20660640.

Cools M., Wolffenbuttel K.P., Hersmus R., Mendonca B.B., Kaprová J., Drop S.L.S. *i wsp.*: Malignant testicular germ cell tumors in postpubertal individuals with androgen insensitivity: prevalence, pathology and relevance of single nucleotide polymorphism-based susceptibility profiling. *Hum Reprod*. 2017, 32(12), 2561–2573. doi: 10.1093/humrep/dex300. PMID: 29121256.

Del Giudice F., Kasman A.M., De Berardinis E., Busetto G.M., Belladelli F., Eisenberg M.L.: Association between male infertility and male-specific malignancies: systematic review and meta-analysis of population-based retrospective cohort studies. *Fertil Steril*. 2020, 114(5), 984–996. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.04.042. PMID: 32709378.

Dieckmann K.P., Anheuser P., Sattler F., Von Kügelgen T., Matthies C., Ruf C.: Sequential bilateral testicular tumours presenting with intervals of 20 years and more. *BMC Urol*. 2013, 13, 71. DOI: 10.1186/1471-2490-13-71. PMID: 24321309.

Dieckmann K.P., Radtke A., Geczi L., Matthies C., Anheuser P., Eckardt U. *i wsp.*: Serum levels of microRNA-371a-3p (M371 Test) as a new biomarker of testicular germ cell tumors: Results of a prospective multicentric study. *J Clin Oncol*. 2019, 37(16), 1412–1423. doi: 10.1200/JCO.18.01480. PMID: 30875280.

Djaladat H., Burner E., Parikh P.M., Beroukhim Kay D., Hays K.: The Association Between Testis Cancer and Semen Abnormalities Before Orchiectomy: A Systematic Review. *J Adolesc Young Adult Oncol*. 2014, 3(4), 153–159. doi: 10.1089/jayao.2014.0012. PMID: 25538860.

- Fisher B.G., Thankamony A., Hughes I.A., Ong K.K., Dunger D.B., Acerini C.L.: Prenatal paracetamol exposure is associated with shorter anogenital distance in male infants. *Hum Reprod.* 2016, 31(11), 2642–2650. doi: 10.1093/humrep/dew196. PMID: 27609981.
- Franci G., Ciotta A., Altucci L.: The Jumonji family: past, present and future of histone demethylases in cancer. *Biomol Concepts.* 2014, 5(3), 209–224. doi: 10.1515/bmc-2014-0010. PMID: 25372754.
- Garolla A., Vitagliano A., Muscianisi F., Valente U., Ghezzi M., Andrisani A. *i wsp.*: Role of Viral Infections in Testicular Cancer Etiology: Evidence From a Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019, 10, 355. doi: 10.3389/fendo.2019.00355. PMID: 31263452.
- Giannoulatou E., Maher G.J., Ding Z., Gillis A.J., Dorssers L.C., Hoischen A. *i wsp.*: Whole-genome sequencing of spermatocytic tumors provides insights into the mutational processes operating in the male germline. *PLoS One* 2017, 12, e0178169. doi: 10.1371/journal.pone.0178169. PMID: 28542371.
- Gilbert D., Rapley E., Shipley J.: Testicular germ cell tumours: predisposition genes and the male germ cell niche. *Nat Rev Cancer.* 2011, 11(4), 278–288. doi: 10.1038/nrc3021. PMID: 21412254.
- Goriely A., Hansen R.M., Taylor I.B., Olesen I.A., Jacobsen G.K., McGowan S.J. *i wsp.*: Activating mutations in FGFR3 and HRAS reveal a shared genetic origin for congenital disorders and testicular tumors. *Nat Genet.* 2009, 41, 1247–1252. doi: 10.1038/ng.470. PMID: 19855393.
- Gurney J.K., Florio A.A., Znaor A., Ferlay J., Laversanne M., Sarfati D. *i wsp.*: International Trends in the Incidence of Testicular Cancer: Lessons from 35 Years and 41 Countries. *Eur Urol.* 2019, 76, 615–623. doi: 10.1016/j.eururo.2019.07.002. PMID: 31324498.
- Hannema S.E., Scott I.S., Rajpert-De Meyts E., Skakkebaek N.E., Coleman N., Hughes I.A.: Testicular development in the complete androgen insensitivity syndrome. *J Pathol.* 2006, 208(4), 518–527. doi: 10.1002/path.1890. PMID: 16400621.
- Harpelunde Poulsen K., Nielsen J.E., Frederiksen H., Melau C., Juul Hare K., Langhoff Thuesen L. *i wsp.*: Dysregulation of FGFR signalling by a selective inhibitor reduces germ cell survival in human fetal gonads of both sexes and alters the somatic niche in fetal testes. *Hum Reprod.* 2019, 34(11), 2228–2243. doi: 10.1093/humrep/dez191. PMID: 31734698.
- Hemminki K., Chen B.: Familial risks in testicular cancer as aetiological clues. *Int J Androl.* 2006, 29: 205–210. doi: 10.1111/j.1365-2605.2005.00599.x. PMID: 16466541.
- Henderson B.E., Ross R.K., Pike M.C., Casagrande J.T.: Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Res* 1982, 42, 3232–3229. PMID: 7046921.
- Hersmus R., van Bever Y., Wolffenbuttel K.P., Biermann K., Cools M., Looijenga L.H.: The biology of germ cell tumors in disorders of sex development. *Clin Genet.* 2017, 91(2), 292–301. doi: 10.1111/cge.12882. PMID: 27716895.
- Hu R., Ulbright T.M., Young R.H.: Spermatocytic Seminoma: A Report of 85 Cases Emphasizing Its Morphologic Spectrum Including Some Aspects Not Widely Known. *Am J Surg Pathol.* 2019, 43(1), 1–11. doi: 10.1097/PAS.0000000000001001. PMID: 29280854.
- Jørgensen A., Lindhardt Johansen M., Juul A., Skakkebaek N.E., Main K.M., Rajpert-De Meyts E.: Pathogenesis of germ cell neoplasia in testicular dysgenesis and disorders of sex development. *Sem Cell Dev Biol.* 2015, 45, 124–137. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.09.013. PMID: 26410164.
- Jørgensen A., Macdonald J., Nielsen J.E., Kilcoyne K.R., Perlman S., Lundvall L. *i wsp.*: Nodal Signaling Regulates Germ Cell Development and Establishment of Seminiferous Cords in the Human Fetal Testis. *Cell Rep.* 2018, 25(7), 1924–1937.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.064. PMID: 30428358.
- Jørgensen A., Nielsen J.E., Almstrup K., Toft B.G., Petersen B.L., Rajpert-De Meyts E.: Dysregulation of the mitosis-meiosis switch in testicular carcinoma in situ. *J Pathol.* 2013, 229(4), 588–598. doi: 10.1002/path.4154. PMID: 23303528.
- Kanetsky P.A., Mitra N., Vardhanabhuti S., Li M., Vaughn D.J., Letrero R. *i wsp.*: Common variation in KITLG and at 5q31.3 predisposes to testicular germ cell cancer. *Nat Genet.* 2009, 41(7), 811–815. doi: 10.1038/ng.393. PMID: 19483682.
- Kier M.G., Lauritsen J., Almstrup K., Mortensen M.S., Toft B.G., Rajpert-De Meyts E. *i wsp.*: Screening for carcinoma in situ in the contralateral testicle in patients with testicular cancer: a population-based study. *Ann Oncol.* 2015, 26, 737–742. doi: 10.1093/annonc/mdu585. PMID: 25542924.
- Kilcoyne K.R., Mitchell R.T.: Effect of environmental and pharmaceutical exposures on fetal testis development and function: a systematic review of human experimental data. *Hum Reprod Update.* 2019, 25(4), 397–421. doi: 10.1093/humupd/dmz004. PMID: 30869130.
- Kristensen D.M., Hass U., Lesné L., Lottrup G., Jacobsen P.R., Desdoits-Lethimonier C. *i wsp.*: Intrauterine exposure to mild analgesics is a risk factor for development of male reproductive disorders in human and rat. *Hum Reprod.* 2011, 26(1), 235–244. doi: 10.1093/humrep/deq323. PMID: 21059752.
- Kristensen D.G., Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Almstrup K.: Epigenetic features of testicular germ cell tumours in relation to epigenetic characteristics of foetal germ cells. *Int J Dev Biol.* 2013, 57, 309–317. doi: 10.1387/ijdb.130142ka. PMID: 23784842.
- Lafin J.T., Bagrodia A., Woldu S., Amatruda J.F.: New insights into germ cell tumor genomics. *Andrology.* 2019, 7(4), 507–515. doi: 10.1111/andr.12616. PMID: 30896089.
- Laroche E., L'Espérance S.: Cancer Incidence and Mortality among Firefighters: An Overview of Epidemiologic Systematic Reviews. *Int J Environ Res Public Health.* 2021, 18(5), 2519. doi: 10.3390/ijerph18052519. PMID: 33802629.
- Lind D.V., Main K.M., Kyhl H.B., Kristensen D.M., Toppari J., Andersen H.R. *i wsp.*: Maternal use of mild analgesics during pregnancy associated with reduced anogenital distance in sons: a cohort study of 1027 mother-child pairs. *Hum Reprod.* 2017, 32(1), 223–231. doi: 10.1093/humrep/dew285. PMID: 27852690.
- Litchfield K., Levy M., Orlando G., Loveday C., Law P.J., Migliorini G. *i wsp.*: Identification of 19 new risk loci and potential regulatory mechanisms influencing susceptibility to testicular germ cell tumor. *Nat Genet.* 2017, 49, 1133–1140. doi: 10.1038/ng.3896. PMID: 28604728.
- Litchfield K., Loveday C., Levy M., Dudakia D., Rapley E., Nsengimana J. *i wsp.*: Large-scale Sequencing of Testicular Germ Cell Tumour (TGCT) Cases Excludes Major TGCT Predisposition Gene. *Eur Urol.* 2018, 73, 828–831. doi: 10.1016/j.eururo.2018.01.021. PMID: 29433971.
- Litchfield K., Summersgill B., Yost S., Sultana R., Labreche K., Dudakia D. *i wsp.*: Whole-exome sequencing reveals the mutational spectrum of testicular germ cell tumours. *Nat Commun.* 2015, 6, 5973. doi: 10.1038/ncomms6973. PMID: 25609015.
- Ljubcic M.L., Jørgensen A., Acerini C., Andrade J., Balsamo A., Bertelloni S. *i wsp.*: Clinical but Not Histological Outcomes in Males With 45,X/46,XY Mosaicism Vary Depending on Reason for Diagnosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019, 104(10), 4366–4381. doi: 10.1210/je.2018-02752. PMID: 31127831.
- Lobo J., Constâncio V., Guimarães-Teixeira C., Leite-Silva P., Miranda-Gonçalves V., Sequeira J.P. *i wsp.*: Promoter methylation of DNA homologous recombination genes is predictive of the responsiveness to PARP inhibitor treatment in testicular germ cell tumors. *Mol Oncol.* 2021, 15(4), 846–865. doi: 10.1002/1878-0261.12909. PMID: 33513287.
- Loveday C., Law P., Litchfield K., Levy M., Holroyd A., Broderick P. *i wsp.*: Large-scale Analysis Demonstrates Familial Testicular Cancer to have Polygenic Aetiology. *Eur Urol.* 2018, 74(3), 248–252. doi: 10.1016/j.eururo.2018.05.036. PMID: 29935977.
- Loveday C., Sud A., Litchfield K., Levy M., Holroyd A., Broderick P. *i wsp.*: Runs of homozygosity and testicular cancer risk. *Andrology.* 2019, 7(4), 555–564. doi: 10.1111/andr.12667. PMID: 31310061.
- McGlynn K.A., Petrick J.L., Gamborg M., Aarestrup J., Baker J.L.: Childhood height and risk of testicular germ cell tumors in adulthood. *Int J Cancer.* 2018, 143(4), 767–772. doi: 10.1002/ijc.31354. Epub 2018 Mar 26. PMID: 29508384.
- Michalski W., Jonska-Gmyrek J., Poniatowska G., Kucharz J., Stelmasiak P., Nietupski K. *i wsp.*: Testicular teratomas: a growing problem? *Med Oncol.* 2018, 35(12), 153. doi: 10.1007/s12032-018-1215-3. PMID: 30367327.
- Mitchell R.T., Childs A.J., Anderson R.A., Van Den Driesche S., Saunders P.T., Mckinnell C. *i wsp.*: Do phthalates affect steroidogenesis by the human fetal testis? Exposure of human fetal testis xenografts to di-n-butyl phthalate. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012, 97, E341–48. doi: 10.1210/jc.2011-2411. PMID: 22238399.

- Moch H., Humphrey P.A., Ulbright T.M., Reuter V.E. (red.): WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Press, Lyon 2016.
- Mollerup S., Asplund M., Friis-Nielsen J., Kjartansdóttir K.R., Fridholm H., Hansen T.A. *i wsp.*: High-throughput sequencing-based investigation of viruses in human cancers by multi-enrichment approach. *J Infect Dis* 2019, 220(8), 1312–1324. doi: 10.1093/infdis/jiz318. PMID: 31253993.
- Moreno-Mendoza D., Casamonti E., Riera-Escamilla A., Pietroforte S., Corona G., Ruiz-Castañe E., Krausz C.: Short anogenital distance is associated with testicular germ cell tumour development. *Andrology*. 2020, 8(6), 1770–1778. doi: 10.1111/andr.12863. PMID: 32683775.
- Murray M.J., Nicholson J.C., Coleman N.: Biology of childhood germ cell tumours, focussing on the significance of microRNAs. *Andrology* 2015, 3, 129–139. doi: 10.1111/andr.277. PMID: 25303610.
- Myrup C., Schnack T.H., Wohlfahrt J.: Correction of cryptorchidism and testicular cancer. *N Engl J Med*. 2007, 357(8), 825–827. doi: 10.1056/NEJMc071510. PMID: 17715418.
- Novotny G.W., Belling K.C., Bramsen J.B., Nielsen J.E., Bork-Jensen J., Almstrup K. *i wsp.*: MicroRNA expression profiling of carcinoma in situ cells of the testis. *Endocr Relat Cancer*. 2012, 19(3), 365–379. doi: 10.1530/ERC-11-0271. PMID: 22420006.
- Olesen I.A., Andersson A.M., Aksglaede L., Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Joergensen N. *i wsp.*: Clinical, genetic, biochemical, and testicular biopsy findings among 1,213 men evaluated for infertility. *Fertil Steril*. 2017, 107, 74–82.e7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.09.015. PMID: 27793385.
- Oosterhuis J.W., Looijenga L.H.: Human germ cell tumours from a developmental perspective. *Nat Rev Cancer*. 2019, 19, 522–537. doi: 10.1038/s41568-019-0178-9. PMID: 31413324.
- Oosterhuis J.W., Stoop J.A., Rijlaarsdam M.A., Biermann K., Smit V.T., Hersmus R. *i wsp.*: Pediatric germ cell tumors presenting beyond childhood? *Andrology*. 2015, 3(1), 70–77. doi: 10.1111/andr.305. PMID: 25427839.
- Pettersson A., Richiardi L., Nordenskjold A., Kaijser M., Akre O.: Age at surgery for undescended testis and risk of testicular cancer. *N Engl J Med*. 2007, 356(18), 1835–1841. doi: 10.1056/NEJMoa067588. PMID: 17476009.
- Pluta J., Pyle J.C., Nead K.M., Wilf R., Li M., Mitra N. *i wsp.*: Testicular Cancer Consortium: Identification of 22 novel susceptibility loci associated with testicular germ cell tumors. *Nature Comm*. 2021 – in press. doi.org/10.1038/s41467-021-24334-y.
- Priskorn L., Kreiberg M., Bandak M., Lauritsen J., Daugaard G., Petersen J.H., *i wsp.*: Testicular cancer survivors have shorter anogenital distance that is not increased by 1 year of testosterone replacement therapy. *Hum Reprod*. 2021, doi: 10.1093/humrep/deab162. PMID: 34223605.
- Radtke A., Cremers J.F., Kliesch S., Riek S., Junker K., Mohamed S.A. *i wsp.*: Can Germ Cell Neoplasia in Situ be diagnosed by measuring serum levels of microRNA371a-3p? *J Cancer Res Clin Oncol*. 2017, 143, 2383–2392. doi: 10.1007/s00432-017-2490-7. PMID: 28819887.
- Radtke A., Dieckmann K.P., Grobelny F., Salzbrunn A., Oing C., Schulze W., Belge G.: Expression of miRNA-371a-3p in seminal plasma and ejaculate is associated with sperm concentration. *Andrology*. 2019, 7(4), 469–474. doi: 10.1111/andr.12664. PMID: 31310058.
- Rajpert-De Meyts E., Bartkova J., Samson M., Høi-Hansen C.E., Frydelund-Larsen L., Bartek J. *i wsp.*: The emerging phenotype of the testicular carcinoma in situ germ cell. *APMIS*. 2003, 111(1), 267–278. doi: 10.1034/j.1600-0463.2003.11101301.x. PMID: 12752272.
- Rajpert-De Meyts E., McGlynn K.A., Okamoto K., Jewett M.A., Bokemeyer C.: Testicular Germ Cell Tumours. *Lancet*. 2016, 387(10029), 1762–1774. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00991-5. PMID: 26651223.
- Rajpert-De Meyts E., Nielsen J.E., Skakkebaek N.E., Almstrup K.: Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline phosphatase to micro-RNAs. *Folia Histochem Cytobiol*. 2015, 53, 177–188. doi: 10.5603/FHC.a2015.0020. PMID: 26306513.
- Rapley E.A., Turnbull C., Al Olama A.A., Dermizakis E.T., Linger R., Huddart R.A. *i wsp.*: A genome-wide association study of testicular germ cell tumor. *Nat Genet*. 2009, 41(7), 807–810. doi: 10.1038/ng.394. PMID: 19483681.
- Rijlaarsdam M.A., Tax D.M., Gillis A.J., Dorssers L.C., Koestler D.C., de Ridder J. *i wsp.*: Genome wide DNA methylation profiles provide clues to the origin and pathogenesis of germ cell tumors. *PLoS One*. 2015, 0(4), e0122146. doi: 10.1371/journal.pone.0122146. Erratum: *PLoS One*. 2015, 0(7), e0132981. PMID: 25859847.
- Rud C.N., Daugaard G., Rajpert-De Meyts E., Skakkebaek N.E., Petersen J.H., Joergensen N.: Sperm Concentration, Testicular Volume and Age Predict Risk of Carcinoma-in-situ in Contralateral Testis of Men with Testicular Germ-Cell Cancer. *J Urol*. 2013, 190, 2074–2080. doi: 10.1016/j.juro.2013.06.023. PMID: 23770148.
- Ruf C.G., Gnos A., Hartmann M., Matthies C., Anheuser P., Loy V. *i wsp.*: Contralateral biopsies in patients with testicular germ cell tumours: patterns of care in Germany and recent data regarding prevalence and treatment of testicular intra-epithelial neoplasia. *Andrology*. 2015, 3, 92–98. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00260.x. PMID: 25146646.
- Ruf C.G., Isbarn H., Wagner W., Fisch M., Matthies C., Dieckmann K.P.: Changes in epidemiologic features of testicular germ cell cancer: age at diagnosis and relative frequency of seminoma are constantly and significantly increasing. *Urol Oncol*. 2014, 32(1), 33.e1-6. doi: 10.1016/j.urolonc.2012.12.002. PMID: 23395239.
- Semjen D., Farkas A., Kalman E., Kaszas B., Kovacs Á., Pusztai C. *i wsp.*: More Cases of Benign Testicular Teratomas are Detected in Adults than in Children. A Clinicopathological Study of 543 Testicular Germ Cell Tumor Cases. *Pathol Oncol Res*. 2017, 23(3), 513–517. doi: 10.1007/s12253-016-0120-3. PMID: 27796764.
- Shen H., Shih J., Hollern D.P., Wang L., Bowlby R., Tickoo S.K. *i wsp.*: Integrated Molecular Characterization of Testicular Germ Cell Tumors. *Cell Rep*. 2018, 23, 3392–3406. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.039. PMID: 29898407.
- Singh R., Fazal Z., Freemantle S.J., Spinella M.J.: Between a Rock and a Hard Place: An Epigenetic-Centric View of Testicular Germ Cell Tumors. *Cancers (Basel)*. 2021, 13(7), 1506. doi: 10.3390/cancers13071506. PMID: 33805941.
- Skakkebaek N.E.: Possible carcinoma-in-situ of the testis. *Lancet*. 1972, 2(7776), 516–517. doi: 10.1016/s0140-6736(72)91909-5. PMID: 4115573.
- Skakkebaek N.E., Berthelsen J.G., Giwercman A., Müller J.: Carcinoma-in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *Int J Androl*. 1987, 10(1), 19–28. doi: 10.1111/j.1365-2605.1987.tb00161.x. PMID: 3034791.
- Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Buck Louis G.M., Toppari J., Andersson A.M., Eisenberg M.L.: Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiol Rev*. 2016, 96, 55–97. doi: 10.1152/physrev.00017.2015. PMID: 26582516.
- Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Main K.M.: Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001, 6, 972–978. doi: 10.1093/humrep/16.5.972. PMID: 11331648.
- Skotheim R.I., Lind G.E., Monni O., Nesland J.M., Abeler V.M., Fosså S.D. *i wsp.*: Differentiation of human embryonal carcinomas in vitro and in vivo reveals expression profiles relevant to normal development. *Cancer Res*. 2005, 65(13), 5588–5598. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0153. PMID: 15994931.
- Smiraglia D.J., Szymanska J., Kraggerud S.M., Lothe R.A., Peltomäki P., Plass C.: Distinct epigenetic phenotypes in seminomatous and nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Oncogene*. 2002, 21(24), 3909–3916. doi: 10.1038/sj.onc.1205488. PMID: 12032829.
- Słowikowska-Hilczler J., Szarras-Czapnik M., Duranteau L., Rapp M., Walczak-Jedrzejowska R., Marchlewska K. *i wsp.*: Risk of gonadal neoplasia in patients with disorders/differences of sex development. *Cancer Epidemiol*. 2020, 69, 101800. doi: 10.1016/j.canep.2020.101800. PMID: 32905884.
- Słowikowska-Hilczler J., Szarras-Czapnik M., Wolski J.K., Oszukowska E., Hilczler M., Jakubowski L. *i wsp.*: The risk of neoplasm associated with dysgenetic testes in prepubertal and pubertal/adult patients. *Folia Histochem Cytobiol*. 2015, 53(3), 218–226. doi: 10.5603/FHC.a2015.0021. PMID: 26314751.
- Song A., Myung N.K., Bogumil D., Ihenacho U., Burg M.L., Cortessis V.K.: Incident testicular cancer in relation to using marijuana and smoking tobacco: A systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Urol Oncol*. 2020, 38(7), 642.e1-642.e9. doi: 10.1016/j.urolonc.2020.03.013. PMID: 32409200.
- Sonne S.B., Almstrup K., Dalgaard M., Juncker A.S., Edsgaard D., Ruban L.: Analysis of gene expression profiles of microdissected cell populations indicates that testicular carcinoma in situ is an arrested gonocyte. *Cancer Res*. 2009, 69, 5241–5250. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4554. PMID: 19491264.

- Stawińska-Witoszyńska B., Wojtyła-Buciora P., Więckowska B., Krzywinska-Wiewiorowska M., Gromadcka-Sutkiewicz M.: Malignant testicular tumour incidence and mortality trends. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2016, 20(1), 58–62. doi: 10.5114/wo.2016.58501. PMID: 27095941.
- Taylor J., Donoghue M.T., Ho C., Petrova-Drus K., Al-Ahmadie H.A., Funt S.A. *i wsp.*: Germ cell tumors and associated hematologic malignancies evolve from a common shared precursor. *J Clin Invest*. 2020, 130(12), 6668–6676. doi: 10.1172/JCI139682. PMID: 32897884.
- Taylor-Weiner A., Zack T., O'Donnell E., Guerriero J.L., Bernard B., Reddy A. *i wsp.*: Genomic evolution and chemoresistance in germ-cell tumours. *Nature*. 2016, 540, 114–118. doi: 10.1038/nature20596. PMID: 27905446.
- Toppari J., Larsen J.C., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette L.J. *Jr i wsp.*: Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect*. 1996, 104 (Suppl 4), 741–803. doi: 10.1289/ehp.96104s4741. PMID: 8880001.
- Trabert B., Chen J., Devesa S.S., Bray F., McGlynn K.A.: International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1973–2007. *Andrology*. 2015, 3(1), 4–12. doi: 10.1111/andr.293. PMID: 25331326.
- Trabert B., Zugna D., Richiardi L., McGlynn K.A., Akre O.: Congenital malformations and testicular germ cell tumors. *Int J Cancer*. 2013, 133, 1900–1904. doi: 10.1002/ijc.28207. PMID: 23580254.
- Van Agthoven T., Eijkenboom W.M.H., Looijenga L.H.J.: microRNA-371a-3p as informative biomarker for the follow-up of testicular germ cell cancer patients. *Cell Oncol (Dordr)*. 2017, 8, 40(4), 379–388. doi: 10.1007/s13402-017-0333-9. PMID: 28612337.
- van den Driesche S., Kilcoyne K.R., Wagner I., Rebouret D., Boyle A., Mitchell R. *i wsp.*: Experimentally induced testicular dysgenesis syndrome originates in the masculinization programming window. *JCI Insight*. 2017, 2(6), e91204. doi: 10.1172/jci.insight.91204. PMID: 28352662.
- Voorhoeve P.M., le Sage C., Schrier M., Gillis A.J., Stoop H., Nagel R. *i wsp.*: A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. *Cell*. 2006, 124(6), 1169–1181. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.037. PMID: 16564011.
- Wang Z., McGlynn K.A., Rajpert-De Meyts E., Bishop D.T., Chung C.C., Dalgaard M.D. *i wsp.*: Meta-analysis of five genome-wide association studies identifies multiple new loci associated with testicular germ cell tumor. *Nat Genet*. 2017, 49, 1141–1147. doi: 10.1038/ng.3879. PMID: 28604732.
- Ward E.M., Sherman R.L., Henley S.J., Jemal A., Siegel D.A., Feuer E.J. *i wsp.*: Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, Featuring Cancer in Men and Women Age 20-49 Years. *J Natl Cancer Inst*. 2019, 111, 1279–1297. doi: 10.1093/jnci/djz106. PMID: 31145458.
- Weidner I.S., Møller H., Jensen T.K., Skakkebaek N.E.: Risk factors for cryptorchidism and hypospadias. *J Urol*. 1999, 161(5), 1606–1609. PMID: 10210427.
- Xu R., Centola G.M., Tanrikut C.: Genitourinary cancer patients have worse baseline semen parameters than healthy sperm bankers. *Andrology*. 2019, 7, 449–453. doi: 10.1111/andr.12602. PMID: 30786173.
- Ylönen O., Jyrkkö S., Pukkala E., Syvänen K., Boström P.J.: Time trends and occupational variation in the incidence of testicular cancer in the Nordic countries. *BJU Int*. 2018, 122, 384–393. doi: 10.1111/bju.14148. PMID: 29460991.
- Zeron-Medina J., Wang X., Repapi E., Campbell M.R., Su D., Castro-Giner F. *i wsp.*: A polymorphic p53 response element in KIT ligand influences cancer risk and has undergone natural selection. *Cell*. 2013, 155(2), 410–422. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.017. PMID: 24120139.
- Znaor A., Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Laversanne M., Kuliš T, Gurney J. *i wsp.*: Testicular cancer incidence predictions in Europe 2010-2035: A rising burden despite population ageing. *Int J Cancer*. 2020, 147(3), 820–828. DOI: 10.1002/ijc.32810. PMID: 31773729.