



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Asociaciones entre la Distancia Anogenital,
la Razón Digital 2D:4D y el Cáncer
de Testículo**

D^a Paula Samper Mateo
2021



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Asociaciones entre la distancia anogenital, la razón digital 2D:4D y el cáncer de testículo.

Dña. Paula Samper Mateo

Directores

Dr. Julián Jesús Areense Gonzalo

Dr. Pablo Luis Guzmán Martínez-Valls

Dr. Jaime Mendiola Olivares

A mi familia y a todos mis compañeros de viaje.

AGRADECIMIENTOS

Han sido 7 años desde que comenzáramos esta tesis doctoral, un tiempo lleno de trabajo y aprendizaje cuyo resultado genera en mi una gran satisfacción personal y gratificación.

He tenido el gusto de realizarla con un equipo formidable del departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Murcia y hacia ellos quiero comenzar mis palabras de agradecimiento.

A mis directores de tesis Pablo Luis Guzmán, Julián Areense y Jaime Mendiola y a todo su equipo.

A Pablo, le agradezco que confiara en este proyecto, su aliento y motivación para continuar en nuestro empeño y por supuesto, la amabilidad y alegría con la que me ha tratado desde que nos conocimos.

A Jaime agradecerle su inmensa generosidad, la confianza depositada desde el principio tanto en mi como en mis compañeros de servicio y su disponibilidad en todo momento. Ha demostrado una gran paciencia apoyándonos y comprendiendo las circunstancias en cada etapa de desarrollo del proyecto. Su implicación en este estudio ha sido máxima y realizar este trabajo de su mano me ha permitido aprender como desarrollar un proyecto de investigación desde la rigurosidad, la

perseverancia y la honestidad de un gran investigador. Estoy eternamente agradecida por todo lo aprendido.

A Julián por su gran paciencia en nuestras sesiones de estadística. Por todo lo que he aprendido de él y por cómo me ha guiado en cada uno de los pasos que debíamos dar. A priori resultaba muy difícil poder desarrollar la estadística por mí misma, pero con su inestimable ayuda y sus explicaciones ha sido posible. Gracias por haber sido tan generoso, por su accesibilidad y disposición y por la implicación que ha demostrado en el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros del Servicio de Urología del Hospital Reina Sofía de Murcia, en especial a Carlos, Damián, Julián, Marcos y Olimpia, con los que he desarrollado mano a mano este proyecto, dedicándoles muchas horas y esfuerzo y sin los que esta tesis no sería posible.

A mis actuales compañeros de trabajo por mantenerme motivada para seguir adelante con el proyecto y facilitarme siempre que pudiera desarrollar mi trabajo de tesis.

A mis padres por animarme cada día a continuar con mi proyecto, por escucharme cuando me encontraba desanimada y por insistirme en descansar cuando lo necesitaba. Gracias por enseñarme a ser perseverante y trabajadora, esta tesis es fruto de esos dos valores.

A mi hermana, mi alegría, que siempre me ha enseñado la poca importancia que tienen muchas cosas y cuanto importan otras. Mi regalo en este mundo y mi mejor compañera, nunca podría pelear y querer tanto a la vez a otra persona.

A mis amigas, las de siempre y las de ahora, mi gran suerte. Conocen quien soy de verdad y su apoyo es incondicional, han creído en mi más que yo misma y me siento enormemente afortunada porque formen parte de mi vida.

A toda mi familia, por su amor y apoyo. Porque volvamos a estar juntos sin condiciones y disfrutemos de cada momento como lo que es, irrepetible. Y en especial a mi abuela, mi gran ejemplo y el pilar del grupo. Su valentía y elegancia, su saber estar y esa capacidad de ver más allá de las apariencias; ella se siente orgullosa de mi y yo honrada por ser su nieta.

A todos mis compañeros de viaje, por todo lo que han aportado a mi vida, por lo que me han enseñado y porque durante estos siete años todas esas vivencias me han llevado también a creer fuertemente en mi y mantener mis objetivos, priorizarme y entender el sentido de muchas cosas.

Y a las circunstancias de la vida, que no son positivas ni negativas, solo dependen del prisma con el que se miren. Esta tesis también es fruto de ello.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	9
1.1. Resumen.....	9
1.2. Summary.....	11
2. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	15
2.1. Los testículos.....	17
2.1.1. Anatomía y fisiología testicular.....	18
2.2. Desarrollo embriológico de los órganos genitales masculinos.....	21
2.3. Tumores testiculares.....	24
2.3.1. Epidemiología.....	24
2.3.2. Clasificación histológica.....	25
2.3.3. Diagnóstico.....	26
2.3.4. Tratamiento y pronóstico.....	28
2.4. Factores relacionados con el carcinoma testicular de células germinales.....	29
2.4.1. Síndrome de disgenesia testicular.....	29
2.4.2. Factores de riesgo epidemiológicos.....	31
2.4.3. Factores de riesgo genéticos.....	35
2.4.4. Distancia anogenital (DAG).....	36
2.4.5. Razón 2D:4D.....	39

2.5. Referencias bibliográficas.....	41
3. JUSTIFICACIÓN.....	51
4. OBJETIVOS.....	52
5. HIPÓTESIS.....	52
6. CAPÍTULO 1: Relación de la distancia anogenital con los tumores testiculares.....	53
6.1. Introducción.....	53
6.2. Material y método.....	57
6.2.1. Diseño del estudio y población.....	57
6.2.2. Examen físico y medida de la DAG.....	57
6.2.3. Análisis estadístico.....	59
6.3. Resultados.....	60
6.4. Discusión.....	65
6.5. Conclusiones.....	68
6.6. Referencias bibliográficas.....	68
7. CAPÍTULO 2: Relación de la razón entre la longitud del segundo y el cuarto dedos con los tumores testiculares.....	76
7.1. Introducción.....	76
7.2. Material y método.....	78
7.2.1. Diseño del estudio y población.....	78
7.2.2. Examen físico y medida de la razón 2D:4D.....	79

7.2.3. Análisis estadístico.....	80
7.3. Resultados.....	81
7.3.1. Hallazgos clínicos.....	81
7.3.2. Comparación de la razón 2D:4D entre casos y controles....	81
7.4. Discusión.....	85
7.5. Conclusiones.....	87
7.6. Referencias bibliográficas.....	87
8. CONCLUSIONES FINALES.....	92

1. RESUMEN.

1.1. Resumen.

Introducción: los tumores testiculares, aun siendo un modelo de cáncer curable, afectan mayoritariamente a varones jóvenes con un gran impacto sobre su calidad de vida y posibles efectos secundarios trascendentales. Desde que se estableciera un origen embriológico, diferentes agentes etiológicos durante este periodo han sido valorados, entre ellos las alteraciones en el ambiente hormonal esteroideo. La distancia anogenital (DAG) y la razón entre la longitud del segundo y el cuarto dedo de la mano (razón 2D:4D), ambos biomarcadores prenatales de la concentración de andrógenos suponen un rasgo fenotípico medible en la edad adulta. El objetivo general de nuestro estudio es relacionar estos dos biomarcadores (DAG y razón 2D:4D) con el riesgo de presentar carcinoma testicular.

Material y método: se desarrolló un estudio de casos y controles no apareados entre mayo de 2013 y septiembre de 2019 en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Reina Sofía en Murcia. Los casos (n= 42), fueron pacientes diagnosticados y tratados de carcinoma testicular en el mismo centro. En el grupo control (n=54) se incluyeron varones adultos atendidos en el mismo departamento por otras causas urológicas y no presentaron procesos tumorales. Los individuos fueron pesados y tallados y se realizó una exploración física.

Cada examinador, desconociendo la condición de caso o control, realizó las medidas del segundo y cuarto dedos de la mano derecha mediante medida directa, en dos ocasiones cada una y de las dos variables de la DAG, ano-escrotal (DAG_{AS}) y ano-peneana (DAG_{AP}), en posición de litotomía, en tres ocasiones cada una. Para las medidas se utilizó un pie de rey digital (Stainless Steel Digital Calliper, VWR® International, LLC, West Chester, PA, USA). El valor resultante de la media de las diferentes medidas fue utilizado en los análisis estadísticos posteriores.

Se utilizaron modelos de regresión logística múltiple para el análisis de la asociación entre la presencia de carcinoma testicular y sus tipos histológicos con la DAG y la razón 2D:4D, ambas divididas en tertiles y adoptando como referencia el tercer tercil. El IMC y la edad fueron contemplados como covariables en los modelos ajustados. Todas las pruebas fueron de dos colas en un nivel de significación de 0,05.

Resultados: los casos fueron significativamente mayores que los controles ($p < 0,001$) no hallándose otras diferencias respecto a las características epidemiológicas. Según el análisis histológico de la pieza los casos se dividieron en seminomas (42,9%) y no-seminomas (57,1%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas tanto en la DAG como en la razón 2D:4D entre casos y controles. En el análisis por tertiles del cociente 2D: 4D no se objetivó un mayor riesgo de carcinoma testicular en aquellos sujetos con valores mayores. De

igual modo, no hallamos asociación entre un mayor valor de DAG y un mayor riesgo de presentar carcinoma testicular, para ambos tipos de medidas, tanto en análisis crudos como ajustados. Tampoco se objetivaron diferencias estadísticamente significativas realizando la subdivisión según la histología del tumor.

Conclusiones: nuestros resultados no permiten establecer una relación entre la presencia de tumor testicular, la DAG y la razón 2D:4D. No obstante, datos expuestos por otros grupos muestran que tanto la DAG como la razón 2D:4D se relacionan con el ambiente hormonal esteroideo en la etapa fetal. Estas relaciones junto con el conocimiento de un origen embriológico del tumor testicular instan a continuar investigando todos los agentes potencialmente participantes en el proceso fisiopatológico y poder así prevenir estas entidades.

1.2. Summary.

Introduction: in the last two decades a large number of studies have analysed testicular germ cells tumours (TGCT) because of their incidence in young men and their impact in sexual function, quality of life and the risk of adverse events. Nowadays TGCT is considered as a model for a curable cancer, it resides in being diagnosed in an early stage and a multidisciplinary treatment approach. The development of TGCT have been established to start at very early stage and

different factors have been reported as causative factors in this period, such as disruptions in sexual hormonal environment. Anogenital distance (AGD) and the ratio of second to fourth digit lengths (2D: 4D ratio) are proposed biomarkers for prenatal sex hormones environment and sexually dimorphic phenotypes, which could be measure in adulthood. The aim of our study is to analyse the relationship between those biomarkers and the risk of develop a TGCT.

Material and Methods: unmatched case-control study was conducted between May 2013 and September 2019 at the Department of Urology of the University Hospital Reina Sofia in Murcia (South-eastern Spain). Cases (n=42) were men attending at this hospital and all of them underwent radical orchiectomy and were diagnosed by specimen's histopathology. Controls (n=54) were men randomly selected from the outpatient's list of the same hospital department. These patients were adult men who showed no signs or symptoms of malignant testicular disease or other entity related to Testicular Dysgenesis Syndrome. Body weight (kilograms) and height (meters) were measured, and different scrotal abnormalities were evaluated.

Each examiner measured, without known the condition of case or control, 2D: 4D ratio from the right hand twice each one, with a method of direct measurements. Two types of AGD, anus-penis (AGD_{AP}) and anus-scrotum (AGD_{AS}), were measured in lithotomy position three times each one. Both lengths were measured using a digital calliper (Stainless Steel Digital Calliper, VWR®

International, LLC, West Chester, PA, USA). Average values of the different measurements were used in the statistical analyses.

Continuous variables were compared using Kolmogorov-Smirnov test and categorical variables with Chi-squared test. Unconditional multiple logistic regression was performed to explore the association between presence of TGCT and 2D: 4D ratio in tertiles in one side, and TGCT and both types of AGD in tertiles in other side; with the highest tertile as reference category using odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI). The age and BMI (kg/m²) were used as covariates in the adjusted models. All tests were two-tailed at 0.05 significance level. Analyses were carried out with IBM SPSS 20.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA).

Results: for the entire population cases were older than controls but not significantly differences were found in BMI. Based on tumour histology cases were divided into seminoma (42,9%) and non-seminoma (57,1%). Among cases, nobody had history of cryptorchidism or hypospadias. Both groups showed similar values of 2D: 4D ratio and AGD measurements, no significant differences were found between testicular cancer cases and healthy men. No statistical relationship was found between 2D: 4D ratio, AGD and the presence of testicular cancer in crude or adjusted models. Taking the third tertile of 2D:4D ratio and AGD as a reference, our results did not report bigger 2D: 4D ratio neither AGD as risk factors of suffer a testicular cancer.

Conclusions: our results could not allow establishing a relationship between TCGT, AGD and 2D: 4D ratio. Nevertheless, the knowledge about the association of AGD and 2D: 4D ratio with sexual hormonal environment in fetal period and an embryological origin boost us to continue analysing the different agents which take part in the physiopathology process of TGCT.

2. INTRODUCCIÓN GENERAL.

Los tumores testiculares han sido objeto de numerosos estudios en los últimos años. Su interés radica fundamentalmente en que, a pesar de no ser una patología con una alta incidencia, es la entidad oncológica más frecuente en varones entre los 14 y los 44 años, momento de máxima actividad vital y reproductiva (Cheng et al., 2018). De manera que, si bien presentan una tasa de curación cercana al 100% a los 15 años, no deben olvidarse en ningún caso las repercusiones que ocasionan y la afectación sobre la calidad de vida de quienes los sufren a nivel de fertilidad, estética y posible desarrollo de otros procesos neoplásicos. Los tumores testiculares forman junto con la criptorquidia, el hipospadias y una baja calidad seminal el síndrome de disgenesia testicular (SDT) descrito en 2001 (Skakkebaek et al., 2001). Estas entidades comparten un origen embriológico común. Se ha demostrado que la susceptibilidad genética junto con un ambiente hormonal alterado durante la etapa fetal (mayor nivel de estrógenos y/o menor nivel de andrógenos) podrían dar lugar al desarrollo de una o varias de estas manifestaciones (Lymperi et al., 2018). En 2016 la distancia anogenital (DAG) acortada fue incorporada como parte del SDT tras demostrarse su asociación con un ambiente androgénico fetal inadecuado (Wohlfahrt- Veje et al., 2009; Skakkebaek et al., 2016). Desde que fuera descrito el SDT se han llevado a cabo múltiples estudios con el fin de establecer parámetros capaces de monitorizar el ambiente androgénico prenatal o la presencia de sustancias que pudieran alterar dicho equilibrio o ambiente hormonal. Los compuestos externos que podrían tener

una influencia en el ambiente prenatal son conocidos en general como disruptores endocrinos. Clásicamente, la criptorquidia y el hipospadias, ambos rasgos congénitos, han sido descritos como factores de riesgo en sí mismos para los tumores testiculares, realizándose un seguimiento estrecho de quienes los presentan (Wohlfahrt-Veje et al., 2009). Sin embargo, la mayoría de los casos de SDT no van a presentar todas las manifestaciones clínicas, tal vez sólo alguna de ellas, y podría por tanto quedar oculto hasta la edad adulta (Skakkebaek et al., 2001; Skakkebaek et al., 2016).

La DAG, distancia comprendida entre el ano y los genitales, es un dimorfismo sexual en mamíferos placentarios estableciéndose en la etapa fetal y manteniéndose relativamente estable durante la vida adulta (Kurzrocket et al., 2000; Salazar-Martínez et al., 2004; Swan, 2008; Thankamony et al., 2009; Sathyanarayana et al., 2010; Hotchkiss et al., 2004). En humanos los varones presentan una DAG mayor, apoyando la teoría de la influencia hormonal, y concretamente la exposición prenatal a andrógenos sobre esta medida (Salazar-Martínez et al., 2004; Gray et al., 2006). En la misma línea, la razón entre la longitud del segundo y del cuarto dedo (razón 2D:4D) también supone un fenotipo de dimorfismo sexual, resultando de igual modo un biomarcador de la exposición prenatal a hormonas esteroideas (Bunevicius, 2018). A nivel genético, los genes Hox controlan el desarrollo del sistema urogenital y del esqueleto de las extremidades durante el periodo fetal en los animales vertebrados. Por tanto, alteraciones en el desarrollo de las gónadas pueden verse reflejadas en el desarrollo

de las extremidades (Manning et al. 1998, 2004). La razón 2D: 4D se establece durante el periodo intrauterino y se mantiene a lo largo de la vida del individuo (McIntyre et al. 2005; Muller et al. 2011). Una menor razón 2D: 4D se ha asociado con una mayor exposición a testosterona y menor a estrógenos, observándose por tanto valores menores de la razón 2D:4D en los varones (Hönekopp et al. 2010).

A continuación, realizamos un breve repaso sobre la anatomía, desarrollo embriológico y fisiología de los testículos, así como las principales características de los tumores testiculares y los factores más relevantes relacionados con los mismos.

2.1. Los testículos.

Los testículos son un órgano glandular doble que se encargan de desarrollar dos tipos de funciones: una función exocrina con la producción de espermatozoides y otra endocrina con la síntesis de hormonas sexuales masculinas. Constituyen el aparato reproductor masculino junto con la vía seminal y un grupo de glándulas accesorias formado por la próstata, las vesículas seminales y las glándulas bulbouretrales (Lozano et al. 2011).

2.1.1. Anatomía y fisiología testicular.

Los testículos son órganos pares ovoides localizados en la parte anterior e inferior del periné, fuera de la cavidad abdominal. Se encuentran en el interior de las bolsas escrotales. Los cordones espermáticos los mantienen en suspensión y los ligamentos escrotales los adhieren al escroto, principalmente en el polo inferior a través de un corto haz fibromuscular -el ligamento escrotal del testículo-, aunque en líneas generales presentan una gran movilidad en el interior de este. Su borde posterosuperior es recto y se relaciona íntimamente con el epidídimo, constituido por la porción terminal de los conductillos eferentes y el conducto epididimario propiamente dicho. Su función es la de transportar, madurar, concentrar y almacenar los espermatozoides. Detrás de la cabeza del epidídimo se halla el hilio testicular.

El testículo se encuentra cubierto por tres capas: la túnica vaginal, la túnica albugínea y una capa vascular. La túnica vaginal supone la cubierta serosa del testículo, formada por la extensión del peritoneo y rodea la cara anteroinferior del testículo. Presenta dos capas, la visceral y la parietal, separadas entre sí por el espacio vaginal, relleno de líquido seroso. La túnica albugínea es la cubierta interna, anexa al parénquima testicular. Está formada por tejido

conjuntivo denso y resistente de color blanco azulado. En la superficie interna de la túnica albugínea se encuentra la capa vascular, formada por plexos vasculares de tejido conectivo areolar que tapizan los tabiques testiculares.

El estroma testicular está formado por una serie de trabéculas de tejido conjuntivo denso que surgen de la túnica albugínea y compartimentan el parénquima en 200-300 lobulillos de forma piramidal. En el extremo posterior del testículo, el estroma se condensa en torno a numerosos vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nerviosas y vías espermáticas incipientes, además, la albugínea forma el mediastino testicular o cuerpo de Highmore. En el interior del lobulillo se encuentran de 1 a 4 túbulos seminíferos contorneados, en cuyas paredes se produce el proceso de espermatogénesis, y un tejido conectivo muy vascularizado que lo envuelve y que contiene las células intersticiales de Leydig. Éstas se encargan de desarrollar la función endocrina del testículo sintetizando testosterona que estimula la actividad de los túbulos seminíferos, la espermatogénesis, y el desarrollo de los genitales y caracteres sexuales secundarios del varón.

La pared de los túbulos seminíferos está formada por un epitelio estratificado, alto y denso, cuya membrana basal contacta

con un tejido peritubular conjuntivo. Este tejido peritubular es rico en células contráctiles denominadas células mioideas o células peritubulares contráctiles, encargadas de movilizar el contenido del túbulo a la vía seminal. El epitelio seminífero está formado por dos poblaciones celulares; células espermatogénicas y células de Sertoli o células de sostén. Las células espermatogénicas, mediante un proceso de diferenciación y de división meiótica, dan lugar progresivamente a espermatogonias, espermatocitos primarios y secundarios, espermatídes (una vez finalizada la segunda división meiótica) y espermatozoides, y se disponen en hileras mal definidas en el epitelio seminífero. Las células de Sertoli se ubican sobre la membrana basal y entre las células espermatogénicas para dar soporte estructural y trófico al epitelio seminífero.

En las caras laterales se desarrollan complejos de unión entre las células de Sertoli, que permiten dividir el epitelio seminífero en dos compartimentos, el basal y el adluminal. En el compartimento basal se sitúan las espermatogonias y los espermatocitos primarios iniciales. En el adluminal se sitúan los espermatocitos más maduros y las espermatídes. Estos complejos de unión entre las células de Sertoli forman una barrera hematotesticular que aísla el compartimento adluminal del contacto con la sangre y la linfa testicular, separando las células germinales haploides

(espermatocitos secundarios, espermatídes y espermatozoides) que son genéticamente diferentes del sistema inmunitario. Si las células espermatogénicas y los espermatozoides no permanecen aislados se producen anticuerpos específicos contra ellas y pueden ser determinantes en procesos de esterilidad.

Los túbulos seminíferos durante su trayecto presentan numerosas anastomosis entre sí. Al llegar a las proximidades del cuerpo de Highmore se reúnen para formar unos conductos colectores rectilíneos, los conductos rectos, que al unirse unos a otros forman una especie de red denominada red de Haller o rete testis. Este enrejado canalicular, con numerosas anastomosis, da origen a los conductillos eferentes del testículo (Lozano et al. 2011).

2.2. Desarrollo embriológico de los órganos genitales masculinos.

Durante el periodo embriológico el aparato genital, constituido por las gónadas o glándulas sexuales primitivas, los conductos genitales y los genitales externos, sufre un periodo de indiferenciación en el cual puede desarrollarse en sentido masculino o femenino. El gen SRY sobre el cromosoma Y, forma el factor determinante testicular y regula el desarrollo sexual masculino. La expresión de SRY determina la síntesis de un factor de transcripción clave, el SOX9. Este factor induce la activación de varios

genes relacionados con la proliferación y diferenciación de las células de Sertoli. Al ser estimuladas las células de Sertoli comienzan a formar uniones estrechas y vinculantes, cruciales para la formación de los cordones testiculares que proporcionan soporte a la diferenciación testicular. Consecuentemente, los gonocitos comienzan a diferenciarse en la espermatogonia y las células de Sertoli organizan el nicho que acogerá el proceso de autorrenovación de las células germinales en la espermatogénesis y la diferenciación de la espermatogonia (Fukawa et al., 2018). Además, la expresión del gen SRY causa: el desarrollo de los cordones medulares (testiculares); la formación de la túnica albugínea y la falta de desarrollo de los cordones corticales (ováricos). El WNT4 es el gen principal para el desarrollo del ovario, que regula positivamente a DAX1 e inhibe la expresión de SOX9.

El sistema indiferencial de conductos y los genitales externos se desarrollan por influencia hormonal. La testosterona, elaborada por las células de Leydig en los testículos, estimula el desarrollo de los conductos mesonéfricos (conducto deferente y epidídimo) mientras que el factor inhibidor de Müller (FIM), producido por las células de Sertoli, ocasiona la regresión de los conductos paramesonéfricos (sistema de conductos femeninos). La dihidrotestosterona estimula el desarrollo de los genitales externos masculinos (pene y escroto) y la próstata. De otro lado, los estrógenos influyen en el desarrollo del sistema paramesonéfrico femenino

que comprende la trompa uterina, el útero, el cuello uterino y la porción superior de la vagina; también estimulan la diferenciación de los genitales externos femeninos. Alteraciones en la síntesis o la falta de sensibilidad a las hormonas testiculares favorecen el predominio de los caracteres sexuales femeninos debido a la influencia de los estrógenos maternos y placentarios.

Diversos cambios epigenéticos dinámicos tienen lugar durante el desarrollo normal de las células germinales y la expresión de estos genes se encuentra estrechamente controlada por mecanismos de metilación del ADN y los microARN (Laguna et al.,2019).

Los testículos se desarrollan durante la etapa fetal en el interior de la cavidad abdominal. Hacia la doceava semana de gestación el testículo alcanza la región inguinal, migra a través del conducto inguinal alrededor de las 28 semanas y alcanza el escroto a las 33 semanas. Este proceso se encuentra influenciado por hormonas como los andrógenos y el FIM. El testículo desciende por el anillo inguinal y sobre el borde del pubis hasta llegar al pliegue escrotal en el momento del nacimiento. La capa de peritoneo que cubre al testículo da lugar a la hoja visceral de la túnica vaginal y el resto de saco peritoneal formará la hoja parietal de la túnica vaginal. El conducto estrecho que conecta el interior del proceso vaginal

con la cavidad peritoneal se oblitera en el momento del nacimiento o poco tiempo después (Lagman S., 2007).

2.3. Tumores testiculares.

2.3.1. Epidemiología.

Los tumores testiculares suponen entorno al 1% del total de carcinomas diagnosticados anualmente en hombres. Es además el proceso oncológico más común en varones entre 14 y 44 años (Cheng et al., 2018). El pico de máxima incidencia se registra en la tercera década de la vida para los tumores de tipo no seminomatoso y en la cuarta para los seminomas. En los últimos años ha ido aumentando progresivamente el número de casos registrados anualmente, sobre todo en occidente. Son notables las diferencias geográficas de manera que, en países del norte de Europa, como Noruega o Dinamarca, los casos registrados son claramente mayores respecto a África o países asiáticos (Fukawa et al., 2018).

Al diagnóstico, el 70% de los pacientes presentan un estadio I de la enfermedad. La detección precoz y el abordaje multidisciplinar en su tratamiento han dado lugar a unas tasas de supervivencia global a 5 años mayores al 95% (De Toni et al. 2019). Aquellos pacientes diagnosticados

en estadio I presentan una supervivencia cáncer específica mayor al 99% (Cheng et al., 2019)

2.3.2. Clasificación histológica

El sistema de clasificación vigente fue establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016 y combina parámetros según el linaje celular y la edad de aparición del tumor (Cheng et al., 2018; Laguna et al., 2019):

- I. Neoplasia in situ de células germinales (GCNIS)
- II. Tumores de células germinales derivados de GCNIS:
 - a. Seminomas
 - b. No seminomas:
 - Carcinoma embrionario
 - Tumor del saco de Yolk (tipo postpuberal)
 - Tumor trofoblástico
 - Teratoma (tipo postpuberal)
 - Teratoma con alteraciones somáticas malignas.
 - Tumor mixto de células germinales.
- III. Tumores de células germinales no derivados de GCNIS:
 - a. Tumor espermatocítico
 - b. Tumor del saco de Yolk (tipo prepuberal)

- c. Tumor mixto de células germinales (tipo prepuberal)
- IV. Tumores estromales o del cordón sexual:
- a. Tumores de células de Sertoli
 - b. Tumores de células de Leydig
 - c. Tumores de células de la granulosa
 - d. Tecoma o fibroma
 - e. Gonadoblastoma
- V. Miscelánea de tumores estromales no específicos.

De forma global, entorno al 50% de los tumores testiculares diagnosticados son seminomas.

2.3.3. Diagnóstico

Habitualmente el tumor testicular se presenta como una masa escrotal unilateral y no dolorosa, diagnosticándose clínicamente. El dolor escrotal puede ser el primer síntoma en el 20% de los casos. La ginecomastia está presente en un 7% de los pacientes y se relaciona con tumores de tipo no seminoma. La exploración física escrotal debe acompañarse de un examen general a fin de hallar posibles adenopatías o ginecomastia. Resulta realmente importante la valoración de ambos testículos puesto que entorno al 1-2% de los casos al diagnóstico presentan un tumor bilateral (Cheng et al.; 2018)

En cualquier caso, debe llevarse a cabo una ecografía escrotal bilateral para complementar la exploración física y caracterizar la masa. La ecografía escrotal presenta una sensibilidad del 100%.

Los marcadores tumorales se valoran previamente a la orquiectomía para complementar el diagnóstico y estadiaje, y tras 5-7 días de la intervención quirúrgica como factor pronóstico. Su determinación se realiza mediante una muestra sanguínea y estos marcadores comprenden: la alfa-feto-proteína (AFP), la gonadotropina coriónica humana subtipo β (β -HCG) y la lactato deshidrogenasa (LDH). La AFP y la β -HCG se encuentran aumentadas en el 50-70% y 40-60% respectivamente de los pacientes con tumor testicular de tipo no seminoma. Entorno al 90% de estos pacientes presentan elevado uno o ambos marcadores. Más del 30% de los pacientes con seminoma presentan niveles altos de β -HCG. La LDH resulta menos específica como marcador tumoral y su concentración es proporcional al volumen tumoral, viéndose elevada en el 80% de los pacientes con enfermedad avanzada. En ningún caso la ausencia de elevación de los marcadores tumorales descarta la presencia de un tumor testicular.

Respecto al cribado, no existe alta evidencia científica que avale los programas de cribado, sin embargo, se ha visto que un diagnóstico precoz

se relaciona directamente con un menor estadio y mejor pronóstico. En cualquier caso, ante la existencia de factores de riesgo clínico, sobre todo historia familiar o haber presentado un tumor testicular previo, se debe informar a los pacientes de la importancia de la autoexploración.

Tras el diagnóstico es necesario un estudio de extensión a fin de establecer, junto con los marcadores tumorales, un correcto estadiaje de cara al tratamiento. La tomografía computarizada (TC) toraco-abdomino-pélvica presenta una sensibilidad entre el 70-80% en el diagnóstico de adenopatías. La resonancia magnética obtiene resultados parecidos a la TC, sin embargo, su mayor coste y menor disponibilidad ha dado lugar a que su uso no se encuentre tan extendido. Según los hallazgos, los pacientes son clasificados en: estadio I, sin metástasis; estadio II, adenopatías patológicas; estadio III, con metástasis viscerales (Laguna et al., 2019).

2.3.4. Tratamiento y pronóstico.

En la actualidad los tumores testiculares presentan unas tasas excelentes de curación mediante el tratamiento multidisciplinar. La orquiectomía radical resulta obligatoria tras el diagnóstico y permite establecer el perfil histológico y el estadio a nivel local. Sólo algunos centros muy especializados o en casos de tumor bilateral, se desarrollan protocolos de tumorectomía y conservación testicular. Los tumores

testiculares resultan en líneas generales muy quimiosensibles, especialmente al tratamiento basado en cisplatino.

En aquellos pacientes con estadio I, la posibilidad de metástasis subclínicas y por tanto el riesgo de recidiva tras orquiectomía es menor al 15% en tumores de tipo seminoma y entorno al 30% en los no seminomatosos. La opción de realizar quimioterapia adyuvante o vigilancia debe ser consensuada entre el facultativo y el paciente tras haber proporcionado a éste toda la información necesaria.

En los pacientes con estadios II y III será necesario el abordaje multidisciplinar mediante cirugía y quimioterapia adyuvante generalmente mediante el esquema bleomicina- etopósido- cisplatino (BEP). En algunos casos con alto volumen metastásico y tumores de tipo seminoma puede plantearse la adyuvancia con radioterapia al presentar éstos cierto grado de radiosensibilidad (Cheng et al., 2018; Laguna et al.,2019).

2.4. Factores relacionados con el carcinoma testicular de células germinales.

2.4.1. Síndrome de disgenesia testicular:

El síndrome de disgenesia testicular (SDT) es una entidad clínica

compuesta por diferentes alteraciones en el desarrollo del tracto genitourinario masculino tales como la criptorquidia (defecto congénito en el cual uno o los dos testículos no aparecen en la bolsa escrotal al nacimiento), el hipospadias (defecto congénito en la formación de la uretra determinando que el meato uretral no se encuentre en el extremo distal del glande), alteraciones en la calidad seminal/niveles de hormonas reproductivas, y tumor testicular (Skakkebaek et al., 2001). Desde 2016 el grupo de Skakkebaek incluye, ante las evidencias científicas, la presencia de una menor distancia anogenital (DAG) dentro de este síndrome (Skakkebaek et al., 2016). La definición de este síndrome tiene, por un lado, una base epidemiológica ante la observación del aumento generalizado de la incidencia de estas patologías de forma sincrónica. Por otro lado, una base biológica, el conocimiento de un origen embriológico común. Los cuatro desórdenes clínicos comparten la alteración en la función de las células de Sertoli y/o de Leydig desde la línea germinal alterando la síntesis hormonal sexual y/o la normal producción de espermatozoides, respectivamente (De Toni et al., 2019). Diferentes estudios han objetivado el papel de estas células en la patogenia del tumor testicular. A su vez, en biopsias testiculares llevadas a cabo en pacientes con criptorquidia, hipospadias y alteraciones en la calidad seminal se halló la presencia de áreas con disgenesia en el parénquima testicular y diferentes alteraciones histológicas sobre estas dos estirpes celulares (Skakkebaek et al., 2016). Respecto a la incorporación de una menor DAG como parte del síndrome,

diferentes estudios han mostrado una asociación entre esta medida y la presencia de criptorquidia, bajos recuentos espermáticos, bajos niveles de andrógenos y la presencia de hipospadias (Hsieh et al., 2008, 2012; Jain and Singal, 2013; Thankamony et al., 2014). En modelos animales se ha demostrado que una menor DAG en machos refleja una menor concentración de andrógenos durante el periodo fetal y que esta longitud acortada se mantiene tras el nacimiento (Gray et al. 2006; Welsh et al. 2008). En la misma línea, se ha mostrado en un grupo de varones jóvenes que la presencia de hipospadias y criptorquidia se relacionaba tanto con una menor DAG como con un tamaño peneano menor (Eisenberg et al. 2012a; Dean and Sharpe 2013; Thankamony et al. 2014). Las diferentes entidades del SDT resultan ser factores de riesgo tanto a nivel individual como poblacional (Skakkebaek et al., 2016). Clásicamente, la criptorquidia ha sido considerada como uno de los principales factores de riesgo del tumor testicular, siendo estos hasta cinco veces más frecuente en pacientes con criptorquidia. Igualmente, la presencia de hipospadias o un bajo recuento espermático son en sí mismos factores de riesgo de tumor testicular (Wohlfahrt-Veje et al., 2009).

2.4.2. Factores de riesgo epidemiológicos:

Numerosos estudios han mostrado relación entre diferentes entidades patológicas y el tumor testicular.

I. Recurrencia en el testículo contralateral:

La aparición de un tumor de células germinales metacrónico en el testículo contralateral presenta una incidencia entre el 1 y el 5%. El riesgo global de presentar un segundo tumor testicular es aproximadamente el 5% en los siguientes 5 años al tumor primario, apareciendo dentro de los dos primeros años en la mayoría de los casos (De Toni et al., 2019). El riesgo de un tumor contralateral será menor en pacientes con tumor tipo no-seminoma y en aquellos pacientes cuyo tumor se presentó a una edad más temprana.

II. Disruptores endocrinos y factores hormonales endógenos:

El importante incremento en la incidencia de los tumores testiculares en las últimas décadas pone de manifiesto la existencia de factores externos, y no únicamente el componente hereditario, como potenciales agentes involucrados en el desarrollo de esta patología. En diferentes estudios epidemiológicos se ha mostrado que la segunda generación de inmigrantes en países con una alta incidencia presentaba tasas de tumor testicular similares a los originarios de dicha localización (Fukawa et al., 2018).

Los disruptores endocrinos son sustancias químicas ambientales que a nivel del organismo actúan alterando las señales hormonales, interactuando como agonistas o antagonistas según el compuesto. Considerando el SDT, se han descrito dos posibles teorías para el mecanismo de acción de los disruptores endocrinos. En primer lugar, la teoría estrogénica consiste en la exposición a sustancias con propiedades estrogénicas que ejercen una alteración a nivel del eje central hipotálamo- pituitaria- gónada. El dietilestilbestrol (DES) y el bisfenol A (BPA) resultan un claro ejemplo de esta vía, siendo agonistas del receptor estrogénico. El DES fue administrado habitualmente a mujeres embarazadas durante los años 50 y 60 para evitar los abortos y algunas complicaciones derivadas del propio embarazo. En diferentes estudios se ha mostrado como los hijos de estas mujeres presentaban mayor tasa de quistes de epidídimo, alteraciones en los parámetros seminales, criptorquidia y tumores testiculares (Gaspari et al. 2011; Hsieh et al. 2008). El otro mecanismo descrito es la actividad antiandrogénica cuyo principal exponente son los ftalatos. Estudios desarrollados en modelos animales han demostrado la interacción de estas sustancias con la actividad de las células de Leydig. Además, en los hijos de madres expuestas a estas sustancias se mostró una mayor presencia de criptorquidia, hipospadias y otras alteraciones anatómicas en el

tracto genitourinario, así como una DAG acertada (De Toni et al., 2019; Swan et al. 2008; Swan et al 2015).

La lista de elementos con capacidad para ejercer esta acción sigue creciendo continuamente, contemplándose actualmente la exposición a estas sustancias como el agente causativo de mayor peso en el incremento de la incidencia del SDT en las últimas décadas. Si bien es cierto que, ante un mismo escenario ambiental, las manifestaciones clínicas del SDT varían según los individuos, poniendo de manifiesto que será el trasfondo genético el que determine la susceptibilidad individual a la acción de agentes externos (Skakkebaek et al., 2016).

III. Factores perinatales:

Diferentes estudios epidemiológicos han informado de la relación de los tumores testiculares con las siguientes circunstancias, si bien son necesarias más investigaciones a fin de establecer el mecanismo fisiopatológico que los relaciona (Skakkebaek et al., 2016):

- Bajo peso al nacimiento
- Menor edad gestacional
- Menor edad materna

- Sangrado o amenaza de aborto espontáneo
- Uso de tratamiento hormonal durante el embarazo
- Antecedentes de hernia inguinal previa
- Otros:
 - Número de hermanos
 - Orden de nacimiento entre los hermanos

2.4.3. Factores de riesgo genéticos:

Aunque en el 90% de los casos los pacientes no presentan historia familiar de tumor testicular, las alteraciones genéticas son responsables de más del 40% de los casos, siendo el tercer tumor con mayor componente genético, solo por detrás del tiroides y los tumores de glándulas endocrinas (Cheng et al., 2018). Además, se ha visto que tener un hermano con antecedentes de tumor testicular incrementa el riesgo de presentar esta misma neoplasia entre 8 y 10 veces; de igual modo los descendientes directos de un paciente con carcinoma testicular tienen un riesgo aumentado entre 4 y 6 veces frente a la población general (De Toni et al., 2019).

En relación a la patogenia de los tumores testiculares, aunque también participan líneas oncogénicas típicas, como alteraciones en la reparación del ADN o agregación de cromosomas, las asociaciones más significativas respecto a alteraciones genéticas responden a líneas de

desarrollo gonadal y de la función de células germinales. Entre los cambios genéticos descritos se muestra un marcador específico, un isocromosoma del brazo corto del cromosoma 12 (12p), que ha sido descrito en todas las formas histológicas de tumor testicular derivado de células germinales y en la GCNIS. A su vez, alteraciones en el locus p53 han sido identificadas en el 66% de los casos de tumores testiculares, así como una asociación entre polimorfismos genéticos en el gen supresor tumoral PTEN y el riesgo de presentar un carcinoma testicular (Laguna et al., 2019).

Una alteración en la regulación del programa de pluripotencialidad de las células germinales en el feto es probablemente la responsable del desarrollo de la GCNIS y del resto de entidades tumorales testiculares. Esta alteración puede ser identificada mediante marcadores específicos: M2A, C-KIT y OCT4/NANOG. Para nuestro mayor conocimiento, los *genome-wide association studies* (GWAS) han revelado el hallazgo de diferentes polimorfismos de nucleótidos (SNPs) cuya presencia predispone a un mayor riesgo de desarrollar tumor testicular, en concreto a nivel del brazo corto del cromosoma 15, 15p21.3 (Skakkebaek et al., 2015).

2.4.4. Distancia anogenital (DAG):

La distancia anogenital (DAG), definida como la distancia entre el ano y los genitales, es un dimorfismo sexual en mamíferos placentarios que

permanece relativamente estable durante la vida adulta (Hotchkiss et al., 2004). Han sido descritas dos tipos de medidas: la DAG que comprende desde el margen anal superior hasta la base dorsal del pene o DAG_{AP}; y la distancia desde el margen anal superior hasta la inserción ventral del escroto en el periné o DAG_{AS} (figura 1).

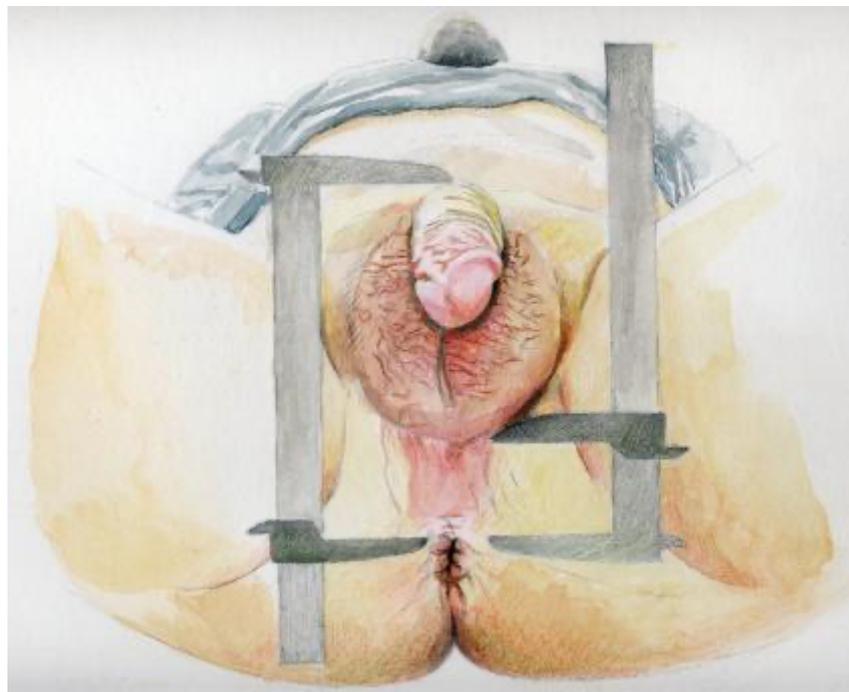


Figura 1. Variantes de la DAG. DAG_{AP}: desde la base anterior del pene al margen superior del ano (izquierda). DAG_{AS}: desde la vertiente posterior del escroto (primer pliegue) al margen superior del ano (derecha).

En las últimas dos décadas estudios experimentales en roedores han demostrado que la DAG supone un reflejo del ambiente hormonal intrauterino y ha sido relacionada con aspectos anatómicos, fisiológicos y de comportamiento en el adulto. La DAG, tanto en modelos animales como humanos, resulta mayor en el sexo masculino respecto al femenino,

habiendo sido utilizada inicialmente para el reconocimiento del sexo en animales (Salazar-Martínez et al., 2004; Scott et al., 2008; Swan, 2008; Thankamony et al., 2009; Macleod et al., 2010). En modelos animales se ha demostrado que aquellas sustancias que actúan como disruptores endocrinos durante la etapa prenatal influyen negativamente sobre la señal androgénica normal alterando el desarrollo del aparato reproductor (Gray et al. 2006), incluyéndose igualmente la DAG (Swan et al., 2005, 2015; Bustamante-Montes et al., 2013; Bornehag et al., 2015). Diferentes estudios han mostrado como la exposición fetal a estas sustancias reduciría los niveles de andrógenos dando lugar a una menor DAG y anomalías del aparato reproductor masculino. (Hsieh et al., 2008, 2012; Jain & Singal, 2013; Thankamony et al., 2014). De igual modo, la exposición fetal a disruptores endocrinos como los ftalatos, el diclorodifeniltricloroetano (DDT), las dioxinas o el bisfenol A, se asocian con una DAG acortada en niños (Gaspari et al., 2011), puesto que son compuestos antiandrogénicos. Consecuentemente, una mayor exposición prenatal a andrógenos se relaciona con una DAG más alargada (Gray et al., 2006).

La relación entre la DAG y las alteraciones en la fertilidad masculina ha sido objeto de estudio por diferentes grupos obteniéndose resultados dispares (Mendiola et al., 2011; Eisenberg et al., 2011; Mendiola et al., 2014; Mendiola et al., 2015; Parra et al., 2015). Sin embargo, otras entidades como el hipospadias o la criptorquidia se han relacionado más

consistente y significativamente con valores de DAG acortados (Hsieh et al. 2008, 2012; Jain and Singal, 2013; Thankamony et al., 2014). También se ha establecido una relación entre la DAG y el cáncer de próstata y su grado pronóstico (Castaño- Vinyals et al., 2012; Maldonado-Cárceles et al., 2016; Sánchez et al., 2018; Oñate et al., 2019a y 2019b).

Recientemente, el grupo de Moreno-Mendoza ha mostrado los resultados del que hasta el momento es el único estudio de casos y controles publicado sobre la relación de la DAG y el carcinoma testicular. En él se objetiva de forma significativa una menor DAG en el grupo de pacientes con tumor testicular respecto a los controles, independientemente de la concentración seminal y de la histología tumoral. Concluyen por tanto que una DAG_{AS} y DAG_{AP} acortada supone un factor de riesgo independiente para la aparición del tumor testicular (Moreno-Mendoza et al., 2020).

2.4.5. Razón 2D:4D.

El cociente entre los dedos índice y anular de la mano (razón 2D:4D) es un dimorfismo sexual siendo hasta un 25% mayor en mujeres respecto a hombres (Manning et al., 1998; Manning et al., 2003; Honekopp et al., 2007). Se determina durante la etapa prenatal y permanece estable durante la vida adulta (García- Cruz et al., 2012). Además, resulta ser un

biomarcador de la exposición a andrógenos durante el periodo prenatal (Breedlove et al., 2010; Muller et al., 2011).

Diferentes estudios han establecido una relación entre la razón 2D:4D y los niveles de exposición prenatal a testosterona de forma negativa y a estrógenos en sentido positivo (Jung et al., 2011). También se han relacionado menores valores en la razón 2D:4D con un mayor recuento de espermatozoides en el líquido seminal (Manning et al. 1998, 2004). A su vez, diferentes análisis han mostrado el importante papel de las hormonas sexuales en el desarrollo y progresión de algunas estirpes tumorales como la mama, próstata y el parénquima testicular (Madhunapantula et al. 2010; Folkerd et al. 2010). Ante la evidencia de una influencia hormonal común, surge la hipótesis de una posible relación entre la razón 2D:4D y el riesgo de presentar determinadas estirpes tumorales. Hasta donde conocemos, existen en la bibliografía dos estudios en los que se ha analizado la relación entre la razón 2D:4D y el carcinoma testicular en varones adultos. Tanto el grupo de investigación francés como el americano no encontraron asociación significativa entre la razón 2D:4D y la presencia de carcinoma testicular (Auger et al. 2010; Trabert et al. 2013).

2.5. Referencias bibliográficas.

- Auger J. and Eustachet F. Second to fourth digit ratios, male genital development and reproductive health: a clinical study among fertile men and testis cancer patients. *Int J Androl.* 2011; 34: e49– e58.
- Bornehag C.G, Carlstedt F., Jönsson B.A., Lindh C.H., Jensen T.K., Bodin A., Jonsson C., Janson S. and Swan S.H. Prenatal phthalate exposures and anogenital distance in Swedish boys. *Environ Health Perspect.* 2015; 123:101–107.
- Breedlove S.M. Minireview: Organizational hypothesis: instances of the fingerpost. *Endocrinol.* 2010 Sep;151(9):4116-22.
- Bunevicius A. The Association of Digit Ratio (2D: 4D) with Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis. Markers.* 2018; Vol. 2018: 1-9.
- Bustamante-Montes L.P., Hernández-Valero M.A., Flores-Pimentel D., García-Fábila M., Amaya-Chávez A., Barr D.B., and Borja-Aburto V.H. Prenatal exposure to phthalates is associated with decreased anogenital distance and penile size in male newborns. *J Dev Orig Health Dis.* 2013; 4:300–306.
- Castaño-Vinyals, G., Carrasco, E., Lorente, J. A., Sabaté, Y., Cirac-Claveras, J., Pollán, M. and Kogevinas, M. Anogenital distance and the risk of prostate cancer. *BJU International.* 2012; 110(11 B), 7–10

- Cheng L., Albers P., Berney D.M., Feldman D.R., Daugaard G., Gilligan T. and Looijenga L. H.J. Testicular cancer. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2018; 4: 1.
- Dean A. and Sharpe R.M. Clinical review: anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development and its disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98, 2230–2238.
- De Toni L., Šabovic I., Cosci I., Ghezzi M., Foresta C. and Garolla A. Testicular cancer: Genes, environment, hormones 2019. *Front. Endocrinol.* 2019 Jul; 10 : 1-11.
- Eisenberg M.L., Hsieh M.H., Walters R.C., Krasnow R. and Lipshultz L.I. The relationship between anogenital distance, fatherhood, and fertility in adult men. *PLoS One.* 2011; 6: e18973.
- Eisenberg M.L., Jensen T.K., Walters R.C., Skakkebaek N.E. and Lipshultz L.I. The relationship between anogenital distance and reproductive hormone levels in adult men. *J Urol.* 2012; 187, 594–598.
- Folkard E.J. and Dowsett M. Influence of sex hormones on cancer progression. *J. Clin Oncol.* 2010; 28 (26): 4038–4044.
- Fukawa T. and Kanayama H.O. Current knowledge of risk factors for testicular germ cell tumors. *Int J Urol.* 2018 Apr; 25(4):337-344.
- García-Cruz E., Huguet J., Piqueras M., Ribal M.J. and Alcaraz A. Second to fourth digit ratio, adult testosterone level and testosterone deficiency. *BJU Int.* 2012 Jan;109(2):266-71.

- Gaspari L., Paris F., Jandel C., Kalfa N., Orsini M., Daurs J.P. and Sultan C. Prenatal environmental risk factors for genital malformations in a population of 1442 French male newborns: A nested casecontrol study. *Hum. Reprod.* 2011 Advanced; Vol.26, No.11 pp. 3155–3162.
- Gray L.E. Jr., Wilson V.S., Stoker T., Lambright C., Furr J., Noriega N., Howdeshell K., Ankley G.T. and Guillette L. Adverse effects of environmental anti-androgens and androgens on reproductive development in mammals. *Int J Androl.* 2006; 29:96–104.
- Hsieh M.H., Breyer B.N., Eisenberg M.L. and Baskin L.S. Associations among hypospadias, cryptorchidism, anogenital distance, and endocrine disruption. *Curr Urol Rep.* 2008; 9:137–142.
- Hsieh M.H., Eisenberg M.L., Hittelman A.B., Wilson J.M., Tasian G.E. and Baskin L.S. Caucasian male infants and boys with hypospadias exhibit reduced anogenital distance. *Hum Reprod.* 2012; 27:1577-1580.
- Hönekopp J., Bartholdt L., Beier L. and Liebert A. Second to fourth digit length ratio (2D:4D) and adult sex hormone levels: new data and a meta-analytic review. *Psychoneuroendocrinology.* 2007 May;32(4):313-21.
- Hönekopp J. and Watson S. Meta-analysis of digit ratio 2D: 4D shows greater sex difference in the right hand. *Am. J. Hum. Biol.* 2010; 22(5): 619– 630.
- Hotchkiss A.K., Parks-Saldutti L.G., Ostby J.S., Lambright C., Furr J., Vandenberg J.G. and Gray L.E. Jr. A mixture of the ‘anti-androgens’

- linuron and butyl benzyl phthalate alters sexual differentiation of the male rat in a cumulative fashion. *Biol Reprod.* 2004; 71:1852–1861.
- Jain V.G. and Singal A.K. Shorter anogenital distance correlates with undescended testis: a detailed genital anthropometric analysis in human newborns. *Hum Reprod.* 2013; 28:2343–2349.
 - Jung H., Kim K.H., Yoon S.J. and Kim T.B. Second to fourth digit ratio: a predictor of prostate-specific antigen level and the presence of prostate cancer. *BJU Int.* 2011 Feb;107(4):591-6.
 - Kurzrock E.A., Jegatheesan P., Cunha G.R. and Baskin L.S. Urethral development in the fetal rabbit and induction of hypospadias: a model for human development. *J Urol.* 2000; 164, 1786–1792.
 - Lagman S. *Embriología médica con orientación clínica.* 10ª edición. Editorial Médica Panamericana. 2007. ISBN 978-950-06-0077-4.
 - Laguna M.P. (Chair), Albers P., Albrecht W., Algaba F., Bokemeyer C., Boormans J.L., Cohn-Cedermark G., Fizazi K., Gremmels H (Patient advocate), Horwich A., Nicol D., Nicolai N. and Oldenburg J. *EAU Guidelines on Testicular Cancer.* European Association of Urology 2019. ISBN 978-94-92671-04-2.
 - Lymperi S. and Giwercman A. Endocrine disruptors and testicular function. *Metabolism.* 2018; 86:79-90.
 - Lozano Blasco J.M., Sánchez González M. y Leal Arenas J. *Tratado de andrología y medicina sexual.* Editorial médica panamericana, 2011. ISBN 978-84-9835-340-2.

- Macleod D.J., Sharpe R.M., Welsh M., Fisker M., Scott H.M., Hutchison G.R., Drake A.J. and van den Driesche S. Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. *Int J Androl.* 2010 Apr; 33:279–287.
- Madhunapantula S.V., Mosca P. and Robertson G.P. Steroid hormones drive cancer development. *Cancer Biol. Ther.* 2010; 10 (8): 765-766.
- Maldonado-Cárceles A.B., Sánchez-Rodríguez C., Vera-Porras E.M., Árense-Gonzalo J.J., Oñate-Celdrán J., Samper-Mateo P. García-Escudero D., Torres-Roca M., Martínez-Díaz F., Mendiola J. and Torres-Cantero A.M. Anogenital distance, a biomarker of prenatal androgen exposure is associated with prostate cancer severity. *Prostate.* 2017 Mar;77(4):406-411.
- Manning J.T., Scutt D., Wilson J. and Lewis-Jones D.I. The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. *Hum Reprod.* 1998 Nov;13(11):3000-4.
- Manning, J. T., Bundred, P. E., Newton, D. J. and Flanagan, B. F. The second to fourth digit ratio and variation in the androgen receptor gene. *Evol. Hum. Behav.* 2003; 24(6), 399–405.
- Manning J.T., Stewart A., Bundred P.E. and Trivers R.L. Sex and ethnic differences in 2nd to 4th digit ratio of children. *Early Hum Dev.* 2004 Nov;80(2):161-8.

- McIntyre M.H., Ellison P.T., Lieberman D.E., Demerath E. and Towne B. The development of sex differences in digital formula from infancy in the Fels Longitudinal Study. *Proc Biol Sci.* 2005; 272:1473–1479.
- Mendiola J., Stahlhut R.W, Jørgensen N., Liu F. and Swan S.H. Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. *Environ Health Perspect.* 2011; 119:958–963.
- Mendiola J., Jørgensen N., Andersson A.M., Stahlhut R.W., Liu F. and Swan S.H. Reproductive parameters in young men living in Rochester, New York. *Fertil. Steril.* 2014; 101:1064-71.
- Mendiola J., Melgarejo M., Moñino-Garcia M., Cutillas-Tolin A., Noguera-Velasco J.A. and Torres-Canter A.M. Is anogenital distance associated with semen quality in male partners of subfertile couples? *Andrology.* 2015 Jul ;3(4):672-6.
- Moreno-Mendoza D., Casamonti E., Riera-Escamilla A., Pietroforte S., Corona G., Ruiz-Castañe E. and Krausz C. Short anogenital distance is associated with testicular germ cell tumour development. *Andrology.* 2020 Nov; 8(6):1770-1778.
- Muller D.C., Giles G.G., Manning J.T., Hopper J.L., English D.R. and Severi G. Second to fourth digit ratio (2D:4D) and prostate cancer risk in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Br J Cancer.* 2011 Jul; 26;105(3):438-40.
- Oñate-Celdrán J., Areñse-Gonzalo J.J., Mendiola J., Samper-Mateo P., Sánchez-Rodríguez C., García-Escudero D., Torres-Roca M., Vilchez-

- Costas A., Adoamnei E. and Torres-Cantero AM (2019a). Study of anogenital distance as a diagnostic tool for prostate cancer. *Rev Int Androl.* 2019 Apr-Jun; 17 (2): 60-67.
- Oñate-Celdrán J., Areense-Gonzalo J.J., Mendiola J., Samper-Mateo P., Sánchez-Rodríguez C., García-Escudero D., Torres-Roca M., Torres-Roca M., Molina-Hernández O., Adoamnei E. and Torres-Cantero A.M. (2019b). Prostate cancer is associated with anogenital distance, a biomarker of prenatal androgen milieu. *Arch. Esp. Urol.* 2019 Jan; 72 (1): 9-15.
 - Parra M.D., Mendiola J., Jørgensen N., Swan SH. and Torres-Cantero A.M. Anogenital distance and reproductive parameters in young men. *Andrologia.* 2016 Feb;48(1):3-10.
 - Sathyanarayana S., Beard L., Zhou C. and Grady R. Measurement and correlates of ano-genital distance in healthy, newborn infants. *Int J Androl.* 2010; 33, 317–323.
 - Salazar-Martinez E., Romano-Riquer P., Yanez-Marquez E., Longnecker M.P. and Hernandez-Avila M. Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. *Environ Health.* 2004; 3:8.
 - Sánchez-Rodríguez C., Oñate-Celdrán J., García-Escudero D., Samper-Mateo P., Molina-Hernández O., Torres-Roca M., Maldonado-Cárceles A.B., López-Espín J.J., Martínez-Díaz F., Mendiola-Olivares J. and

- Torres-Cantero A.M. Relationship between anogenital distance and prognosis of prostate cancer. *Arch. Esp. Urol.* 2018 Sep; 71(7):575-582.
- Skakkebaek N. E, Rajpert-De Meyts E., Main K. M., Vom Saal F., Skakkeboek N., Joffe M., Sharpe R., Swan S., Guillette L. and Iwamoto T. Testicular dysgenesis syndrome: An increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* 2001; 16:972-978.
 - Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Buck Louis G.M., Toppari J., Andersson A.M., Eisenberg M.L., Jensen T.K., Jørgensen N., Swan S.H., Sapra K.J., Ziebe S., Priskorn L. and Juul A. Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility. *Physiol Rev.* 2016; 96:55-97.
 - Scott H.M., Hutchison G.R., Jobling M.S., McKinnell C., Drake A.J. and Sharpe R.M. Relationship between androgen action in the “male programming window”, fetal Sertoli cell number, and adult testis size in the rat. *Endocrinology.* 2008; 149:5280–5287.
 - Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M., Mao C.S., Redmon J.B., Ternand C.L., Sullivan S. and Teague J.L. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect.* 2005 Aug; 113:1056–1061.

- Swan S.H. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res.* 2008; 108:177–184.
- Swan S.H., Sathyanarayana S., Barrett E.S., Janssen S., Liu F., Nguyen R.H. and Redmon J.B. TIDES Study Team. First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns. *Hum Reprod.* 2015; 30, 963– 972.
- Thankamony A., Ong K.K., Dunger D.B., Acerini C.L. and Hughes I.A. Anogenital distance from birth to 2 Years: a population study. *Environ Health Perspect.* 2009; 117:1786–1790.
- Thankamony A., Lek N., Carroll D., Williams M., Dunger D.B., Acerini C.L., Ong K.K. and Hughes I.A. Anogenital distance and penile length in infants with hypospadias or cryptorchidism: comparison with normative data. *Environ Health Perspect.* 2014; 122:207–211.
- Trabert B., Graubard B.I., Erickson R.L., Zhang Y., and McGlynn K.A. Second to fourth digit ratio, handedness and testicular germ cell tumors. *Early Hum. Dev.* 2013; 89 (7): 463–466.
- Welsh M., Saunders P.T., Fisker M., Scott H.M., Hutchison G.R., Smith L.B. and Sharpe R.M. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J Clin Invest.* 2008; 118, 1479– 1490.

- Wohlfahrt- Veje C., Main K.M. and Shakkebaek N. E. Testicular dysgenesis syndrome: foetal origin of adult reproductive problems. Clin Endocrinol (Oxf). 2009; 71: 459-465.

3. JUSTIFICACIÓN

El hecho de que los tumores testiculares se consideren un ejemplo de patología oncológica curable radica en las altas tasas de curación a 15 años, entorno al 95%, incluso en aquellos pacientes con metástasis al diagnóstico. Este hecho se basa en los avances relacionados con el tratamiento, pero sobretodo en un diagnóstico precoz. Además, una detección temprana de la enfermedad permitiría disminuir el número de pacientes que precisen tratamiento quimioterápico adyuvante y, por tanto, reducir las tasas de efectos secundarios derivados de los mismos como la infertilidad. En base a desarrollar programas de prevención más sensibles y específicos la ciencia continúa en busca de marcadores predictores de enfermedad o de aquellas circunstancias que van a predisponer a la misma. Con este fin hemos desarrollado un estudio en el que analizamos la relación de la DAG y la razón 2D:4D, ambos reconocidos como biomarcadores en la edad adulta de la concentración de hormonas sexuales durante la etapa prenatal, con el riesgo de presentar tumor testicular en nuestro ámbito más cercano.

4. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es analizar la asociación entre biomarcadores prenatales de exposición a andrógenos y la presencia de cáncer testicular.

Objetivos específicos:

1. Analizar la asociación entre la DAG en sus dos variantes (DAG_{AS} y DAG_{AP}) y la presencia de cáncer testicular y sus tipos histológicos.
2. Analizar la asociación entre la razón digital 2D:4D y la presencia de cáncer testicular y sus tipos histológicos.

5. HIPÓTESIS

1. Una DAG acortada -tanto DAG_{AS} como DAG_{AP} - se asocia con un mayor riesgo de cáncer testicular y sus tipos histológicos.
2. Una razón digital 2D:4D aumentada se asocia con un mayor riesgo de cáncer testicular y sus tipos histológicos.

CAPÍTULOS

6. CAPÍTULO 1: Relación entre la distancia anogenital y los tumores testiculares.

6.1. Introducción

La distancia anogenital (DAG), definida como la distancia entre el ano y los genitales, supone un dimorfismo sexual en los mamíferos placentarios experimentando mínimas variaciones a lo largo de la vida del individuo (Kurzrocket et al., 2000; Salazar-Martínez et al., 2004; Swan, 2008; Thankamony et al., 2009; Sathyanarayana et al., 2010; Hotchkiss et al., 2004). En las últimas dos décadas diferentes estudios experimentales en roedores han demostrado que la DAG es un reflejo de la concentración de hormonas esteroideas a nivel intrauterino durante el periodo crítico de desarrollo genital, entorno a las semanas 8 y 14 en la gestación humana, conocido como ventana de programación masculina, según sus siglas en inglés *MPW* (*masculinisation programming window*) (Welsh et al., 2008). En modelos sobre mamíferos se observó que una mayor exposición prenatal a andrógenos genera una DAG más larga, propia del sexo masculino (Gray et al. 2006). En humanos también se ha objetivado que los varones presentan una DAG mayor que las mujeres, apoyando la teoría de la influencia hormonal sobre esta medida (Salazar-Martínez et al, 2004).

A lo largo de las últimas décadas se ha producido un importante incremento en la incidencia de tumores testiculares, sobre todo en países industrializados (Rajpert-De Meyts et al., 2016), tanto es así que en algunas áreas del norte de Europa la incidencia se ha duplicado. Los carcinomas testiculares representan actualmente el 1% de las neoplasias en varones (Albers et al., 2019), siendo el tumor más frecuente entre los 14 y los 44 años, lo que ha motivado la realización de numerosos estudios a fin de determinar posibles factores de riesgo (Juul et al. 2014; De Toni et al., 2019). El síndrome de disgenesia testicular (SDT) fue descrito por primera vez en 2001 como una entidad compuesta por cuatro manifestaciones clínicas: hipospadias, criptorquidia, reducción en la calidad seminal y tumores testiculares (Skakkebaek et al., 2001). Entre ellas comparten un origen embriológico común: la migración caudal del tubérculo germinal y su posterior desarrollo bajo influjo hormonal. Se trata, sin duda alguna, de un síndrome de origen multifactorial, en el que en las formas más severas diferentes alteraciones genéticas han sido identificadas como causa primaria, condicionando a menudo la aparición de todas las manifestaciones en un mismo individuo (Wohlfahrt-Veje et al., 2009). Sin embargo, el incremento actual en su incidencia junto con las variaciones geográficas observadas en las últimas décadas, no pueden ser explicados únicamente por factores genéticos y podrían sugerir la presencia de agentes medioambientales y el estilo de vida como posibles factores causantes (Acerini and Hughes, 2006; Diamanti-Kandarakis et al., 2009; Sharpe et al., 2008; Toppari et al., 2010; Wohlfahrt-Veje et al., 2009).

En roedores, la administración intrauterina de ftalatos ha demostrado inducir disgenesia testicular y fenotipos propios del SDT, sin embargo, tumores testiculares de células germinales no han sido nunca objetivados en modelos animales (Foster et al., 2001; Fisher et al., 2003; Higuchi et al., 2003). En hombres, la exposición prenatal a disruptores endocrinos como lo ftalatos (acción antiandrogénica) ha sido asociada con una DAG acortada y malformaciones del tracto genitourinario, tales como la presencia de hipospadias o criptorquidia (Hsieh et al., 2008, 2012; Jain & Singal, 2013; Thankamony et al., 2014). Ambas entidades, hipospadias y criptorquidia, son las anomalías genitales más frecuentes en varones y aparecen como manifestaciones congénitas del SDT. El carcinoma testicular se observa más frecuentemente en hombres con problemas de fertilidad, de igual modo, la presencia de criptorquidia resulta un importante factor de riesgo para la presencia de carcinoma testicular y baja calidad seminal (Wohlfahrt-Veje et al., 2009).

Numerosos estudios han explorado la relación existente entre la DAG y la presencia de problemas de fertilidad masculina, obteniéndose resultados dispares; el grupo de Mendiola y colaboradores observó asociación entre una menor DAG y una peor calidad seminal en una población de hombres jóvenes americanos (Mendiola et al., 2011). Sin embargo, dicha relación no fue hallada en los estudios realizados sobre población china y española (Mendiola et al., 2015; Parra et al., 2016; Zhou et al., 2016). Mas allá de los datos anteriores, una DAG acortada se ha relacionado con menores niveles serológicos de testosterona (Foster et al. 2001;

Mendiola et al. 2011; Dean and Sharpe 2013), menor tamaño testicular (Dean and Sharpe 2013), menor longitud peneana (Eisenberg et al. 2012a; Dean and Sharpe 2013; Thankamony et al. 2014) y la presencia de azoospermia no obstructiva (Eisenberg et al. 2012b).

Recientemente, el grupo de Moreno-Mendoza publicó el que hasta el momento es el único estudio de casos y controles en la literatura sobre la relación de la DAG y el carcinoma testicular. En él hallan de forma significativa una menor DAG en el grupo de pacientes con tumor testicular respecto a los controles, independientemente de la concentración seminal y de la histología tumoral. Objetivan que una DAG acortada en cualquiera de sus dos variantes, DAG_{AS} o DAG_{AP}, supone un factor de riesgo independiente para la aparición del tumor testicular (Moreno-Mendoza et al., 2020).

Reconocer la presencia del SDT en los pacientes resulta relevante para su manejo clínico posterior. Al nacimiento, la presencia de manifestaciones como hipospadias o criptorquidia asociado a una menor DAG podría dirigir a estos pacientes hacia programas de prevención con el fin de evitar o diagnosticar de forma precoz patologías propias de la vida adulta, como las alteraciones reproductivas o la aparición de neoplasias testiculares.

El objetivo de nuestro estudio es analizar la asociación entre la DAG en sus dos variantes (DAG_{AS} y DAG_{AP}) y la presencia de cáncer testicular y sus diferentes tipos histológicos.

6.2. Material y Método.

6.2.1. Diseño del estudio y población:

Se diseñó un estudio de casos y controles no apareados, llevándose a cabo entre mayo de 2013 y septiembre de 2019 en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Reina Sofía en Murcia. Los casos (n= 42), fueron pacientes diagnosticados y tratados de carcinoma testicular en el mismo centro. En el grupo control (n=54) se incluyeron varones adultos atendidos en el mismo departamento por otras causas urológicas y que no presentaban ninguna de las entidades contempladas en el SDT. Ninguno de los participantes recibió compensación económica alguna y en todos los casos firmaron el consentimiento informado correspondiente para la participación en el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité ético de dicho hospital (Ref. No. 776/2013).

6.2.2. Examen físico y medida de la DAG.

Se realizó una exploración física a todos los participantes, en ella se evaluó la presencia de alteraciones genitales como varicocele, hidrocele o quiste de

epidídimo. Los individuos fueron pesados y tallados calculándose posteriormente el índice de masa corporal (IMC) (peso en kilogramos dividido entre el cuadrado de la altura en metros). Se excluyeron aquellos hombres con algún tipo de limitación para el examen físico o la toma de medidas como pacientes sometidos a cirugía perineal, incapacidad para adoptar la posición de medida o ante la presencia de hemorroides externas.

Los pacientes fueron situados en posición de litotomía, acostados sobre su espalda y con una flexión anterior del muslo en ángulo de 45° con la mesa de examen y descansando cada pierna sobre los estribos instalados distalmente, quedando de esta manera el periné expuesto para la medición en el margen de la mesa (Figura 2). Se realizaron dos tipos diferentes de medidas en cada sujeto: la distancia desde la base anterior del pene hasta el margen superior del ano ($DAGT_{AP}$); y la distancia desde el pliegue posterior del escroto hasta el margen anterior del ano (DAG_{AS}) (Figura 1). Como instrumento de medida se empleó un pie de rey digital (Stainless Steel Digital Caliper, VWR® International, LLC, West Chester, PA, USA). En cada sujeto el examinador realizó cada una de las dos medidas en tres ocasiones. La media de estas tres mediciones fue el valor empleado en el análisis estadístico. En el estudio participaron cuatro urólogos del propio servicio y la metodología en detalle ha sido publicada previamente (Mendiola et al., 2016).



Figura 2. Posición de litotomía.

6.2.3. *Análisis estadístico*

Las variables continuas fueron comparadas mediante pruebas paramétricas y no paramétricas, mientras que para las variables categóricas se empleó la prueba Ji-cuadrado. Se realizó una regresión logística multivariable para el análisis de la asociación entre la presencia de carcinoma testicular y sus tipos histológicos (variable dicotómica) y la DAG dividida en tertiles, teniendo como referencia el tercer tercil, y obteniendo los valores de Odds ratio (OR) con un intervalo de confianza (IC) del 95%. El IMC (kg/m^2) y la edad (años) fueron contemplados como covariables en los modelos ajustados. Todas las pruebas fueron de dos colas con el nivel de significación de 0.05. Los análisis se realizaron utilizando IBM SPSS 20.0 (IBM Corporation, Armonk, Nueva York, EE. UU.)

6.3. Resultados

Para el total de la muestra los casos resultaron más añosos que los controles, sin embargo, no se hallaron diferencias significativas en el IMC (Tabla 1). Basándonos en la histología tumoral el grupo de casos fue subdividido entre Seminomas (42,9%) y no-seminoma (57,1%) incluyendo en esta categoría aquellos casos con tumores testiculares derivados de GCNIS de tipo no seminoma y tumores testiculares no derivados de GCNIS. Entre los casos no se registró ningún antecedente de hipospadias o criptorquidia.

Ambos grupos mostraron valores similares respecto a los dos tipos de medidas de DAG. Se calculó un coeficiente de variación intraclase de 0.98 para ambas medidas de DAG.

En la Tabla 2 se muestran los valores de OR e IC del 95% y el valor p de tendencia para la asociación entre las medidas de DAG en tertiles y la presencia o ausencia de cáncer testicular. No se objetivó asociación entre las medidas de DAG (DAG_{AP} y DAG_{AS}) y la presencia de carcinoma testicular con datos crudos o en modelos ajustados. En la Tabla 3 se presentan las OR e IC al 95% y p de tendencia para la asociación entre las medidas de DAG y los tipos histológicos del tumor (seminoma y no-seminoma), no hallándose tampoco asociaciones estadísticamente significativas. Así pues, en nuestro análisis no observamos asociaciones entre una

DAG acertada y un mayor riesgo de presentar carcinoma testicular, para ambos tipos de medidas.

Tabla 1. Comparación de las características general entre casos de tumor testicular y controles.

Características	Controles (n=54)				Casos (n=42)				P-valor ^a
	Media	DE	Mediana	P ₅ -P ₉₅	Media	DE	Mediana	P ₅ -P ₉₅	
Edad (años)	41,7	9,4	46,0	19,9-50,0	32,2	6,9	32,0	20,1-44,0	<0,001
Índice de masa corporal (IMC) (kg/m ²)	27,9	4,7	27,2	20,6-38,3	27,1	3,5	27,0	21,6-32,7	0,36
DAG _{AP} (mm)	128,9	15,3	127,2	108,3-159,7	130,1	18,1	127,4	106,5-165,1	0,74
DAG _{AS} (mm)	41,3	13,9	43,8	16,3-64,5	42,9	15,6	44,5	21,5-69,7	0,57

^aT-student/ test de Mann-Whitney o test de Ji-cuadrado.

IMC: índice de masa corporal.

DE: desviación estándar; P₅-P₉₅: 5°-95° percentil.

DAG_{AP}: distancia anogenital desde la base dorsal del pene al margen anterior del ano.

DAG_{AS}: distancia anogenital desde el margen posterior del escroto al margen anterior del ano.

Tabla 2. Odds ratio (OR) e IC 95% para casos de tumor testicular frente a controles comparando las medidas de DAG dividido en tertiles, adoptando el tercer tercil como referencia.

	Casos		Controles		Odds Ratio ^a (IC95%)	P-tendencia	Odds Ratio ^b (IC95%)	P- tendencia
	n	Mediana (para cada tercil)	n	Mediana (para cada tercil)				
DAG _{AS}								
	14	3° (59,3 mm)	17	3° (52,6 mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
	13	2° (44,7 mm)	18	2° (43,3 mm)	1,1 (0,4-2,9)		1,7 (0,6-5,0)	
	15	1° (26,8 mm)	19	1° (27,3 mm)	1,03 (0,4-2,8)	0,9	1,6 (0,5-5,5)	0,6
DAG _{AP}								
	14	3° (146,1 mm)	19	3° (141,5 mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
	14	2° (127,4 mm)	17	2° (127,2 mm)	0,9 (0,3-2,4)		0,8 (0,3-2,6)	
	14	1° (112,4 mm)	18	1° (115,5 mm)	0,9 (0,3-2,5)	0,9	0,7 (0,3-3,3)	0,9

^aOR sin ajustes.

^bOR ajustada por IMC y edad.

DAG_{AP}: distancia anogenital desde la base dorsal del pene al margen anterior del ano.

DAG_{AS}: distancia anogenital desde el margen posterior del escroto al margen anterior del ano.

Tabla 3. Odds ratio (OR) e IC 95% comparando controles frente a casos de tumor testicular clasificados según su histología comparando las medidas de DAG dividido en tertiles, adoptando el tercer tercil como referencia.

Casos tipo seminoma		Controles		Odds Ratio ^a (IC 95%)	P-tendencia	Odds Ratio ^b (IC95%)	P- tendencia
n	Mediana (para cada tercil)	n	Mediana (para cada tercil)				
DAG _{AS}							
4	3° (68,6mm)	19	3° (52,6mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
7	2° (45,8mm)	17	2° (43,3mm)	1,8 (0,5-7,4)		2,9 (0,6-12,8)	
7	1° (26,8mm)	18	1° (27,3mm)	1,9 (0,5-7,9)	0,6	3,1 (0,7-14,6)	0,3
DAG _{AP}							
7	3° (164,5mm)	19	3° (52,6mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
7	2° (127,7mm)	17	2° (43,3mm)	0,5 (0,1-2,1)		0,5 (0,1-2,4)	
4	1° (110,6mm)	18	1° (27,3mm)	0,9 (0,3-3,3)	0,6	1,1 (0,3-3,9)	0,6
Casos tipo no seminoma		Controles		Odds Ratio ^a (IC 95%)	P-tendencia	Odds Ratio ^b (IC95%)	P-tendencia
n	Mediana (para cada tercil)	n	Mediana (para cada tercil)				
DAG _{AS}							
10	3° (55,8mm)	19	3° (52,6mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
6	2° (39,4mm)	17	2° (43,3mm)	0,8 (0,3-2,6)		1,1 (0,3-4,1)	
8	1° (26,9mm)	18	1° (27,3mm)	0,7 (0,2-2,2)	0,8	1,0 (0,3-4,0)	0,9
DAG _{AP}							
7	3° (141,7mm)	19	3° (52,6mm)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
7	2° (127,3mm)	17	2° (43,3mm)	1,3 (0,4-4,1)		1,4 (0,2-4,2)	
10	1° (112,35mm)	18	1° (27,3mm)	0,9 (0,3-3,3)	0,9	0,9 (0,2-3,7)	0,9

^aOR sin ajustes.

^bOR ajustada por IMC y edad.

DAG_{AP}: distancia anogenital desde la base dorsal del pene al margen anterior del ano.

DAG_{AS}: distancia anogenital desde el margen posterior del escroto al margen anterior del ano.

6.4. Discusión

Aproximadamente el 90% de los tumores testiculares aparecen como resultado del desarrollo de un evento de génesis tumoral ocurrido en la etapa fetal que da lugar a una lesión precursora conocida como neoplasia in situ de células germinales (GCNIS). El potencial invasivo del GCNIS se alcanza en la pubertad determinado principalmente por los cambios hormonales que en ella tienen lugar y por los factores externos a los que el sujeto se ve expuesto (Nasser et al., 2014). El ambiente hormonal en el que se desarrolla el feto se va a ver reflejado en caracteres fenotípicos del individuo como la DAG, además, condiciona la aparición de lesiones precancerígenas o daños irreparables en los órganos en desarrollo (Welsh et al., 2010). En relación con las evidencias científicas expuestas, surge la necesidad de valorar si esta menor concentración de estrógenos se asocia directamente con la aparición de una lesión preoncogénica sobre el testículo, teniendo como resultado la aparición de un carcinoma testicular en la vida adulta. Como instrumento de medida de las condiciones fetales resulta de gran interés clínico la DAG. La DAG ha mostrado ser un rasgo fenotípico relacionado directamente con el ambiente hormonal durante la etapa fetal y que se verá mínimamente modificado durante la edad adulta (Kurzrocket al., 2000; Salazar-Martínez et al., 2004; Hotchkiss et al., 2004; Swan, 2008; Thankamony et al., 2009; Sathyanarayana et al., 2010;) Sin embargo, en nuestro estudio no ha sido posible demostrar dicha relación, no se halló asociación entre la DAG y la

presencia de tumor testicular de forma neta ni dividido por los principales tipos histológicos. Tras ajustar el modelo por edad e IMC como posibles covariables, no obtuvimos de igual modo significación alguna. Recientemente la DAG ha sido reconocida como un elemento más dentro del SDT (Skakkebaek et al., 2016). Son múltiples los estudios llevados a cabo en las últimas dos décadas acerca de su relación con diferentes patologías y manifestaciones clínicas en la salud reproductiva masculina y también femenina. Sin embargo, el papel de la DAG como factor de riesgo del tumor testicular no había sido objetivo de estudio hasta la actualidad. De las entidades que componen el SDT, la criptorquidia e hipospadias, manifestaciones congénitas ambas, se han relacionado significativamente con una DAG acortada (Hua et al., 2018). No obstante, para la calidad seminal los estudios realizados muestran resultados dispares (Mendiola et al., 2011; Mendiola et al., 2015; Parra et al., 2016; Zhou et al., 2016).

En el estudio publicado recientemente por el grupo de Moreno-Mendoza se establece una asociación directa entre una DAG acortada, para ambas medidas, y un mayor riesgo de presentar tumor testicular, tanto en modelos crudos como ajustados por calidad seminal, edad e IMC (Moreno-Mendoza et al., 2020). Junto con las alteraciones en la calidad seminal, el carcinoma testicular se diagnostica en la edad adulta cuando el sujeto se ha visto expuesto a diferentes agentes medioambientales. Diferentes estudios relacionan directamente el aumento de la incidencia de esta patología en las últimas décadas con factores externos y establecen diferencias geográficas en la incidencia de tumores testiculares en

relación con la exposición a factores de riesgo ambientales que actuarían como disruptores endocrinos en la etapa fetal (Nava et al., 2019). Los disruptores endocrinos resultan definitivamente un factor de riesgo potencial en el desarrollo del carcinoma testicular y el posible factor de mayor peso en el incremento de su incidencia en las últimas décadas, aunque será la base genética quien determine probablemente la susceptibilidad individual a la acción de estos compuestos. En la esfera reproductiva existen dos vías diferentes de actuación: la estrogénica, que se basa en la exposición a químicos con acciones análogas a los estrógenos, el Dietilestilbestrol es un ejemplo de este tipo de sustancias; y la vía anti-androgénica, habitualmente ilustrado mediante los compuestos ftalatos (Blount et al. 2000). Diferentes datos obtenidos de células y modelos animales sugieren de manera consistente la influencia directa de los compuestos ftalatos en la función endocrina (De Toni et al. 2019). La importancia de los agentes ambientales en la aparición de tumores testiculares se pone en evidencia al constatar como en la segunda generación de poblaciones inmigrantes la incidencia se iguala al país de destino (Trabert et al., 2015; Fukawa et al., 2018).

La baja incidencia de esta patología en la población determina que resulte difícil realizar un estudio sobre un gran número de casos, siendo esta una de las principales limitaciones de nuestro estudio. Además, tanto los casos como los controles suponen una representación fidedigna de la población asistida en un servicio estándar de urología en nuestra área. El coeficiente de variación intraclase en las tomas de las medidas resulta del todo aceptable y corrobora la

reproducibilidad de este método en la práctica clínica.

6.5. Conclusiones:

Las diferentes investigaciones llevadas a cabo respecto a la DAG y su potencial como factor predictor de determinadas patologías presentan un gran valor en el avance hacia el diagnóstico y tratamiento precoz de enfermedades con gran impacto sobre la sociedad como el carcinoma testicular. A pesar de no haber establecido una relación directa entre la DAG y la presencia de tumores testiculares, consideramos que son necesarios futuros estudios en esta misma línea que permitan establecer cuáles son los mecanismos fisiopatológicos que dan lugar a las diferentes entidades y, por tanto, poder establecer caracteres clínicos que ayuden en la prevención de las patologías.

6.6. Referencias bibliográficas:

- Acerini C.L. and Hughes I. A. Endocrine disrupting chemicals: a new and emerging public health problem? Arch Dis Child. 2006 ;91: 633-641.
- Albers P., Albrecht W., Algaba F., Bokemeyer C., Cohn-Cedermark G., Fizzazi K., Horwich A., Laguna M.P., Nicolai N. and Oldenburg J. 2019. EAU Guidelines on Testicular Cancer.

- Blount B.C., Silva M.J., Caudill S.P., Needham L.L., Pirkle J.L., Sampson E.J., Lucier G.W., Jackson R.J. and Brock J.W. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environ Health Perspect.* 2000; 108:979–82.
- De Toni L., Šabovic I., Cosci I., Ghezzi M., Foresta C. and Garolla A. Testicular cancer: Genes, environment, hormones. *Front. Endocrinol.* 2019 Jul; 10 : 1-11.
- Dean A. and Sharpe R.M. Clinical review: anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development and its disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98, 2230–2238.
- Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J.P., Giudice L.C., Hauser R., Prins G.S., Soto A.M., Zoeller R.T. and Gore A.C. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr. Rev.* 2009; 30: 293-342.
- Eisenberg M.L., Hsieh M.H., Walters R.C., Krasnow R. and Lipshultz L.I. The relationship between anogenital distance, fatherhood, and fertility in adult men. *PLoS One.* 2011; 6, e18973.
- Eisenberg M.L., Jensen T.K., Walters R.C., Skakkebaek N.E. and Lipshultz L.I. (2012a) The relationship between anogenital distance and reproductive hormone levels in adult men. *J Urol.* 2012; 187, 594–598.

- Eisenberg M.L., Shy M., Herder D., Walters R.C. and Lipshultz L.I. (2012b) The relationship between anogenital distance and the efficacy of varicocele repair. *BJU Int.* 2012; 110, E927–E930.
- Fisher J.S., Macpherson S., Marchetti N. and Sharpe R.M. Human “testicular dysgenesis syndrome”: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Human Reprod.* 2003; 8, 286-298.
- Foster P.M.D., Mylchreest E., Gaido KW., and Sar M. Effects of phthalate esters on the developing reproductive tract of male rats. *Hum Reprod Update.* 2001; 7, 231-235.
- Fukawa T. and Kanayama H.O. Current knowledge of risk factors for testicular germ cell tumors. *Int J Urol.* 2018 Apr; 25(4):337-344.
- Gray L.E. Jr., Wilson V.S., Stoker T., Lambright C., Furr J., Noriega N., Howdeshell K., Ankley G.T. and Guillette L. Adverse effects of environmental anti-androgens and androgens on reproductive development in mammals. *Int J Androl.* 2006; 29, 96–104.
- Hardell L., Van Bavel B., Lindström G., Eriksson M., Carlberg M., Tuomisto J., Møller H., Cordier S., Jensen T. K. and Rajpert-De Meyts E. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. *Int J Androl.* 2006; 29(1); 228-234.
- Higuchi T.T., Palmer J.S., Gray L.E. Jr. and Veeranachaneni D.N. Effects of dibutyl phthalate in male rabbits following in utero, adolescent, or postpubertal exposure. *Toxicol Sci.* 2003; 72, 301-313.

- Hotchkiss A.K., Parks-Saldutti L.G., Ostby J.S., Lambright C., Furr J., Vandenberg J.G. and Gray L.E. Jr. A mixture of the ‘anti-androgens’ linuron and butyl benzyl phthalate alters sexual differentiation of the male rat in a cumulative fashion. *Biol Reprod.* 2004; 71, 1852–1861.
- Hsieh M.H., Breyer B.N., Eisenberg M.L. and Baskin L.S. Associations among hypospadias, cryptorchidism, anogenital distance, and endocrine disruption. *Curr Urol Rep.* 2008; 9, 137–142.
- Hsieh M.H., Eisenberg M.L., Hittelman A.B., Wilson J.M., Tasian G.E. and Baskin L.S. Caucasian male infants and boys with hypospadias exhibit reduced anogenital distance. *Hum Reprod.* 2012; 27, 1577–1580.
- Hua X.G., Hu R., Hu C.Y., Li F.L., Jiang W. and Zhang X. J. Associations between hypospadias, cryptorchidism and anogenital distance: systematic review and meta-analysis. *Andrologia.* 2018; 50(10): e13152.
- Jain V.G. and Singal A.K. Shorter anogenital distance correlates with undescended testis: a detailed genital anthropometric analysis in human newborns. *Hum Reprod.* 2013; 28, 2343–2349.
- Kurzrock E.A., Jegatheesan P., Cunha G.R. and Baskin L.S. Urethral development in the fetal rabbit and induction of hypospadias: a model for human development. *J Urol.* 2000; 164, 1786–1792.
- Martin O.V., Shialis T., Lester J.N., Scrimshaw M.D., Boobis A.R. and Voulvoulis N. Testicular dysgenesis syndrome and the estrogen

- hypothesis: a quantitative meta-analysis. *Environ Health Perspect.* 2008; 116:149–57.
- Mendiola J., Stahlhut R.W., Jørgensen N., Liu F. and Swan S.H. Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. *Environ Health Perspect.* 2011; 119, 958–963.
 - Mendiola J., Melgarejo M., Moñino-García M., Cutillas-Tollin A., Noguera- Velasco J.A. and Torres-Cantero A.M. Is anogenital distance associated with semen quality in male partners of subfertile couples? *Andrology.* 2015; 3, 672–676.
 - Mendiola J., Oñate Celdrán J., Samper Mateo P., Areñse Gonzalo J.J., Torres Roca M., Sánchez Rodríguez C., García Escudero D., Fontana Compiano L.O., Eisenberg M.L., Swan S.H. and Torres Cantero A.M. Comparability and reproducibility of adult male anogenital distances measurements for two different methods. *Andrology.* 2016; 4:626-631.
 - Moreno-Mendoza D., Casamonti E., Riera-Escamilla A., Pietroforte S., Corona G., Ruiz-Castañe E. and Krausz C. Short anogenital distance is associated with testicular germ cell tumour development. *Andrology.* 2020 Nov; 8(6):1770-1778.
 - Nasser H., Hanna M.D., Lawrence H. and Einhorn M. D. Testicular Cancer- Discoveries and Updates. *N Engl J Med.* 2014; 371: 2005-16.
 - Nava-Castro K. E., Ramírez-Nieto R., Méndez-García L. A., Girón-Pérez M. I., Segovia-Mendoza M., Navidad-Murrieta M. S. and Montor J. M. Environmental pollution as a risk factor in testicular tumour

- development: Focus on the interaction between bisphenol A and the associated immune response. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2019; 16, 4113.
- Rajpert-De Meyts E., McGlynn K.A., Okamoto K., Jewett M.A.S. and Bokemeyer C. Testicular germ cell tumours. *Lancet*. 2016; 387:1762-74.
 - Salazar-Martínez E., Romano-Riquer P., Yanez-Marquez E., Longnecker M.P. and Hernández-Ávila M. Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, crosssectional study. *Environ Health*. 2004; 3, 8.
 - Sathyanarayana S., Beard L., Zhou C. and Grady R. Measurement and correlates of ano-genital distance in healthy, newborn infants. *Int J Androl*. 2010; 33, 317–323.
 - Sharpe, R.M. and Skakkebaek, N.E. Testicular dysgenesis syndrome: mechanistic insights and potential new downstream effects. *Fertil. Steril* 2008; 89: e33–e38.
 - Skakkebak N. E., Rajpert-De Meyts E., Main K. M., Vom Saal F., Skakkeboek N., Joffe M., Sharpe R., Swan S., Guillette L. and Iwamoto T. Testicular dysgenesis syndrome: An increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001; 16:972-978.
 - Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Buck Louis G.M., Toppari J., Andersson A.M., Eisenberg M.L., Jensen T.K., Jørgensen N., Swan

- S.H., Sapra K.J., Ziebe S., Priskorn L. and Juul A. Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility. *Physiol Rev.* 2016; 96:55-97.
- Strohsnitter W.C., Noller K.L., Hoover R.N., Robboy S.J., Palmer J.R., Titus- Ernststoff L., Kaufman R.H., Adam E., Herbst A.L. and Hatch E.E. Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93:545–51.
 - Swan SH. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res.* 2008; 108, 177–184.
 - Thankamony A., Ong K.K., Dunger D.B., Acerini C.L. and Hughes I.A. Anogenital distance from birth to 2 years: a population study. *Environ Health Perspect.* 2009; 117, 1786–1790.
 - Thankamony A., Lek N., Carroll D., Williams M., Dunger D.B., Acerini C.L., Ong K.K. and Hughes I.A. Anogenital distance and penile length in infants with hypospadias or cryptorchidism: comparison with normative data. *Environ Health Perspect.* 2014; 122, 207–211.
 - Toppari J., Virtanen H.E., Main K.M. and Skakkebaek N. E. Cryptorchidism and hypospadias as a sign of testicular dysgenesis syndrome (TDS): environmental connection. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010; 88: 910-919.
 - Trabert B., Chen J., Devesa S.S., Bray F., and McGlynn K.A. International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall

and by histologic subtype, 1973-2007. *Andrology*. 2015 January; 3(1): 4–12

- Troisi R., Hyer M., Hatch E.E., Titus-Ernstoff L., Palmer J.R., Strohsnitter W.C., Herbst A.L., Adam E. and Hoover R.N. Medical conditions among adult offspring prenatally exposed to diethylstilbestrol. *Epidemiology*. 2013; 24:430–8.
- Welsh M., Saunders P.T., Fisker M., Scott H.M., Hutchison G.R., Smith L.B. and Sharpe R.M. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J Clin Invest*. 2008; 118, 1479– 1490.
- Welsh M., MacLeod D.J., Walker M., Smith L.B. and Sharpe R.M. Critical androgen-sensitive periods of rat penis and clitoris development. *Int J Androl*. 2010; 33: e144–152.
- Wohlfahrt- Veje C., Main KM. and Shakkebaek NE. Testicular dysgenesis syndrome: foetal origin of adult reproductive problems. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009; 71: 459-465.

7. CAPÍTULO 2: Relación entre la razón digital 2D:4D y los tumores testiculares.

7.1. Introducción:

La razón entre la longitud del segundo y cuarto dedo (razón 2D:4D) fue establecida en 2018 como un fenotipo de dimorfismo sexual y ha sido propuesta en diferentes estudios como un biomarcador de la exposición prenatal a hormonas sexuales (testosterona y estrógenos) (Bunevicius, 2018). En vertebrados, durante el periodo embriológico, la diferenciación del sistema urogenital y del esqueleto de las extremidades se encuentra controlado por los genes Hox. El conocimiento de este sistema de control común en el desarrollo de las gónadas y los dedos da soporte a la hipótesis que relaciona los patrones de crecimiento de los dedos con el sistema reproductivo (Manning et al. 1998, 2004). Las hormonas sexuales modulan el crecimiento digital durante una estrecha ventana de desarrollo entorno a la 14 semana de gestación vía estrogénica y androgénica cuyos receptores se expresan en los cartílagos en crecimiento (Garn et al. 1975; Zheng et al. 2011). La razón 2D: 4D se establece durante el periodo intrauterino y se ve afectada mínimamente durante el crecimiento hasta la vida adulta (McIntyre et al. 2005), puesto que no se relaciona con los niveles hormonales en esta fase (Muller et al. 2011). Una menor razón 2D: 4D se asocia con una mayor exposición a testosterona y menor a estrógenos, relacionándose con el sexo masculino (Hönekopp et al.

2010). Manning y colaboradores mostraron una asociación entre valores menores de la razón 2D: 4D y una mayor cantidad de espermatozoides y mayor concentración de testosterona en varones. En otros estudios realizados se correlacionaron mayores niveles de la razón 2D:4D con una mayor concentración de hormona luteinizante (LH), estrógenos y prolactina en ambos sexos (Manning et al. 1998, 2004).

Estudios experimentales y de base clínica han mostrado evidencias sobre el influyente papel de las hormonas reproductivas en la oncogénesis y progresión de entidades como el cáncer de mama, de próstata y el carcinoma testicular (Madhunapantula et al. 2010; Folkerd et al. 2010). En esta línea, diversas investigaciones en el campo de la oncología se focalizan en la etapa prenatal y en los eventos acaecidos durante la misma. En este mismo periodo ha sido objetivado cómo el ambiente en el que se produce el desarrollo, incluyendo la exposición a hormonas y disruptores endocrinos, podrían determinar un mayor riesgo de presentar cáncer a lo largo de la vida del individuo (Grotmol et al. 2006, Shankar et al. 2006). La razón 2D:4D también ha sido relacionada con alteraciones funcionales, de comportamiento y somáticas, siendo esta asociación de gran importancia en la práctica clínica debido a la accesibilidad a dicha medida y su fácil ejecución (Manning et al. 2000; Hönekopp et al. 2012).

En la actualidad sólo dos estudios han analizado previamente la relación entre la razón 2D:4D y el carcinoma testicular en varones adultos. Auger y

colaboradores no encontraron diferencias significativas en la razón 2D:4D entre varones con carcinoma testicular y hombres fértiles y sanos (Auger et al. 2010). De igual modo, el grupo americano de Trabert tampoco observó dicha relación (Trabert et al. 2013). Nuestro objetivo es analizar la relación entre la razón 2D:4D y el carcinoma testicular y sus diferentes variantes en nuestra área, el Servicio de Urología del Hospital universitario Reina Sofía en Murcia, España.

7.2. Material y Método.

7.2.1. Diseño del estudio y población:

Se diseñó un estudio de casos y controles no apareados, llevándose a cabo entre mayo de 2013 y septiembre de 2019 en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Reina Sofía en Murcia. Fueron reclutados 42 casos diagnosticados y tratados de carcinoma testicular en el mismo centro. En el grupo control (n=54) se incluyeron varones adultos que no presentaran cualquiera de las entidades del SDT y que fueron atendidos en el mismo departamento por otras causas urológicas. Ninguno de los participantes recibió compensación económica alguna, firmando todos ellos el consentimiento informado correspondiente para la participación en el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité ético de dicho hospital (Ref. No. 776/2013).

7.2.2. Examen físico y medida de la razón 2D:4D.

Se realizó una exploración física y urológica a todos los participantes, en ella se evaluó la presencia de alteraciones genitales como varicocele, hidrocele o quistes de epidídimo. Los individuos fueron pesados y tallados calculándose posteriormente el índice de masa corporal (IMC) (peso en kilogramos dividido entre el cuadrado de la altura en metros).

Cada examinador, desconociendo la condición de caso o control, realizó las medidas del segundo y cuarto dedo de la mano derecha en dos ocasiones cada vez. Para las medidas se utilizó un pie de rey digital (Stainless Steel Digital Calliper, VWR® International, LLC, West Chester, PA, USA). Participaron un total de cuatro examinadores, todos facultativos dentro del mismo servicio. La metodología utilizada fue la medida directa de la longitud digital estableciendo los límites según marcas anatómicas preestablecidas (Auger et al. 2011). El sujeto situaba los dedos estirados sobre una superficie plana, flexionando la palma de la mano sobre uno de los márgenes de la superficie a fin de establecer un ángulo entre 90 y 100 ° entre los dedos y la palma (Figura 1). Mediante este método se incluye la longitud completa de la falange proximal y se ven representados los tejidos blandos del margen distal. La media resultante de ambas medidas fue utilizada en los análisis estadísticos posteriores.

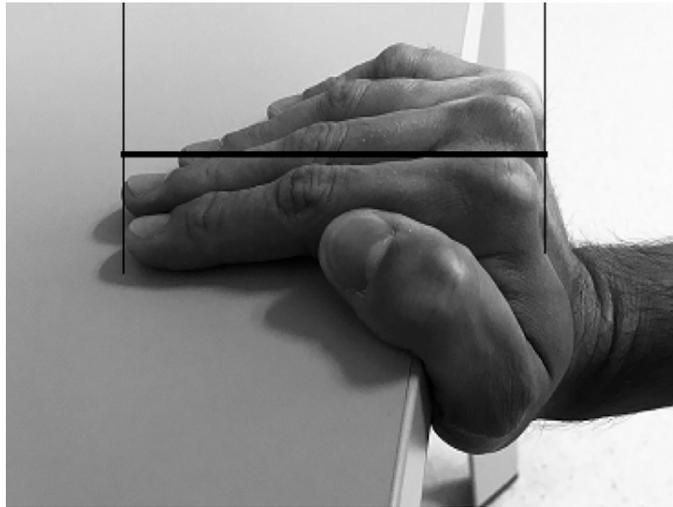


Figura 1. Disposición de la mano para la realización de la medida de la longitud del segundo y cuarto dedos.

7.2.3. Análisis estadístico

En el análisis descriptivo se emplearon datos crudos reflejados con medias, desviación estándar (DE), medianas y percentiles 5-95, o porcentajes (%). Comparamos las variables continuas utilizando la prueba T de Student o de U de Mann-Whitney y las variables categóricas mediante la prueba de Ji-cuadrado.

Se realizó una regresión logística múltiple para evaluar la asociación entre la presencia de carcinoma testicular y sus tipos histológicos (variable dicotómica) y la razón 2D:4D categorizada previamente en tertiles y estableciendo como referencia el tercer tercil. El valor de Odds Ratio (OR) bruto y ajustado, según IMC y edad, fue calculado con un intervalo de confianza (IC) del 95%. Todas las pruebas estadísticas fueron de dos colas con un nivel de significación de 0,05. Para el análisis se utilizó el programa estadístico IBM SPSS 25.0 (IBM Corporation,

Armonk, New York, U.S.A.).

7.3. Resultados

7.3.1. Hallazgos clínicos

Para el total de la muestra los casos fueron significativamente mayores que los controles. No se hallaron otras diferencias respecto a las características generales de la población (Tabla 1). Basándonos en la histología tumoral el grupo de casos fue subdividido entre seminomas (42,9%) y no- seminoma (57,1%) incluyendo en esta categoría aquellos casos tumores testiculares derivados de GCNIS no seminoma y tumores testiculares no derivados de GCNIS. Entre los casos no se registró ningún antecedente de hipospadias o criptorquidia.

7.3.2. Comparación de la razón 2D:4D entre casos y controles

La media de la razón 2D:4D fue similar para ambos grupos, no hallándose diferencias estadísticamente significativas entre casos de carcinoma testicular y los controles, tanto en modelos brutos como ajustados por edad e IMC. En la Tabla 2 se muestran los valores de OR con un IC del 95% y el valor p de tendencia para la asociación entre la razón 2D:4D dividido en tertiles, adoptando como referencia el tercer tercil, y los pacientes según su situación de caso o control. No se observó una asociación significativa entre la razón 2D: 4D y la presencia de tumor

testicular. La subdivisión según la histología del tumor tampoco reveló asociaciones significativas con respecto a la medida de la razón 2D:4D (Tabla 3).

Tabla 1. Comparación de las características general entre casos de tumor testicular y controles.

Características	Controles (n=54)				Casos (n=42)				P-valor ^a
	Media	DE	Mediana	P ₅ -P ₉₅	Media	DE	Mediana	P ₅ -P ₉₅	
Edad (años)	41,7	9,4	46,0	19,9-50,0	32,2	6,9	32,0	20,1-44,0	<0,001
Índice de masa corporal (IMC) (kg/m ²)	27,9	4,75	27,2	20,6-38,3	27,1	3,5	27,0	21,6-32,7	0,36
Longitud del segundo dedo (2D) (mm)	106,5	5,8	106,3	96,7-116,3	107,7	6,6	106,8	97,9-122,1	0,28
Longitud del cuarto dedo (4D) (mm)	110,9	6,6	110,0	99,0-122,3	112,3	7,9	110,8	101,8-127,5	0,55
Razón 2D/4D	0,96	0,02	0,96	0,91-1,0	0,96	0,02	0,96	0,9-1,0	0,72

^aT-student/test de Mann–Whitney o Ji-cuadrado.
DE: desviación estándar; P₅-P₉₅: percentiles 5-95.

Tabla 2. Odds ratio (OR) e IC95% para casos de tumor testicular frente a controles comparando la razón 2D:4D dividida en tertiles, tomando el tercer tercil como referencia.

Razón 2D/4D Casos		Razón 2D/4D Controles		Odds Ratio ^a (IC 95%)	P-tendencia	Odds Ratio ^b (IC 95%)	P-tendencia
n	Mediana (para cada tercil)	n	Mediana (para cada tercil)				
13	3° (0,99)	20	3° (0,98)	1,0 (referencia)		1,0 (referencia)	
14	2° (0,96)	18	2° (0,96)	1,5 (0,6-4,2)		0,9 (0,3-2,7)	
15	1° (0,94)	15	1° (0,94)	1,2 (0,4-3,2)	0,7	1,0 (0,4-3,2)	0,9

^aOR no ajustada.

^bOR ajustada por IMC y edad.

Tabla 3. Odds ratio (OR) e IC 95% para casos de tumor testicular clasificados según su histología comparando la razón 2D:4D dividida en tertiles, tomando con referencia el tercer tercil.

Razón 2D:4D Casos		Razón 2D:4D controles		Odds Ratio ^a (IC 95%)	P-tendencia	Odds Ratio ^b (IC 95%)	P-tendencia
n	Mediana (para cada tercil)	n	Mediana (para cada tercil)				
<i>Seminoma</i>							
5	3° (0,99)	20	3° (0,98)	1,00 (referencia)		1,00 (referencia)	
6	2° (0,96)	18	2° (0,96)	0,71 (0,16-3,23)		0,37 (0,06-2,18)	
7	1° (0,94)	15	1° (0,94)	0,83 (0,18-3,89)	0,9	0,59 (0,11-3,77)	0,55
<i>No seminoma</i>							
8	3° (0,99)	20	3° (0,98)	1,00 (referencia)		1,00 (referencia)	
8	2° (0,96)	18	2° (0,96)	1,3 (0,4-4,4)		0,6 (0,1-2,5)	
8	1° (0,94)	15	1° (0,94)	1,1 (0,3-3,6)	0,9	0,8 (0,2-3,1)	0,8

^aOR no ajustada.

^bOR ajustada por IMC y edad.

7.4. **Discusión**

Nuestra hipótesis acerca de la relación entre la razón 2D:4D y el tumor testicular se fundamenta en el conocimiento de un sistema de control común mediado por los genes Hox en el desarrollo del sistema urogenital y del esqueleto apendicular en vertebrados durante el desarrollo fetal. Igualmente, también se basa en los datos obtenidos en diferentes estudios que relacionan tanto la razón 2D:4D (Brown et al 2002; Bailey et al. 2005), como el tumor testicular (Welsh et al. 2010) con el ambiente hormonal (estrogénico y androgénico) durante el mismo periodo. En base a ello, esperábamos hallar un cociente 2D:4D mayor en los pacientes con tumor testicular. Sin embargo, en nuestro estudio no hemos podido establecer asociación alguna entre la razón 2D:4D y el tumor testicular. Nuestros resultados confirman los obtenidos previamente por otros grupos en Francia y América donde tampoco pudieron establecer dicha asociación (Auger et al. 2011; Trabert et al. 2013).

En la literatura disponible existe una notable controversia en referencia a la razón 2D:4D y la salud reproductiva masculina. Además, la mayoría de los estudios no son comparables puesto que las medidas fueron tomadas mediante diferentes métodos (Bunevicius et al., 2018). El método de medida directa empleado en nuestro estudio fue descrito y validado por el grupo de Auger (Auger et al., 2011). Fue elegido por resultar sencillo en el aprendizaje y ejecución, y

fácilmente reproducible en la práctica clínica. Este sistema de medida comprende la longitud completa de la falange proximal y representa los tejidos blandos del extremo distal. Para establecer las marcas anatómicas que definen la toma de medidas los examinadores fueron previamente entrenados no presentando mayor dificultad. Esto se denota en la calidad de las mediciones de los cocientes 2D:4D obteniéndose unos coeficientes de variación intra- e inter-observador menores del 5% y 15%, respectivamente.

Aproximadamente el 90% de los cánceres testiculares se generan como resultado del desarrollo de un proceso de génesis tumoral ocurrido durante el periodo fetal y que da lugar a una lesión conocida como neoplasia in situ de células germinales (GCNIS). La aparición de dicha lesión dependerá de una predisposición genética junto con el ambiente hormonal reinante durante el periodo embriológico. Según la susceptibilidad individual la GCNIS podrá desarrollar su máximo potencial invasivo durante la pubertad bajo el influjo hormonal que condiciona este periodo (Nasser et al., 2014). Diferentes estudios han mostrado cómo durante el periodo embriológico un ambiente estrogénico junto con bajos niveles de andrógenos alteran el desarrollo normal de los órganos reproductivos masculinos, y aumentan consecuentemente el riesgo de tumor testicular durante la vida adulta (Grotmol et al. 2006, Shankar et al. 2006). Como es sabido la razón 2D:4D supone un biomarcador de la exposición a hormonas sexuales durante la etapa intrauterina. Una menor razón 2D:4D se ha asociado con un ambiente pobre en estrógenos y con altos niveles de testosterona. Según las

teorías actuales acerca de la influencia del ambiente hormonal durante el periodo embriológico, aquellos individuos con tumor testicular deberían presentar una razón 2D:4D mayor que los hombres sanos. Sin embargo, con nuestro estudio no hemos sido capaces de confirmar dicha hipótesis. Aunque el tumor testicular, la longitud digital y el ambiente estrogénico/androgénico se encuentren conectados, otros agentes podrían estar involucrados en la fisiopatología de este tipo de tumores de forma que esta relación no ha podido ser corroborada en nuestro caso.

7.5. Conclusiones

El hallazgo de valores comparables en la razón 2D:4D entre pacientes con tumor testicular y hombres sanos no permite contrastar la existencia de un origen común en el ambiente hormonal durante el periodo fetal. Estudios de mayor envergadura y con mayor número de sujetos deberían realizarse en el futuro a fin de analizar otros posibles factores que desarrollen algún papel importante en el proceso oncogénico y que aún son desconocidos para la comunidad científica.

7.6. Referencias bibliográficas:

- Acerini C.L. and Hughes I. A. Endocrine disrupting chemicals: a new and emerging public health problem? Arch Dis Child. 2006; 91: 633-641.

- Auger J. and Eustachet F. Second to fourth digit ratios, male genital development and reproductive health: a clinical study among fertile men and testis cancer patients. *Int J Androl.* 2011; 34: e49– e58.
- Bunevicius A. The Association of Digit Ratio (2D: 4D) with Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Disease Markers.* 2018. Vol. 2018: 1-9.
- Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J.P., Giudice L.C., Hauser R., Prins G.S., Soto A.M., Zoeller R.T. and Gore A.C. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr. Rev.* 2009; 30: 293-342.
- Folkerd E.J. and Dowsett M. Influence of sex hormones on cancer progression. *J Clin. Oncol.* 2010; 28 (26): 4038–4044.
- Fukawa T. and Kanayama H. O. Current knowledge of risk factors for testicular germ cell tumors. *Int.J. Urol.* 2018; 25(4): 337-344.
- Garn S.M., Burdi A.R., Babler W.J. and Stinson S. Early prenatal attainment of adult metacarpal-phalangeal rankings and proportions. *Am J Phys Anthropol.* 1975 Nov; 43(3):327-32.
- Grotmol T., Weiderpass E., and Tretli S. Conditions in utero and cancer risk. *Eur. J. Epidemiol.* 2006; 21(8): 561–570.
- Hönekopp J. and Watson S. Meta-analysis of digit ratio 2D: 4D shows greater sex difference in the right hand. *Am. J. Hum. Biol.* 2010; 22(5): 619– 630.

- Hönekopp J. Digit ratio 2D: 4D in relation to autism spectrum disorders, empathizing, and systemizing: a quantitative review. *Autism Res.* 2012; 5 (4): 221–230.
- Madhunapantula S.V., Mosca P., and Robertson G.P. Steroid hormones drive cancer development. *Cancer Biol. Ther.* 2010; 10 (8): 765-766.
- Manning, J. T., Scutt, D., Wilson, J. and Lewis-Jones, D. I. The ratio of 2nd to 4th digit length: A predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. *Hum. Reprod.* 1998; 13(11): 3000-3004.
- Manning J.T. and Bundred P. E. The ratio of 2nd to 4th digit length: a new predictor of disease predisposition. *Med. Hypotheses* 2000; 54 (5): 855–857.
- Manning J.T., Stewart A., Bundred P.E. and Trivers R.L. Sex and ethnic differences in 2nd to 4th digit ratio of children. *Early Hum Dev.* 2004 Nov; 80(2):161-8
- McIntyre M.H., Ellison P.T., Lieberman D.E., Demerath E. and Towne B. The development of sex differences in digital formula from infancy in the Fels Longitudinal Study. *Proc Biol Sci.* 2005; 272:1473–1479.
- Muller D.C., Giles G.G., Bassett J., Morris H.A., Manning J.T., Hopper J.L., English D.R. and Severi G. Second to fourth digit ratio (2D:4D) and concentrations of circulating sex hormones in adulthood. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011; 9:57.

- Shankar S., Davies S., Giller R., Krailo M., Davis M., Gardner K., Cai H., Robison L. and Shu XO. In utero to exposure to female hormones and germ cell tumors in children. *Cancer*. 2006;106 (5): 1169-1177.
- Sharpe R.M. and Skakkebaek N.E. Testicular dysgenesis syndrome: mechanistic insights and potential new downstream effects. *Fertil. Steril*. 2008 Feb; Vol. 89, Supplement 1.
- Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E. and Main K.M. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common development disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001; 16, 972–978.
- Toppari J., Virtanen H.E., Main K.M. and Skakkebaek N. E. Cryptorchidism and hypospadias as a sign of testicular dysgenesis syndrome (TDS): environmental connection. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010. 88: 910-919.
- Trabert B., Graubard B.I., Erickson R.L., Zhang Y., and McGlynn K.A. Second to fourth digit ratio, handedness and testicular germ cell tumors. *Early Hum. Dev*. 2013; 89 (7): 463–466.
- Welsh M., MacLeod D.J., Walker M., Smith L.B. and Sharpe R.M. Critical androgen-sensitive periods of rat penis and clitoris development. *Int J Androl*. 2010; 33: e144–152.
- Wohlfahrt- Veje C., Main K.M. and Skakkebaek N. E. Testicular dysgenesis syndrome: foetal origin of adult reproductive problems. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009; 71: 459-465.

- Zheng Z. and Cohn M.J. Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Sep; 27;108(39):16289-94.
- Znaor A., Lorter- Tieulent J., Jemal A. and Bray F. International Variations and Trends in Testicular Cancer Incidence and Mortality. Eur. Urol. 2014; 65: 1095-1106.

8. CONCLUSIONES FINALES.

1. La distancia anogenital y la razón 2D:4D son biomarcadores prenatales de la exposición a andrógenos accesibles y fáciles de valorar durante una exploración urogenital rutinaria con un alto grado de reproducibilidad.
2. Los varones con antecedentes de tumor testicular presentaron unos valores de distancia anogenital y razón 2D:4D comparables a los hombres sanos.
3. Una distancia anogenital acortada no se asoció con un mayor riesgo de presencia de tumoración testicular.
4. Una razón 2D:4D aumentada no se asoció con un mayor riesgo de presencia de tumoración testicular.
5. La relación de la distancia anogenital y la razón 2D:4D con el ambiente hormonal durante la etapa fetal ha quedado demostrada por numerosos estudios, al igual que el origen embriológico de los tumores testiculares, si bien serán necesarios más estudios para esclarecer la relación y los mecanismos fisiopatológicos que los conectan.

