

**T. C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TESTİSİN GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİNDE Ki-67,  
PLAP, C-kit, MMP-1 EKSPRESYONLARININ DİAGNOSTİK  
VE PROGNOSTİK DEĞERİ**

**Dr. Sema KIZILGEDİK DOĞDAŞ  
UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS  
2007**

**T. C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TESTİSİN GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİNDE Ki-67,  
PLAP, C-kit, MMP-1 EKSPRESYONLARININ DİAGNOSTİK  
VE PROGNOSTİK DEĞERİ**

**Dr. Sema KIZILGEDİK DOĞDAŞ  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ  
Prof. Dr. Ö.FAHRETTİN GÖZE**

**SİVAS  
2007**

**Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2002 / 1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen "Tez Yazım Kılavuzu'na" göre hazırlanmıştır.**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLolar.....	viii
ŞEKİLLER VE RESİMLER.....	ix
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. EMBRİYOLOJİ.....	3
2.2. ANATOMİ.....	5
2.2.1. Arterler.....	6
2.2.2. Venler.....	7
2.2.3. Lenfatikler.....	7
2.2.4. Sinirler.....	7
2.3. HİSTOLOJİ.....	8
2.3.1. Kan-Testis Bariyeri.....	13
2.4. TESTİSİN GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİNİN İNSİDANSI.....	13
2.5. ETYOLOJİ ve EPİDEMİYOLOJİ.....	13
2.6. HİSTOGENEZ.....	15
2.7. SINIFLAMA.....	17
2.8. EVRELEME.....	19
2.9. GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER	
2.9.1. PREKÜRSÖR LEZYONLAR .....	21
2.9.1.1. İntratubuler Germ Hücreli Neoplazi, Sınıflandırılmayan tip (IGCNU).....	22
2.9.2. SEMİNOM .....	23
2.9.2.1. Seminomun varyantları.....	24
2.9.3. SPERMATOSİTİK SEMİNOM.....	25
2.9.3.1. Sarkomlu Spermatoitik Seminom.....	26
2.9.4. EMBRİYONAL KARSİNOM.....	27

2.9.5. YOLK KESESİ TÜMÖRÜ.....	28
2.9.6.TROFOBLASTİK TÜMÖRLER:	
2.9.6.1. KORYOKARSİNOM .....	29
2.9.6.2.KORYOKARSİNOM DIŞI TROFOBLASTİK TÜMÖRLER.....	30
2.9.7.TERATOM .....	30
2.9.7.1. DERMOİD KİST.....	31
2.9.7.2. MONODERMAL TERATOMLAR.....	32
2.9.7.3. SOMATİK TİPTE MALİGNİTELİ TERATOM .....	32
2.9.8. MİKST GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER (MGHT).....	32
2.10. KLİNİK.....	33
2.11. PRİMİTİF GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİN REGRESYONU.....	33
2.12. YAYILIM, PROGNOZ ve TEDAVİ.....	34
2.13. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLER.....	35
GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
BULGULAR.....	46
TARTIŐMA.....	76
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	103
KAYNAKLAR.....	107

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince her türlü yardımları, uyarı ve yapıcı eleştirileri ile araştırmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde büyük emeği geçen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ö.Fahrettin GÖZE'ye, asistanlık eğitim boyunca bizlere emek veren ve yetişmemizi sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Reyhan EĞİLMEZ, Prof. Dr. Sema ARICI, Prof. Dr. Şahande ELAGÖZ, Doç. Dr. Esin YILDIZ'a, istatistiksel değerlendirmeleri yapan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice ÖZER ve Yrd.Doç. Dr. Ersin TUNCER'e, asistan arkadaşlarıma, teknisyen arkadaşlarıma, beni bu günlere getiren sevgili anne ve babama,sevgili kardeşlerime desteklerinden dolayı Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon Başkanlığı'na sonsuz teşekkür ederim.

Bu Proje Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı Tarafından T-278 Numaralı Tıpta Uzmanlık Projesi Olarak Desteklenmiştir.

**Testisin Germ Hücreli Tümörlerinde PLAP, C-kit, Ki-67, Matriks****Metalloproteinaz-1 (MMP-1) Ekspresyonlarının Tanısal ve Prognostik Değeri**

Testis tümörlerinin %90-95'ini germ hücreli tümörler oluşturur. Testiküler germ hücreli tümörler saf veya mikst şekillerde olabilir. Saf germ hücreli tümörler: a) Seminomatöz: seminom, spermatositik seminom; b) Nonseminomatöz: embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü, trofoblastik tümörler ve teratomdur. Mikst germ hücreli tümörler ise başlıca embriyonal karsinom-teratom, teratom-seminom, koryokarsinom ve diğerlerinin değişik kombinasyonlarıdır. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden 1983–2006 yılları arası germ hücreli testis tümörü tanısı almış 49 olguya ait H&E preparatlar, DSÖ sınıflamasının 2004 yılındaki kriterleri göz önüne alınarak yeniden değerlendirildi. Olgulara ait parafin kesitlere immünohistokimyasal olarak PLAP, C-kit, Ki-67 ve MMP-1 boyaları uygulandı. Saf ve mikst germ hücreli tümörler birlikte değerlendirildiğinde olguların 30'u seminom, 25'i embriyonal karsinom, 13'ü yolk kesesi tümörü, 14'ü teratom, 2'si ise spermatositik seminom idi. Çalışmanın istatistiksel analizi intratübüler germ hücreli neoplazi (IGCNU)'yi de içeren tümörlerin farklı histolojik tipleri arasında yapıldı. PLAP ve C-kit ekspresyonu yönünden kuvvetli ve orta yaygınlıkta membranöz boyanan seminom ve nonseminomatöz tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Ki-67 proliferasyon indeksi, en yüksek spermatositik seminom ( $0.63\pm 0.01$ ) ve embriyonal karsinomda ( $0.50\pm 0.12$ ) saptandı. Bu iki tümör ile proliferasyon indeksi düşük olan diğer histolojik tipler, seminom, yolk kesesi tümörü ve teratom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak, PLAP ve c-kit ile kuvvetli ve orta membranöz boyanmanın, seminom ile seminom-dışı tümörlerin ayırıcı tanısında güvenilir belirteç olduğu kanısına varıldı. PLAP, IGCN tanısını C-kit'ten daha yüksek oranda destekledi. Ki-67 ile boyanma sonuçlarına göre, spermatositik seminom ve embriyonal karsinom yüksek proliferasyon indeksi gösteren germ hücreli testis tümörleridir. Primer tümör evresi arttıkça Ki-67 indeksinin artması, bu belirleyicinin prognostik açıdan da önemli olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Testis, germ hücreli tümörler, PLAP, C-kit, Ki-67, MMP-1, pT.

**Diagnostic and Prognostic Values of C-kit, Ki-67, Matriks Metalloproteinase-1 (MMP-1) Expressions in Germ Cell Tumors of the Testis**

Germ cell tumors constitute 90-95% of all the testis tumors. Testicular germ cell tumors may be either in pure or in mixed form. Pure germ cell tumors are divided into two groups a) Seminomatous: seminoma and spermatocytic seminoma, b) Non-seminomatous: embryonal carcinoma, yolk sac tumor, trophoblastic tumor and teratoma. Mixed germ cell tumors includes mainly embryonal carcinoma-teratoma, teratoma-seminoma, choriocarcinoma and different combinations of the others. H&E stained slides of 49 cases found in the archive of Cumhuriyet University Faculty of Medicine Pathology Department which were diagnosed as germ cell tumor were reexamined according to the criterias of WHO put forward in 2004. Slides obtained from paraffine blocks were stained with PLAP, C-kit, Ki-67 and MMP-1 immunohistochemically. When pure and mixed germ cell tumors were reexamined distribution of the tumors were found as 30 cases of seminoma, 25 cases of embryonal carcinoma, 13 cases of yolk sac tumor, 14 cases of teratoma and two cases of spermatocytic seminoma. Statistical analysis of the study was done among the tumors with different histopathological types which also includes intratubular germ cell neoplasia. In respect of PLAP and C-kit expression there is a significant difference between seminoma and non-seminomatous tumors which have strong and intermediate membranous staining property ( $p < 0.05$ ). The highest Ki-67 proliferation index was determined in spermatocytic seminoma ( $0.63 \pm 0.01$ ) and embryonal carcinoma ( $0.50 \pm 0.12$ ). The difference between these two tumors and the others having low proliferation indexes such as seminoma, yolk-sac tumor, and teratoma was also significant ( $p < 0.05$ ). As a result, strong and intermediate membranous staining with PLAP and C-kit is a confidential marker in differential diagnosis between seminoma and non-seminomatous tumors. PLAP supported the diagnosis of IGCN more than C-kit. When we considered the Ki-67 staining property, spermatocytic seminoma and embryonal carcinoma had higher proliferation indexes than the other germ cell tumors. Increase in Ki-67 index with increase in primary tumor stage showed that those markers are important in prognostic aspect.

**Key words:** Testis, germ cell tumors, PLAP, C-kit, Ki-67, MMP-1, pT



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>AFP:</b>	Alpha fetoprotein
<b>AgNOR:</b>	Gümüş nükleolar organiser region
<b>AJCC:</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>ATP:</b>	Adenosine three phosphatase
<b>ACTH:</b>	Adrenocorticotrophic hormon
<b>CEA:</b>	Carcinoembryonic antigen
<b>DNA:</b>	Deoksiribonükleik asid
<b>DSÖ:</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>ECM:</b>	Ekstraselüler matriks
<b>EGF:</b>	Epiteliyal growth faktör
<b>FGF:</b>	Fibroblast growth faktör
<b>FSH:</b>	Folikül stimülatif hormon
<b>GCAP:</b>	Germ cell alkaline phosphatase
<b>GM-CSF:</b>	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
<b>GIST:</b>	Gastrointestinal Stromal Tümör
<b>HCG:</b>	Human chorionic gonadotrophine
<b>H&amp;E:</b>	Hematoksilen-Eozin
<b>IAP:</b>	Intestinal alkaline phosphatase
<b>IGCNU:</b>	İnatratubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmayan tip
<b>IGF:</b>	İnsülin growth factor
<b>IL:</b>	İnterlökin
<b>İHK:</b>	İmmünohistokimya
<b>LDH:</b>	Laktat dehidrogenaz
<b>MGHT:</b>	Mikst germ hücreli tümör
<b>MIS:</b>	Müllerian Inhibiting Substance
<b>MMP:</b>	Matriks metalloproteinaz
<b>MSH:</b>	Melanocyt stimulating hormon
<b>OCT3/4 (POU5F1):</b>	Octamer-binding transkripsiyon factor
<b>PAS:</b>	Periodic acid schiff
<b>PBS:</b>	Phosphate buffer saline
<b>PDGF:</b>	Platelet derived growth factor
<b>PLAP:</b>	Plasental alkaline phosphatase

<b>SCF:</b>	Stem cell factor
<b>TGHT:</b>	Testiküler germ hücreli tümör
<b>TIMP:</b>	Metalloproteinaz doku inhibitörü
<b>TNAP:</b>	Tissue nonspecific alkaline phosphatase
<b>TNF:</b>	Tumor necrosing factor
<b>UICC:</b>	Union International Centre Cancer

**TABLULAR**Sayfa

<b>Tablo-4.1.</b> Olgulara ait protokol, yaş, tümör tipi, IGCNU, pT (invazyon) özellikleri.....	46
<b>Tablo 4.2:</b> IGCNU ile PLAP ekspresyonu arasındaki ilişki.....	53
<b>Tablo 4.3.</b> IGCNU ile C-kit ekspresyonunun karşılaştırılması.....	55
<b>Tablo 4.4.</b> Tümör tipine göre PLAP ekspresyonu.....	57
<b>Tablo 4.5.</b> Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde PLAP ekspresyonu.....	60
<b>Tablo 4.6.</b> Tümör tipine göre C-kit ekspresyonü.....	62
<b>Tablo 4.7.</b> Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde C-kit ekspresyonu.....	66
<b>Tablo 4.8.</b> Tümör tipine göre Ki-67 indeksi.....	67
<b>Tablo 4.9.</b> Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde Ki 67 nükleer boyanma indeksi...70	
<b>Tablo 4.10.</b> Primer tümör (pT) evresine göre Ki 67 nükleer boyanma indeksi .....71	
<b>Tablo 4.11.</b> Tümörlerin histolojik tiplerine göre MMP-1 ekspresyonu.....	72
<b>Tablo 4.12.</b> Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde MMP-1 ekspresyonu .....75	
<b>Tablo-4.13.</b> Primer tümör evresine göre MMP-1 ekspresyonu.....	75

## ŞEKİLLER VE RESİMLER

### Sayfa

<b>Şekil-2.2.1.</b> İnsan testisinin ve dış genital kanallarının genel görünümü.....	6
<b>Şekil-2.2.2.</b> Testis ve epididimisin beslenmesini sağlayan damarların şematik resmi. .....	7
<b>Şekil-2.3.1.</b> Spermatogenezin basamakları.....	9
<b>Şekil 2.6.1.</b> Normal insan embriyosunun komponentlerinin şeması.....	16
<b>Şekil 2.6.2.</b> Germ hücreli tümörler arasındaki ontogenetik ilişkiyi gösteren şematik diyagram.....	16
<b>Şekil 4.1.</b> IGCNU-PLAP ekspresyonu arasındaki ilişki.....	53
<b>Şekil 4.2.</b> IGCNU-C-kit ekspresyonu arasındaki ilişki .....	55
<b>Şekil 4.3.</b> Tümör tipine göre PLAP ekspresyonu.....	58
<b>Şekil 4.4.</b> Tümör tipine göre C-kit ekspresyon.....	62
<b>Şekil 4.5.</b> Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde C-kit ekspresyonu.....	66
<b>Şekil 4.6.</b> Tümörlerde Ki-67 indeksi.....	67
<b>Şekil 4.7.</b> Primer tümör (pT) evresine göre Ki-67 indeksi.....	71
<b>Resim-4.1.</b> Testiste tümör komşuluğundaki spermatogenez olmayan seminifer tubullerin duvarında hiyalinizasyon ve kalınlaşma, lümeninde tek sıralı atipik malign germ hücrelerinden oluşan IGCNU (H&E; x25).....	49.
<b>Resim-4.2.</b> SEMİNOM: Lenfositlerle infiltrate ince alveolar fibröz çatı içerisinde alveoler boşluklarda uniform görünümde hücrelerden meydana gelen tümöral doku (H&E; x10).....	49.
<b>Resim-4.3.</b> EMBRİYONAL KARSİNOM: Veziküler nükleuslu belirgin nükleoluslu, sitoplazma sınırları seçilemeyen atipik hücrelerin bulunduğu glandüler, solid alanlar ve arada küçük nekroz odakları içeren tümör (H&E; x25).....	50
<b>Resim-4.4.</b> ENDODERMAL SİNÜS TÜMÖRÜ: Solid alanların yanı sıra mikrokistik boşluklardan meydana gelen tümör (H&E; x25).....	50
<b>Resim-4.5.</b> TERATOM: Fibröz stromada kıkırdak adacıkları arasında immatür glanlardan oluşan teratom (H&E;x25) .....	51

<b>Resim-4.6.</b> SPERMATOSİTİK SEMİNOM: Kohesiv olmayan polimorfik ve atipik natürde hücrelerin, ince fibröz stromada difüz dağılımı ile karakterli tümör (H&E; x25).....	51
<b>Resim 4.7.</b> PLAP ile difüz IGCNU içeren alanlarda difüz membranöz boyanma (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	54
<b>Resim 4.8.</b> C-kit ile difüz IGCNU içeren alanlarda membranöz (+++) boyanma (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	56
<b>Resim 4.9.</b> PLAP ile difüz membranöz boyanma gösteren seminom (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	58
<b>Resim 4.10.</b> PLAP ile difüz (+) sitoplazmik boyanma gösteren embriyonal karsinom (PLAP,avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	59
<b>Resim 4.11.</b> PLAP ile fokal (+) boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	59
<b>Resim 4.12.</b> C-kit ile (+++) membranöz boyanma gösteren seminom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	63
<b>Resim 4.13.</b> C-kit ile (+++) membranöz boyanma gösteren seminom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	63
<b>Resim 4.14.</b> C-kit ile (+) sitoplazmik boyanma gösteren embriyonal karsinom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	64
<b>Resim 4.15.</b> C-kit ile (+) sitoplazmik boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	64
<b>Resim 4.16.</b> C-kit ile (+) boyanma gösteren teratom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	65
<b>Resim 4.17.</b> Ki-67 indeksi % 33 olan seminom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	68
<b>Resim 4.18.</b> Ki-67 indeksi % 50 olan embriyonal karsinom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	68
<b>Resim 4.19.</b> . Ki-67 indeksi % 36 olan yolk kesesi tümörü (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	69
<b>Resim 4.20.</b> Ki-67 indeksi % 25 olan teratom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	69

<b>Resim 4.21.</b> Ki-67 indeksi % 63 olan spermatositik seminom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	70
<b>Resim 4.22.</b> MMP-1 ile (+) boyanma gösteren seminom (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	73
<b>Resim 4.23.</b> MMP-1 ile (+++) boyanma gösteren embriyonal karsinom (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	73
<b>Resim 4.24.</b> MMP-1 ile (+) boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	74



## GİRİŞ

Testisin germ hücreli tümörleri erkeklerdeki tüm kanserlerin yalnız %1 ini oluşturur. Fakat 15-35 yaşları arasında en sık görülen karsinomlardır. Testiküler germ hücreli tümörler tek tip hücreden meydana gelen saf ve birden fazla hücre tipinden meydana gelen mikst şekillerde olabilir. Saf germ hücreli tümörler seminom, embriyonal karsinom, yolk sak tümörü, trofoblastik tümörler ve teratomdur. Saf germ hücreli tümörler seminomatöz ve non-seminomatöz olarak kendi aralarında ayrılırlar. Mikst germ hücreli tümörler, embriyonal karsinom, teratom, seminom ve koryokarsinomun değişik kombinasyonlarından meydana gelir. Testisin germ hücreli tümörleri invazyon ve metastaz yapabilen tümörlerdir. Testiküler germ hücreli tümörlerin invazyon yapması için ekstrasellüler matriks ile etkileşmesi gerekir (1, 2, 3, 4, 5).

Hücrel alkalen fosfatazlardan olan ısıya dirençli PLAP, aynı zamanda metalloenzimlerin bir subtipidir. Fizyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmeyen bu moleküller, fosfat monoesterlerinin hidrolizinde ve plazma membran transportunda görev alır. Alkalen fosfatazların farklı lokalizasyon, yapı ve fonksiyonda 4 izoformu vardır. Bunlar plasental, intestinal germ hücreli, dokuya nonspesifik karaciğer, kemik ve böbrekte bulunur. Bu izoformlar farklı antikolar tarafından ortaya konur. PLAP testiküler kanserlerin tanı ve takibinde immünohistokimyasal bir belirteç (marker) olarak kullanılmaktadır (6, 7).

Ki67 indeksi bir proliferasyon belirleyicisidir. Non-histon nükleer bir antijen olup hücre siklusunun G1, S, G2, ve M fazında eksprese edilir. Germ hücreli tümörleri de içeren birçok tümörde proliferasyon aktivitesini araştırmada kullanılmaktadır (8) .

Matriks metalloproteaz (MMP)' ların tümü çok geniş bir spektrum gösterir. Normal ve malign hücrelerin çoğunda saptanırlar. MMP'lar ekstrasellüler matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu bir grup çinko bağımlı endopeptidlerden oluşur. MMP, tümör invazyonu, metastaz ve anjiogenezde artar. MMP-1, kollajenaz-1 olup çeşitli hücrelerde fibroblast, keratinosit, kondrosit, monosit ve makrofaj, hepatosit ve çeşitli tümör hücrelerinde eksprese edilir. MMP-1, testiste bazı peritubuler



hücrelerde, testiküler kord içinde ve kısmen Sertoli hücrelerinde dağınık olarak izlenmiştir (9,10).

C-kit protoonkogeni, bir tirozin kinaz reseptörü olup, PDGF ve SCF1 için reseptör ailesinin bir üyesidir. Kit için esas ligand, Stem Cell Factor (SCF)'dir. Anapoptotik proteinleri ve hücre proliferasyonuna bağlı proteinleri aktive eder. Normal dokuda SCF-KIT sistemi melanosit, eritrosit, mast hücresi, Cajal'ın interstisyel hücreleri ve germ hücrelerinin gelişiminde kritik rol oynar. Nitekim, C-kit geninde mutasyon, bu hücrelerden gelişen tümörlerde tanımlanmıştır. Testiküler germ hücreli tümörler arasında, KIT membranöz ekspresyonu, seminomlarda sıktır; fakat non-seminomatöz tümörlerde şimdiye kadar bildirilmemiştir ( 11,12).

Literatürde testiküler germ hücreli tümörlerde PLAP, C-kit, MMP-1 ve Ki67'nin birlikte yapıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çalışmada PLAP, MMP-1, C-kit ve Ki67 ile histolojik tiplere ve saf ve mikst germ hücreli tümör oluşuna göre ekspresyonlarının karşılaştırılması, seminomatöz ve non-seminomatöz komponentlerinin ayrımı, primer tümör evresine göre Ki-67 ve MMP-1'in ekspresyonlarının prognoza etkileri hedef seçilmiştir.

Sonuç olarak, seminom ile seminom-dışı tümörlerin ayırıcı tanısında PLAP ve C-kit ile kuvvetli ve orta membranöz boyanmanın, güvenilir bir belirteç olduğu kanısına varıldı. Embriyonal karsinom ve seminomda PLAP, diğer tümörlere göre daha yüksek oranda pozitif immunoreaktivite vermektedir. Ayrıca PLAP, IGCN tanısını, C-kit'ten daha yüksek oranda desteklemektedir. Ki-67 ile elde edilen sonuçlara göre, spermatositik seminom ve embriyonal karsinom yüksek proliferasyon indeksi gösteren germ hücreli testis tümörleridir. Primer tümör evresi (paratestiküler dokulara invazyon) arttıkça Ki-67 indeksinin artması, bu belirleyicinin prognostik açıdan önemli olabileceğini düşündürmektedir.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. EMBRİYOLOJİ

Erkekde dış genital sistem organları testisler, genital kanallar, yardımcı bezler olan vezikula seminalis, bulboüretal bez, prostat ve penisten oluşmuştur. Testisler, başlıca iki önemli görevi hormon ve spermatozoa üretmek olan, bir çift bileşik tubuler bezdir (13,14).

İnsanda cinsiyet farklılaşması kompleks bir olaydır. Fertilizasyonla oluşan XX ve XY seks kromozom kombinasyonları ile gonadların dişi ya da erkek yönde farklılaşması, bir süreç gerektirir. Gonadların ayırt edilemediği bu döneme 'indifferent safha' adı verilir (14).

Gonadlar; mezotelyum, bunun altında mezenkim ve primordiyal germ hücrelerinden oluşan üç germ yaprağından köken alırlar. Gonadlar farklılaşırken başlangıç evresinde çöломik epitel proliferasyon olur ve alttaki mezenkim çoğalır. Beşinci haftada oluşan bu proliferasyonla genital kabartı meydana gelir. Epitel hücreleri alttaki mezenşim içine girip, primitif cinsiyet kordonları oluştururlar. Genital kabarıklık içinde 6. haftaya kadar primordiyal germ hücreleri bulunmaz (15).

Primordiyal germ hücreleri 4. haftanın başında yolk kesesinin allontois'e yakın bölümünde, endoderm hücreleri arasında belirirler. Yuvarlak ve büyük çekirdek, belirgin bir veya birkaç çekirdekçik içerir. Sitoplazmalarında alkalin fosfataz aktivitesi yüksek olup, bol glikojen ve lipid damlası içerir. Sitoplazmasındaki yalancı ayak benzeri uzantılarla amöboid hareket yapma yetenekleri vardır (14). Amöboid hareketlerle 5. haftada son barsağın mezenterine göç edip, primitif gonadlara ulaşır; 6. haftada genital kabarıklıkları doldurur (14,15). Primordiyal germ hücrelerinin gonadların farklılaşmasında, indükleyici etkisi vardır (15).

Embriyo, Y kromozomuna sahipse testis gelişimi olur. Y kromozomunun kısa kolunda bulunan testis belirleyici faktörün etkisiyle primitif cinsiyet kordonları çoğalıp medullanın içine doğru ilerleyerek testis ve medullar kordonları oluşturur ve bezin hilusunda rete testis tubullerini oluşturan bir ağ şekline dönüşürler. Testiküler veya seminifer kordonlar birbiriyle sıkı ilişkide somatik ve germ hücreleri içerirler. Germ hücrelerinden spermatogonialar, somatik hücrelerden ise Sertoli hücreleri

gelişir. Daha sonraki gelişim evrelerinde, testis kordonlarının yüzey epiteli ile ilişkisi kesilir ve yoğun fibröz bir tabaka olan tunica albuginea oluşur (14,15).

Gelişmeye devam eden seminifer tubuluslar arasına mezenkim girmeye başlar. İnterstisyel Leydig hücreleri işte bu mezenkimden köken alır. Daha 8. haftada Leydig hücreleri testosteron salgılamaya başlar. Salınan bu hormonun etkisiyle genital kanallar farklılaşır. Pubertede seminifer tubullerin kanalları açılır; rete testis tubullerine katılır ve duktuli eferenteslere girerler. Orta parçadan gelişen duktus deferens, rete testis ve mezonefrik kanal arasında ilişki sağlar. Kanalların son parçası ductus ejaculatorius olarak farklılaşır (14,15). Leydig hücreleri, gebeliğin 4. ve 6. ayında belirginleşir, doğumda regrese olur ve pubertede yeniden görülmeye başlar (4).

Testislerden, başlıca androjen olan testosteron dışında Müllerian inhibe edici madde (Müllerian Inhibiting Substance) (MIS) de salgılanır. Sertoli hücrelerinden salınan MIS, paramezonefrik (Müller) kanalının gerilemesini sağlar (14,15).

Gebeliğin ikinci ayından sonra testisin karın arka duvarına bağlandığı mezenter dejenere olup “kaudal genital ligament” adını alır. Testisin kaudalindeki yoğun mezenşimal yapı “gubernaculum” olarak isimlendirilir (15). Testisler abdomende gelişimini sürdürürken, doğuma yakın inguinal kanala doğru inmeye başlar (14,15) Bu sırada gubernaculumun ekstraabdominal kısmı skrotum tabanına temas eder. Bu aşamada etkili olan hormonlar, fetal androjenler ve MIS'tir (15). İnguinal kanaldan geçerek skrotuma inen testisler “funiculus spermaticus” ile asılı tutulurlar. Skrotuma inen testislerin dış yüzü, peritonun oluşturduğu iki sıralı vajinal proses ile sarılır (14,15).

Testisin büyümesi ve gelişmesi üç major faza ayrılır:

**1- Statik faz:** Doğumdan başlayıp 4 yaşına kadar olan dönemdir. Doğumda seminifer tubuller küçük andiferansiye küboidal hücrelerle döşelidir. Leydig hücreleri doğumda maternal hormonların etkisiyle görülebilir.

**2- Büyüme fazı:** Bu faz 4-10 yaş arasını kapsar. Tubul boyutlarında yavaş ve dereceli bir artış, bu dönemde fark edilmeye başlar: Tubuller kıvrımlanır, lümen formasyonu kazanmaya başlar. Fakat Leydig hücreleri görülmez.

**3- Matürasyon fazı:** Büyüme fazından yani 10 yaşından sonra olan, idrarda gonadotropinlerin ve 17-ketosteroidlerin görüldüğü dönemdir. İnterstisyumda

tanımlanan Leydig hücre ve tubul hücrelerinde mitotik figürler görülür. Mitotik aktivite 11 yaşında belirginleşir ve primer, sekonder spermatositler görülür (15,16).

Primordial germ hücrelerinin farklılaşması erkeklerde pubertede başlar. Puberteden önce seks kordonları içinde lumenizasyon başlar ve seminifer tubuller oluşur. Eş zamanlı olarak primordial germ hücreleri, spermatogoniumlara farklılaşırlar. Daha sonra mitoz bölünme ile bir spermatogoniumdan önce primer spermatosit, daha sonra mayoz bölünme ile spermatid oluşur. Spermatidler olgun spermatozoonlara dönüşürken spermiyogenez denen bir dizi değişime uğrar (14,15).

## 2.2.ANATOMİ:

Genç sağlıklı erkeklerde testis, ovoid şekilli olup, funikulus spermatikus ile asılı olarak skrotum içinde bulunan bir çift organdır. Erişkinde yaklaşık 4.5x3x2.5 cm. boyutlarında, ortalama 19-20 gr ağırlığındadır (4,17,18).

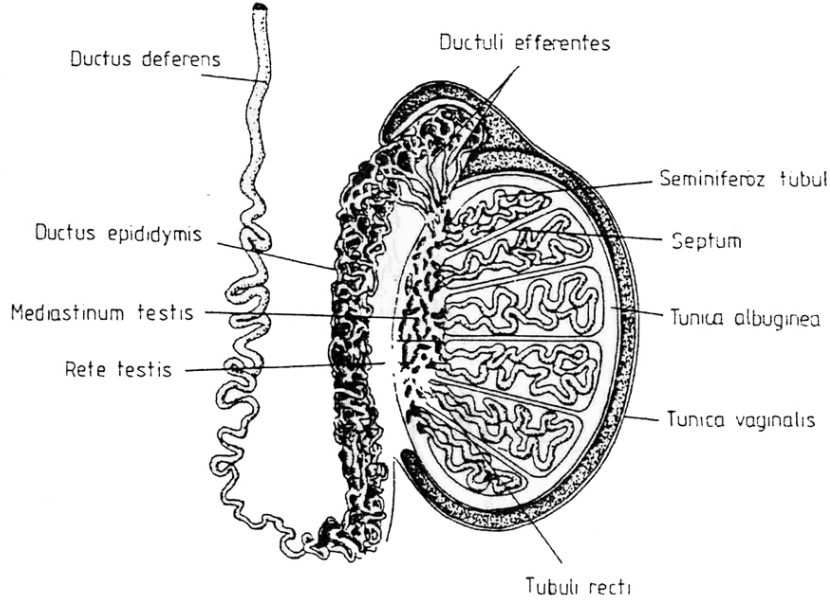
Fetal hayatta karın boşluğunda olan testisler doğumdan önce kanalis inguinalisten geçerek skrotuma inerler. Bu sırada karın ön duvar tabakalarını da aşağı iterler. Bu tabakalar dıştan içe doğru sırasıyla:

- 1- Deri,
- 2- Tunica dartos,
- 3- Fascia spermatica eksterna,
- 4- Fascia cremasterica,
- 5- Fascia spermatica interna ve
- 6- Tunica vaginalis' tir.

Skrotum kıvrımlı bir deri ve içte ince düz kas lifleri içeren tunica dartos'tan oluşur. Daha içte fascia superficialis, ortada bir septum yapar; testisler için iki boşluk oluşturur. Fascia spermatica externa Gallaudet fasciasının, cremaster tabakası musculus obliquus abdominis internusun, fascia spermatica interna fascia transversalisin, tunica vaginalis ise peritonun devamıdır (18).

Testis parankimi üç tabakadan oluşan kapsül ile sarıdır. Dışta tunica vaginalisin visseral tabakası, içte tunica albuginea, en içte tunica vasculosa yer alır. Tunica albuginea, kollajenöz zeminde birbiriyle köprüleşen çok sayıda düz kas lifi içerir. Mediastinumda kalınlaşır ve ışınsal olarak testis parankimini lobüllere ayırır. Mediastinumda kan damarı, lenfatik ve sinirler bulunur (4,18,19,20).**(Şekil 2.2.1)**

Her bir testis lobülü 1-4 adet seminifer tubule sahiptir. Seminifer tubuller terminal kısımda tubuli recti içine boşalır; testiküler hilumda rete testisin tubulleri ile birleşir. Rete testisten sonra 15-20 adet duktuli eferentes anastomozlaşıp, tunica albuginea'ya penetre olup, caput epididim olarak devam eder. Epididim 4-5m. uzunluğunda bir kanal olup, arkaya dönerek duktus deferens oluşturur. Duktus deferens spermatik kordun bir üyesi olarak inguinal kanala doğru uzanır (4,19).



**Şekil-2.2.1.** İnsan testisinin ve dış genital kanallarının genel görünümü (Geneser VF. Histologie Deutscher Ärzte-Verlag KÖLN, 1990: 590'dan modifiye edilerek alınmıştır.)

Testisin gelişimiyle ilgili bazı tubuler kalıntılar olan mülleryan duktus gerilerken apendiks testisi, mezonefrik duktusun kranial kısmından gelişen apendiks epididimisi, mezonefrik kalıntılardan gelişen duktuli aberantesleri, mezonefrik tubullerin kaudalinden gelişen paradidimisi içerebilir (4).

### 2.2.1.Arterler:

Testisi besleyen arter testiküler arterdir; çoğunlukla aortadan daha az olarak inferior renal arterden köken alır ve inguinal halkada spermatik kordun komponentini oluşturur. Arter seyri boyunca kıvrımlar yapar. Mediastinum testiste birçok dallar verir. Bu dallar septumlar ile tüm beze dağılır (4,17,20,22). (Şekil 2.2.2).

### 2.2.2.Venler:

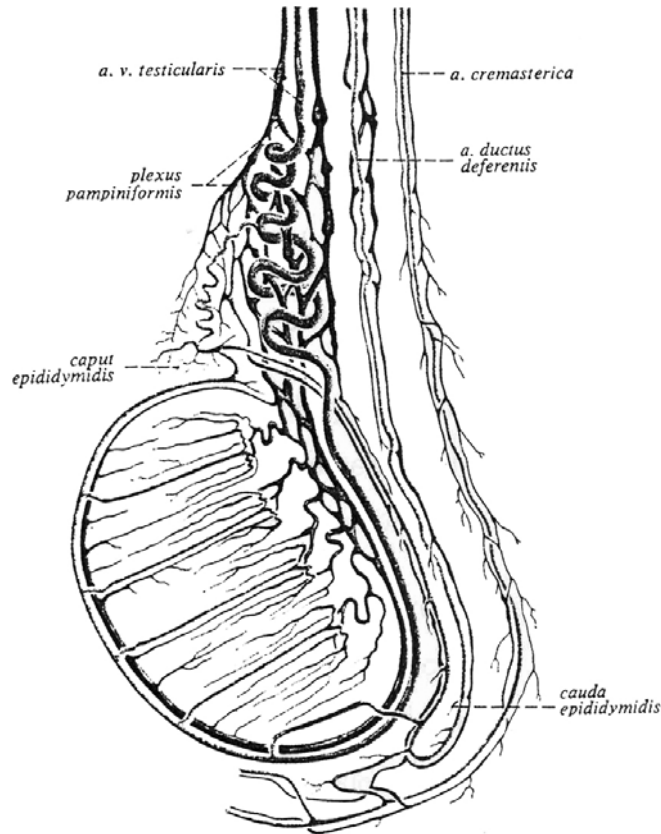
Testisin ana venöz drenajını, plexus pampiniformis sağlar. Bu ağdan vena testikularis oluşur. Vena testicularis sağda vena cava inferiora, solda vena renalis sinistraya dökülür (17,22).

### 2.2.3.Lenfatikler:

Testisin lenfatikleri funiculus spermaticus'tan yükselip, paraortik lenf bezine epididimin lenfatikleri ise internal ve eksternal iliak lenf bezine drene olur (17,22).

### 2.2.4.Sinirler:

Testisi innerve eden sinirler torakal 9-12. spinal segmentlerden çıkar. Bu dallar plexus aortikus ve plexus renalisten ayrılarak plexus testikularisi oluşturur (22).



**Şekil-2.2.2.** Testis ve epididimisin beslenmesini sağlayan damarların şematik resmi. (Ferner H., Staubesand J. Urogenital System In: Sobotta, Urban & Schwarzenberg. München-Wien-Baltimore 1985: 190'dan alınmıştır.)

### 2.3.HİSTOLOJİ

Testisler erkek üreme sisteminin temel fonksiyonel organıdır. Başlıca görevi spermatozoon ve hormon üretmektir. Tubul sistemi spermin üretimini ve transportunu sağlarken, Leydig hücreleri androjen üretir (13,14,15).

Testiküler lobüller içinde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tubul yer alır (13). Seminifer tubuller fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bazal lamina ve germinal veya seminifer epitelden oluşur. Seminifer tubülü, fibroblastlardan oluşan fibröz yapıdaki tunica propria sarar. Bazal laminanın en içindeki tabaka kontraksiyon yapabilen 3-5 sıralı yassılaştırmış miyoid hücreler içerir (4,13,14).

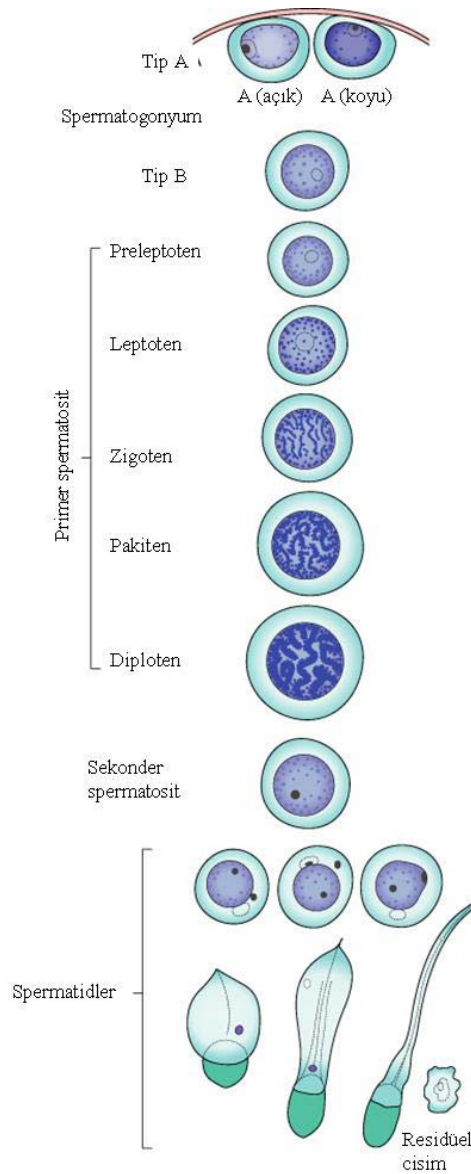
Seminifer epitel, Sertoli ya da destek hücreleri ve germ hücrelerini içeren iki tip hücreden meydana gelmektedir. Germ hücreleri, bazal lamina ve tubul lümeni arasında 4-8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir. Çeşitli evrelerde farklılaşma sürecindeki germ hücrelerini içerir. Bu hücreler birkaç bölünmeden sonra spermatozoonları oluşturur. Spermatogenez olarak tanımlanan bu süreçte spermatositogenez ve spermiyogenez gerçekleşir. Spermatositogenez olarak isimlendirilen evrede spermatogonyumlardan spermatositler gelişir, spermatositlerin mayoz bölünme geçirmesi ile spermatidler gelişir. Spermiyogenez ise spermatidlerin farklılaşarak spermium veya spermatozoon oluşturduğu safhadır (13,14). **(Şekil-2.3.1).**

Spermatogenez başlatan ilk hücre, seminifer tubülün bazal membranına yerleşmiş olan spermatogonyumlardır. Tip A ve B olarak iki tip spermatogonyum tanımlanmıştır. Spermatogonyumlar gelişim sürecinde birçok mitoz bölünme geçirerek iki yol izleyebilir; bir ya da birkaç bölünmeden sonra farklılaşmamış kök hücre olan tip A spermatogonyumları veya mitoz boyunca farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar (4,13,14).

Tip A spermatogonyumlar spermatogenezde kök hücreler olup oval çekirdekli, nükleer membran yanında bir-iki nükleol içeren, ince granüler kromatin dağılımına sahip, soluk sitoplazmalı hücrelerdir.

Tip B spermatogonyumlar mitoz bölünme ile primer spermatositlere farklılaşan kök hücrelerdir. Tip A spermatogonyumlardan daha büyük, daha yuvarlak nükleuslu, kromatini nükleusun periferine birikmiş olup, tek santral nükleolus içerir (4.14). Oluşan primer spermatositler daha sonra mayoz bölünmenin profazına

girerler. Bu aşamada primer spermatositin 46 (44+XY) kromozomu ve 4N DNA'sı vardır (N, haploid kromozom sayısıdır). Profaza giren hücreler leptoten, zigoten, pakiten, ve diploten fazlarından geçer, sonuçta kromozomlar ayrılır. Profazdan sonra metafaza girerler, anafazda kromozomlar kutuplara ayrılır. Bazalden lümene doğru gelişim gösteren primer spermatositler spermatogenezin en büyük hücreleridir (13,14).



**Şekil-2.3.1.** Spermatogenezin basamakları (Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Ninth Ed. St. Louis. Mosby 2004, 1413'den alınmıştır.)



Primer spermatositlerin geçirdiği birinci mayoz bölünmeden sonra, sekonder spermatositler oluşur. Sekonder spermatositler 23 (22+X veya 22+Y) kromozom ve 2N DNA içeren daha küçük hücrelerdir. İnterfazda kısa bir süre kalıp, hemen ikinci mayoz bölünmeye girdiği için biyopsilerde görülmesi zordur. Sekonder spermatidler 23 kromozom içeren, birbirleriyle sinsityal bağlantı gösteren spermatidleri oluştururlar. Primer, sekonder spermatosit ve spermatidler arasında sitoplazmik köprüler spermatogenezi düzenler. İnsanda spermatogenez 64 gün sürer (13,14).

Spermatidler nükleer kromatini yoğun, oval ya da küre şekilli, seminifer tubul lümenine yakın seyrederek. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi, bol miktarda mitokondri ve bir çift sentriyol içerir (13,14).

Spermatidlerin olgun spermatozoaya dönüşümü sırasında geçirdikleri bir dizi farklılaşma sürecine spermiyogenez denir. Bu süreçte akrozom oluşur, nükleus şekillenir, sitoplazmanın büyük kısmı kaybolur, flagellum gelişir (13,14). Spermiyogenez üç fazda gerçekleşir (14).

**1- Golgi fazı:** PAS pozitif, küçük proakrozomal granüller Golgi kompleksinde birikirler. Daha sonra bunlar birleşerek akrozomal granülü oluştururlar. Akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında yer alan sentriyoller hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonemanın oluşmasını sağlar.

**2- Akrozomal faz:** Akrozomal vezikül ve granül yoğunlaşan çekirdeğin büyük kısmını kaplar. Bu aşamada akrozom olarak isimlendirilir. Çekirdek uzar ve kromatini yoğunlaşır. Mitokondri flagellum etrafında yerleşir. Akrozomda hiyaluronidaz, nörominidaz, asit fosfataz gibi enzimler bulunur. Spermatozoonlar bu enzimler sayesinde ovumla karşılaştığında, plazma membranı ile kaynaşır. Bu işlem fertilizasyonun ilk aşamasıdır. Sentriyollerden biri gelişerek flagelluma farklılaşır, mitokondrilerde flagellumun proksimalinde birikerek orta parçayı oluştururlar. Bu parça spermatozoonların hareket yeteneğine enerji sağlar.

**3-Olgunlaşma fazı:** Spermatidlerden spermatozoa gelişirken kalan az miktarda kalan sitoplazma parçası Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatozoonlar tubul lümeninde olgun değildir. Olgunlaşma epididimde devam eder, en son ejakülasyonla tamamlanır (13,14).

Olgun bir sperm hücresi olan spermatozoonlar memelilerde baş, boyun ve kuyruk kısımlarından oluşur. Baş kısmı kromatini yoğunlaşmış nükleus içerir,

2/3'lük ön kısmı akrozom denilen bir kılıfla örtülmüştür. Boyun bölgesi, baş ile kuyruk orta bölgesi arasında yer alır. Kuyruk bölgesi orta, esas ve son parça olarak 3'e ayrılır; erkekte gametlerin hareketini sağlar. Kuyruğun orta parçasında bulunan bol miktarda mitokondriyum, esas ve son parçada bulunmaz ve fibröz bir kılıfla çevrilidir. Mikrotubuluslarda bulunan ATP aktivitesi ve dynein proteini sayesinde kuyruk hareketi sağlanmış olur (13,14).

Sertoli hücreleri bazal membrandan luminal yüzeye kadar seminifer epitelin tüm kalınlığı boyunca uzanan piramidal, kolumnar veya elonge şekilli hücrelerdir. Sitoplazmaları iyi sınırlı, hafif eozinofilik, nükleusları ince kromatinli, orta büyüklükte olup yuvarlak nükleolus içerirler (4). Spermatogenetik serideki hücreleri kısmi olarak sararlar. Sertoli hücreleri spermatogonyumlar komşuluğunda sıkı bağlantılarla bağlanmışlardır. Spermatogonyumlar bazal kompartmanda yerleşirler; spermatogenez esnasında adluminal kompartmana çıkarlar. Daha ileriki aşamalarda Sertoli hücreleri arasındaki bağlantılarla oluşan kan-testis bariyeri ile immünolojik reaksiyondan korunurlar. Spermatozoidlerin sahip oldukları flagellar kuyrukları uzadıkça Sertoli hücreleri arasında püsküller şeklinde çıkıntı oluştururlar (13,14).

Sertoli hücrelerinin dört fonksiyonu vardır (13):

**1- Beslenme, korunma ve destek fonksiyonu:** Spermatozoonların gelişme sürecinde beslenme, korunma ve desteklenmesini sağlarlar. Kan-testis bariyeri nedeniyle kandan beslenemeyen spermatozoidler, spermatidler ve spermatozoonlar beslenme ve metabolit alışverişinde Sertoli hücrelerine ihtiyaç duyarlar. Ayrıca Sertoli hücreleri sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan korurlar.

**2- Fagositoz:** Spermatidin olgun spermatozoaya dönüşümü sırasında fazla sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından önce fagosite edilip, sonra lizozomları ile sindirilir.

**3- Sekresyon:** Sertoli hücreleri FSH ve testosteron kontrolü altında gerçekleşen androjen bağlayıcı protein salgılar. Bu protein seminifer tubul içinde testosteronun artmasını sağlar. Ayrıca inhibin diye bilinen ve ön hipofizden FSH salınımını önleyen bir peptid salgılarlar.

**4- Antimülleryan hormon üretimi:** Erkekte Müller kanalının gerilemesini sağlar (13,14).

Seminifer tubuller arasında bağ dokusu stromal hücreler, sinirler, kan ve lenfatik damarlar, interstisyel ya da Leydig hücrelerini içerir. Bağ dokusunda fibroblastlar, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Pubertede testosteron salgılayan Leydig hücreleri belirginleşir. Bu hücrelerin sitoplazması yuvarlak, poligonal şekilli, santral nükleuslu, bir ya da iki düzensiz şekilli nükleolus içeren, çok sayıda agranüler endoplazmik retikulum, tubuler mitokondriyum, lipid damlacıkları ve glikojen partiküllerine sahiptir. Leydig hücreleri testosteron yanı sıra ACTH-MSH, beta-endorfin, metionin-enkefalin, inhibin, aktivin, oksitosin, renin-anjiyotensin, kortikotrop yönlendirici faktör, çeşitli büyüme faktörlerinin salınım ürünlerinden de sorumludur. Ayrıca 'rod' şeklinde intrasitoplazmik Reinke kristalleri izlenebilir. Protein ve lipid içeren bu kristaller bazı Leydig hücrelerinde tanımlanmakla birlikte, fonksiyonel önemi henüz açıklanamamıştır (13,14).

Her bir seminifer tubul iyi sınırlı bazal membran ve onun çevresinde testisin interstisyumuna kadar yayılan ince fibröz doku ile çevrilmiştir. Lamina propriada üç-beş sıralı düz kas özelliğinde kontraktıl miyoid hücreler bulunur (4).

Seminifer tubuller, rete testise tubuli rekti denen yapılarla bağlanır. Tubuli rekti kuboidal epitelle döşelidir; çevresinde karakteristik olarak Sertoli hücreleri izlenmez. Tubuli rektiden sonra rete testisin tubulleri mediastinum testis ve bazen seminifer tubuller arasındadır; kübik epitelle döşeli olup, çok fazla anastomozlaşan kanallardan oluşur. Rete testisten 8-12 adet duktuli eferentes çıkar, epididime doğru seyrederek ve arada kuboidal epitel odakları içeren psödostratifiye kolumnar epitelden oluşur. Silyasız hücreler sıvı absorpsiyonu yaparken silyalı hücreler spermin epididime iletiminde görev alır. Duktuli eferentesler birleşerek duktus epididimi oluştururlar (4,13).

Duktus epididimis 4-6m uzunlukta, tek, kıvrıntılı bir tüptür. Kesitlerde multipl epididim tubulleri olarak görülür. Çift sıralı epitel bazalde yuvarlak nükleuslu, küçük hücreler, lüminal yüzeyde uzamış nükleuslu yalancı çok katlı prizmatik epitelle döşelidir. Duktus epididimisin lümeni, duktuli eferentesin tersine düzgün olup, epitelin yüzeyi stereosilya denen uzun, dallanmış mikrovilluslar ile kaplanmıştır. Hücreleri, bağ dokusu, kapiller damarlar ve az miktarda konsantrik düz kas hücreleri ile çevrelenmiştir. PAS (+) intranükleer inklüzyon, sitoplazmik lipofussin granülleri izlenebilir (4,13).

Epididim, duktus veya vas deferens olarak devam edip prostatik üretraya açılır. Duktus deferens içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler tabakalardan oluşan kalın m. müsküler duvarlı, dar lümenli bir kanaldır. Çoğu yerde stereosilya içeren yalancı çok katlı prizmatik epitele sahiptir (4,13).

### **2.3.1.Kan-Testis Bariyeri:**

Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar vasıtasıyla, kan-testis bariyeri kurulmuştur. Testiküler sıvı içine kandan çok az madde geçer. Bu, spermatozoonların eksojen zararlı maddelerden korunması için gereklidir. Seminifer tubul ve genital boşaltım yollarında bulunan testis sıvısının, iyon, protein, karbonhidrat içeriği bakımından kan plazması ve testisin lenf sıvısından belirgin olarak farklı olduğu gösterilmiştir. Kanda bulunan birçok protein ve immünoglobulinler testiküler sıvıda bulunmaz (13,14).

## **2.4. TESTİSİN GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİNİN İNSİDANSI**

Testis tümörleri nadir görülür. Erkeklerde görülen tüm malign tümörlerin % 1-1.5'ünü oluşturur (23). Nadir görülmesine rağmen 15-35 yaş arası erkeklerde en sık görülen kanserdir (16). Gelişmiş ülkelerde yılda her 100.000 erkekten 3-6 kişiye testis kanseri tanısı konmaktadır (23). Testis tümörlerinin insidansı ülkelere göre önemli farklılıklar gösterir. Danimarka, Almanya, Norveç, Macaristan, İsviçre'de insidansı 100.000'de 8-10'a kadar yükselirken, Asya, Afrika ve Karayibler'de insidansı 100.000 de 2'den daha azdır (24).

## **2.5. ETYOLOJİ VE EPİDEMİYOLOJİ**

Testis kanserleri için epidemiyolojik, patolojik ve klinik risk faktörleri tanımlanmıştır. Etiyolojide ,

1) Erkek genital sisteminin konjenital malformasyonları: Kriptorşidizmde testiküler kanser riski 3-5 kat artmıştır (17,24). Kriptorşidizimli testisin kontrolateralinde, hipospadias, inguinal herni, testiküler atrofi varlığında da testis kanseri riski artar (24).

2) Prenatal risk faktörleri: Yapılan vaka kontrol çalışmalarında düşük doğum ağırlığı gibi intrauterin gelişme geriliği gösteren durumlarda testis kanseri riski artmaktadır.

3) Erişkin dönemdeki etkenler: Etyolojik faktörlerin yanı sıra fiziksel aktivitenin azlığı ve yüksek sosyoekonomik düzey riski artırır.

4) Erkek infertilitesi: Subfertil ve infertil erkeklerde testis kanseri gelişme riski artar.

5) Spesifik etkenler: Son zamanlarda testis kanserlerinin etyolojisinde endojen östrojenlerden çok ekzojen olarak alınan östrojen ve antiandrojen maddelere çevresel maruziyet daha ön plana çıkmıştır. Fakat bu hipotez zayıf olup çevresel koşullara bağlı kalmaktadır. İn utero hayatta bir sentetik östrojen olan dietilstilbestrole maruz kalan erkeklerde yapılan kohort takibinde kriptorşidizm daha sık görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte testis kanserlerinde iki kat artış görülmüştür.

6) Diğer faktörler: Y kromozomu kaybı olan gonadal disgenezili erkeklerde germ hücreli tümör gelişme riski yaklaşık %30'dur. Bunlarda en sık gelişen tümör tipi gonadoblastomdur; invaziv tümörlerden ise en sık seminom gelişir. Androjen insensitivite sendromunda ise germ hücreli tümör gelişme riski %5-10 artar. Aile hikayesi olan ve karşı testiste germ hücreli tümör bulunan hastalarda tümör gelişme riski yine artar (4,24) .

Testisin germ hücreli tümörlerinde çeşitli sitogenetik ve moleküler anormallikler tanımlanmıştır. Onikinci kromozomun kısa kolunda izokromozom [i(12p)] ve uzun kolunda delesyon [del(12q)] en sık karşılaşılan anomalilerdir. Bu delesyonların bir ya da daha fazla sayıda tümör baskılayıcı gen kaybına neden olduğu ileri sürülmüştür (16).

Testis kanserlerinin % 90-95'ini germ hücreli tümörler oluşturur. Testiküler germ hücreli tümörlerin seminomatöz ve non-seminomatöz olmak üzere iki ana histolojik tipi vardır: Non-seminomatöz germ hücreli tümörler de ayrıca embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü, koryokarsinom ve teratom yönünde diferansiyasyon gösterebilir. Germ hücreli tümörler bir ya da daha fazla histolojik örnek içermelerine göre iki gruba ayrılabilirler. Testisin germ hücreli tümörlerinin yarısından fazlası tek bir histolojik tipten oluşurken, birden fazla histolojik tip içeren mikst germ hücreli tümörler % 40-45'ini oluşturur (3,5,7,16,23).

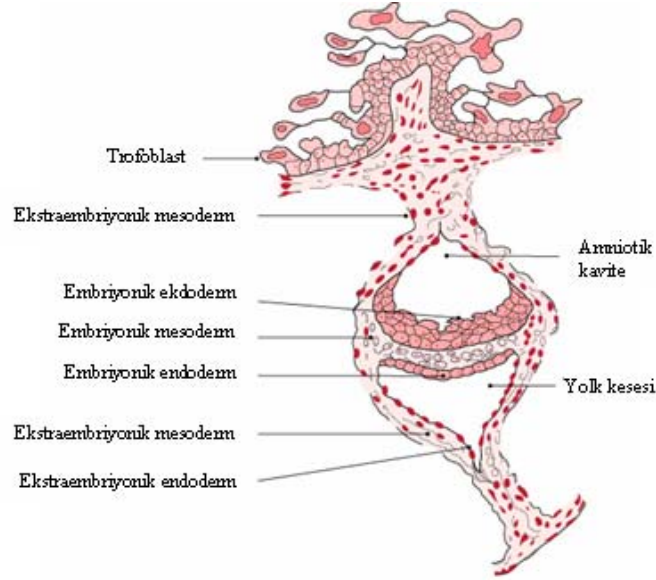
Testis germ hücreli tümörlerinin histolojik tipleri farklı olmasına rağmen tek bir prekürsör lezyon karsinoma in situ veya andiferansiye intratubuler germ hücreli

neoplaziden köken alır. Spermatozitik seminomlu ve prepubertal testiküler germ hücreli tümörlerde testisin diğer alanlarında intratubuler germ hücreli neoplazi oldukça nadirdir. Bundan dolayı bu tümörler prekürsör lezyonlarla birlikte değildir (4,7,26,27)

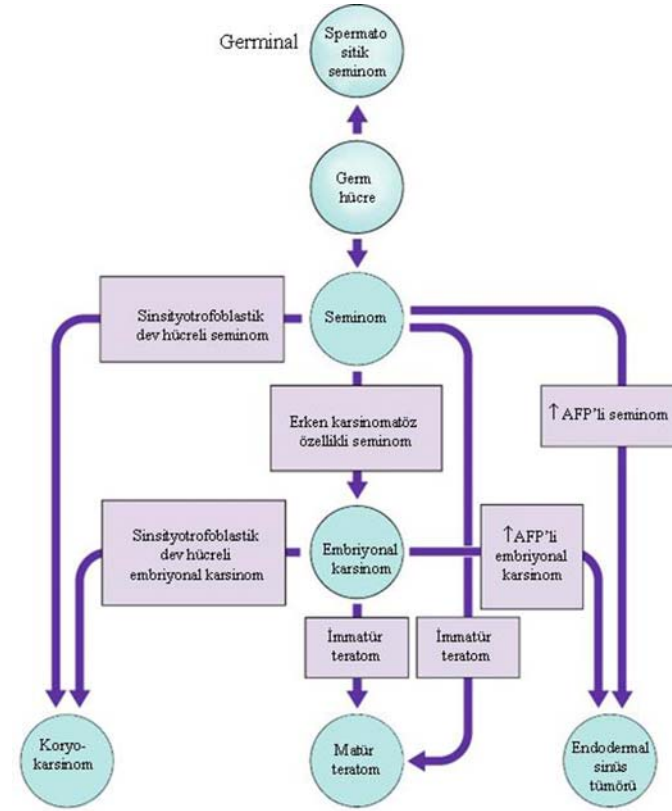
Testis tümörlerinin farklı tiplerinin sıklığı ve görülme yaşı arasında iyi bir korelasyon vardır (16). Klasik seminomlar ortalama 40 yaşında, spermatozitik seminom ortalama 55 yaşında pik yapar (27). Non-seminomatöz germ hücreli tümörlerin farklı tipleri için ortalama yaş 30.4, seminom ve non-seminomatöz germ hücreli tümör kombinasyonu için ortalama yaş 35.1 olarak tesbit edilmiştir (16). Saf yolk kesesi tümörlerinin pik yaşı ise 1.5'tur (27).

## 2.6.HİSTOGENEZ

Morfolojik ve genetik çalışmalara göre testisin germ hücreli tümörleri ister seminomatöz, ister non-seminomatöz olsun, seminifer tubulün primitif germ hücrelerinden geliştiği düşünülmektedir. Non-seminomatöz GHT'ler klonal orijine sahip olmakla birlikte, embriyogeneze uygun olarak diferansiyasyon paterni embriyo ve/veya embriyoyla ilişkili yapıların bir veya daha fazla komponentinin oluşumu yönünde gelişebilir (**Şekil 2.6.1**). Erişkin bir erkekte tümör gelişimi sırasında, intratubuler germ hücreli tümör ve mikroinvaziv germ hücreli tümörün hücreleri ile prespermatogonya arasında histolojik ve histokimyasal benzerlik izlenmektedir. Bu primitif hücreler ya gonadal yönde farklılaşarak seminomları oluşturur ya da seminom-dışı germ hücreli tümörleri oluşturmak üzere totipotent hücre popülasyonuna değişim gösterirler. Bu totipotent hücreler büyük çoğunlukla hiçbir yönde farklılaşmadan kalarak embriyonal karsinomları, ekstraembriyonik yönde farklılaşarak yolk kesesi tümörlerini ve koryokarsinomları oluştururlar; ya da teratomları oluşturmak üzere somatik hücreler yönünde farklılaşırlar (**Şekil 2.6.2**). Seminom-dışı germ hücreli tümörler arasında farklı histolojik tiplerin oldukça sıklıkla bir arada bulunması da önerilen bu histogenezi desteklemektedir (3,16,25).



**Şekil 2.6.1.** Normal insan embriyonunun komponentlerinin şeması: Testiküler germ hücreli tümörler bir veya daha fazla sayıda bu yapılara farklılaşabilmektedir. (Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Ninth Ed. St. Louis. Mosby 2004 1418'den alınmıştır.)



**Şekil 2.6.2.** Germ hücreli tümörler arasındaki ontogenetik ilişkiyi gösteren şematik diyagram. (Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Ninth Ed. St. Louis. Mosby 2004 1418'den alınmıştır.)

## 2.7.SINIFLAMA

Testiküler germ hücreli tümörlerin sınıflamasında ‘Dünya Sağlık Örgütü’ (DSÖ) ve ‘British Testicular Tumour Panel’ sınıflaması esas olarak alınmış iki temel sistemdir. İlk olarak yapılan DSÖ 1977 sınıflandırmasında Friedman ve Moore, Dixon ve Moore, Melicow, Mostofi ve Price tarafından yapılan çalışmaların sonucu olarak düzenlenmiştir. Buna göre DSÖ’nün son sınıflamasında en önemli değişiklik teratomlar ve poliembriyoma grubu tümörlerde yapılmış, teratomlarda matür ve immatür ayrımı yapılmamıştır. Poliembriyoma, embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü ve teratomatöz elemanlar içermesinden dolayı saf tümörler grubundan çıkarılıp mikst tümörler içine dahil edilmiştir (4,5,24,26).

Testis tümörleri DSÖ’nün 2004 histopatolojik sınıflandırma sistemine göre sekiz kategoride sınıflandırılır (24):

- 1- Germ hücreli tümörler:
  - İnatubuler germ hücreli neoplazi , nonklasifiye
  - Diğer tipler
    - A-Saf germ hücreli tümörler
      - Seminom
        - Sinsityotrofoblastik hücreli seminom
      - Spermatositik seminoma
        - Sarkomlu spermatositik seminom
    - Embriyonal karsinom
    - Yolk kesesi tümörü
    - Trofoblastik tümörler
      - Koryokarsinom
      - Diğer trofoblastik tümörler
      - Monofazik koryokarsinom
      - Plasental-site trofoblastik tümör
  - Teratom
    - Dermoid kist
    - Monodermal teratom
    - Somatik tipte maligniteli teratom



### B-Mikst germ hücreli tümörler

- Mikst embriyonal karsinom ve teratom
- Mikst teratom ve seminom
- Koryokarsinoma ve teratom / embriyonal karsinom
- Poliembriyoma

### 2-Seks kord /gonadal stromal tümörler

#### A) Saf formları

- Leydig hücreli tümör
- Malign Leydig hücreli tümör
- Sertoli hücreli tümör
  - Lipidden zengin varyantlı Sertoli hücreli tümör
  - Sklerozan Sertoli hücreli tümör
  - Büyük hücreli kalsifiye Sertoli hücreli tümör
- Malign Sertoli hücreli tümör
- Granüloza hücreli tümör
  - Adult tip
  - Juvenil tip
- Tekoma / fibroma grubu tümörler
  - Tekoma
  - Fibroma
- Seks kord / gonadal stromal tümör
- İnkomplet differansiye

#### B) Seks kord / gonadal stromal tümörler, mikst form

- Malign seks kord / gonadal stromal tümörler
- Germ hücreli ve seks kord / gonadal stromal elementler
  - Gonadoblastom
  - Germ hücreli- seks kord / gonadal stromal tümör, anklasifiye

### 3- Testisin sınıflandırılmayan tümörleri

- Karsinoid tümör
- Ovarian tipte epitelyal tümörler
  - Borderline maligniteli seröz tümör
  - Seröz karsinoma

- İyi diferansiye endometrioid karsinom
- Müsinöz kistadenokarsinoma
- Brenner tümör
- Nefroblastoma
- Paraganglioma
- 4- Hematopoietik tümörler
- 5- Toplayıcı duktus ve retenin tümörleri
- Adenom
- Karsinom
- 6- Paratestiküler yapıların tümörleri
- Adenomatoid tümör
- Malign mezotelyoma
- Benign mezotelyoma
  - İyi diferansiye papiller mezotelyoma
  - Kistik mezotelyoma
- Epididimin adenokarsinomu
- Epididimin papiller kistadenomu
- Melanotik nöroektodermal tümör
- Desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör
- 7- Spermatik kord ve testiküler adneksin mezenkimal tümörleri
- 8- Testisin sekonder tümörleri

## **2.8.EVRELEME**

Testis tümörlerinin değerlendirilmesinde farklı evrelendirme sistemleri kullanılmıştır. Temel olarak testis kanserlerinin tedavisini içeren birçok düzenlemeler yapılmıştır. Evrelendirme testis tümörlerinin prognozunu belirlemede önemli parametrelerden biridir. Günümüzde en yaygın olarak TNM sınıflaması kullanılmaktadır. Union International Centre Cancer (UICC) ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından kabul edilen ve 1997'de en son şekli verilen günümüz TNM sisteminde,

T: primer tümörün özelliklerini,

N: lenf bezi tutulumunu,

M: uzak metastazları temsil etmektedir. Ayrıca,

S: orşiektomiden sonra serum tümör marker'ı olan AFP, LDH ve HCG seviyelerini ifade etmektedir (4,5,23).

### **TNM Sistemi:**

#### **pT: Primer tümör**

pTx: Primer tümör testiste belirlenemiyor

pTo: Primer tümör izlenmiyor, histolojik skar var

pTis: İntratubuler tümör, invazyon yok

pT1: Tümör testis ve epididime sınırlı, vasküler ve lenfatik invazyon yok, tunika albuginea tutulmuş, ama tunica vaginalis intakt

pT2: Tümör testis ve epididime sınırlı, vasküler ve lenfatik invazyon var, tunika albugineaya doğru yayılım ile, tunica vaginalisin tutulumu

pT3: Spermatik kord invazyonu, vasküler ve lenfatik invazyon var/ yok

pT4: Skrotum invazyonu, vasküler ve lenfatik invazyon var/ yok

#### **N: Bölgesel lenf bezi (klinik)**

Nx: Bölgesel lenf bezi belirlenemiyor

N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok

N1: Tek veya multipl metastaz, çapı < 2cm

N2: Tek veya multipl metastaz, çapı 2-5 cm arasında

N3: Metastatik lenf nodu >5cm

#### **pN: Bölgesel lenf bezi (Patolojik)**

pNx: Bölgesel lenf bezi belirlenemiyor

pN0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok

pN1: 1-5 lenf nodunda metastaz var, en büyüğü <2cm

pN2: Metastatik lenf nodu 2-5cm veya >5 nodda metastaz, <5cm veya tümörün ektranodal yayılımı

pN3: Metastatik lenf nodu >5cm

#### **M: Uzak metastaz**

Mx: Uzak metastaz belirlenemiyor

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

M1a: Bölgesel lenf bezi veya akciğer metastazı

M1b: Bölgesel lenf bezi veya akciğer metastazı dışında metastaz

### **S: Serum tümör belirteçleri**

Sx: Serum tümör belirteçleri belirlenemiyor

S0: Tümör belirteçleri normal normal seviyede

LDH**	HCG (mlU/ml)	AFP (ng/ml)
S1: <1.5X N	+<5,000	+<1,000
S2: 1.5-10X N	5,000-50,000	1,000-10,000
S3: >10 X N	50,000	>10.000

### **TNM sistemine göre evreleme :**

Evre 0- Tis, N0, M0, S0

Evre IA- T1, N0, M0, S0

Evre IB- T2-T4, N0, M0, S0

Evre IS- pT/T4, N0, M0, S1-S3

Evre IIA- pT/T4, N1, M0, S0-S1

Evre IIB- pT/T4, N2, M0, S0-S1

Evre IIC- pT/T4, N3, M0, S0-S1

Evre IIIA- pT/T4, pN/N3, M1a,S0-S1

Evre IIIB- pT/T4, PN/N3, M0-M1a, S0-S1

Evre IIIC- pT/T4, pN/N3,M0-M1a, S0-S1

pT/T4, PN/N3,M1b,S/S3

Tümörün büyüklüğü, metastaz hızıyla, dolayısıyla prognoz ile korele değildir.

## **2.9.GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER**

### **2.9.1.PREKÜRSÖR LEZYONLAR**

Testisin germ hücreli tümörlerinin en sık prekürsör lezyonu intratubuler germ hücreli neoplazinin sınıflandırılmayan tiptir. İntratubuler germ hücreli neoplazi tipleri şu şekilde klasifiye edilmiştir:

1-İnatubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmayan tip

2-İnatubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmayan, ekstratubuler yayımlı (erken seminom)

3-İnatubuler seminom

-Klasik

-Spermatositik

4-İnatubuler embriyonal karsinom

5-İnatubuler yolk kesesi tümörü

6-İnatubuler germ hücreli neoplazi, diğer formları (4,16) .

### **2.9.1.1.İnatubuler Germ Hücreli Neoplazi, Sınıflandırılmayan tip (IGCNU)**

Testisin seminifer tubullerinde atipik germ hücrelerinin bulunması olup, intratubuler germ hücresi, karsinoma in situ, intratubuler preinvaziv tümör, gonositoma in situ, testiküler intraepitelyal neoplazi, intratubular atipik germ hücreleri ve intratubuler malign germ hücreleri olarak da isimlendirilir (24). Kriptorşidizimli erkeklerde intratubuler germ hücreli neoplazi insidansı %2-8 (24,29), oligo- ve azospermiye bağlı subfertil erkeklerde IGCNU insidansı % 0.3 olarak bildirilmiştir (16,25). Ayrıca kontrolateral testiste testiküler tümör varlığında %4-11 oranında görülür. İnterseks sendromu olan erkeklerde, gonadal disgenezi, androjen insensitivite sendromunda ve testiküler feminizasyon sendromunda IGCN insidansı artmaktadır (24,25). Bununla birlikte IGCN puberteden önce nadir görülür. Testisin germ hücreli tümörlerinin büyük çoğunluğu (spermatositik seminom hariç) intratubuler germ hücreli neoplaziden köken alır (25).

Makroskopik olarak görülebilir spesifik bir lezyon yoktur. Mikroskopik olarak, malign germ hücreleri, normal spermatogonyumlardan büyüktür. Sitoplazmaları geniş, glikojenden zengin PAS (+), berrak veya vakuolizedir. Nükleus büyük ve irregüler olup bazen hiperkromatik boyanır. Bir veya daha fazla belirgin nükleol içerir. Mitoz sıktır. (4,24).

Spermatogenez azalarak kaybolduğu için normal spermatosit, spermatid, spermatozoa görülmez. Lezyon testisin tubullerinde yaygın veya fokal olabilir. Tubul duvarı kalındır. Hücreler karakteristik olarak yan yana, sıklıkla tek sıralı, nadiren birden fazla sıralı olabilir. Seminifer tubullerin germinatif hücre tabakasının bazalinde, Sertoli hücreleri arasında veya yanında yer alırlar. Lezyonda lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu olabilir (4,24,25).

İmmünohistokimyasal boyamada IGCNU vakalarının %83-99'u PLAP ile membranöz boyanma gösterir (5,24). C-kit ile de membranöz boyanır. Pluripotent stem hücre belirleyicisi olan OCT3/4 (POU5F1) ile malign hücrelerde kuvvetli nükleer boyanma saptanır (19).

Vakaların yaklaşık %50'si 5 yıl içinde invaziv germ hücreli tümöre ilerler (24,28,29).

### 2.9.2. SEMİNOM

Seminom en sık görülen germ hücreli testis tümörüdür. Tüm testis tümörlerinin %50'sini oluşturur. Non-seminomatöz tümörlere göre daha yaşlı hastalarda görülür. Ortalama görülme yaşı 40'dır (27,29).

En sık semptom testiküler büyümedir, sıklıkla ağrısızdır. Seyrek olarak hastalarda retroperitoneal metastaza bağlı sırt ağrıları görülebilir. Başlangıçta lenfatik, daha sonra hematojen yayılabilirler (24,29).

Makroskopik olarak, testis sıklıkla büyüktür. Klasik seminomların kesit yüzeyi gri beyazdan soluk pembe ve hatta kanama olursa kırmızıya kadar değişen renkte, yumuşak kıvamlı, homojen lobüler yapıda iyi sınırlı kitle şeklindedir. Normal parankim komşuluğundan dışa doğru gelişir. Tümörün ana kitlesinden ayrı nodüller görülebilir ve bazen makroskopik olarak ayrı çok sayıda nodüllerden meydana gelir ve multinodüler bir görünüm verebilir. Nekroz genellikle fokaldır; fakat yaygın da olabilir. Kist formasyonu ve kanama gibi epididim ve spermatik kord içine yayılım da nadirdir (4,24,29).

Mikroskopide tipik olarak lenfositlerle infiltre alveoler çatı izlenimini veren, ince fibröz septumlarla ayrılmış uniform görünümlü, örtüler/tabakalar, ya da kordon ve kümeler şeklinde düzenlenmiş hücrelerden oluşur. Lenfositler folikül oluşturacak kadar yoğunlaşabilir. Lenfositlerin fibrovasküler septumdaki yerleşimine bağlı olarak tümör hücre grupları alveolar agregatlar, yuvalanmalar, kümeler oluşturur. Sitoplazma iyi sınırlı, geniş olup, glikojen miktarına göre berraklaşır. Nükleus büyük, regüler, bir veya daha fazla nükleollüdür. Bazen mikrokistik ya da kribriform yapı da gelişirse yolk kesesi tümörüne benzetilebilir. Granülomatöz reaksiyon ve fibrozis sıktır; bazen çok yaygın olup tümörü gizleyebilir. Seminom genellikle testiküler yapıyı örter, fakat başka büyüme paternleri de vardır:

a) **İnterstisyel invazyon:** Palpabl veya makroskopik kitle meydana getirecek kadar büyük olmayan veya büyük tümörlerin kenarında satelit gibi;

b) **İntratubuler infiltrasyon;**

c) **Rete testiste pagetoid yayılım** (4,24,27).

### 2.9.2.1.SEMİNOMUN VARYANLARI

1) **Sinsityotrofoblastik Hücreli Seminom:** Klasik seminomların yaklaşık %7'sinde sinsityotrofoblastik hücreler bulunur ve buna ek olarak bazı vakalarda sinsityotrofoblastik hücreler HCG için yapılan immünohistokimyasal boyama ile %25 oranında tanımlanabilir (24,26,29). Sinsityotrofoblastik hücreler sıklıkla multinükleer, geniş açık bazofilik sitoplazmalı, intrasitoplazmik lakünlere sahip olup, seminom benzeri, çift nükleuslu hücrelere kadar çok değişik yapıda olabilirler (27,29). Lokal alanlar hemoraji odakları ile çevrilidir. Koryokarsinomdan farklı olarak sitotrofoblastik hücre içermezler. Sıklıkla serumda HCG seviyesi yükselmiştir. Aynı volüm ya da dönemdeki seminomdan daha kötü prognozludur. Ayrıca seminomlarda sıklıkla inflamatuvar cevap ile birlikte nonneoplastik Langhans tipi dev hücreler görülebilir (24).

2) **Kribriiform, psödoglandüler/alveoler ve tubuler varyantları:** Fibrovasküler septumunda az sayıda lenfosit bulunur; seminom hücreleri psödoglandüler/alveolar yuvalanmalar veya kribriiform yapılar oluştururlar (24). Solid tubuler patern tümör hücrelerinin çevresinde palizad oluşturan yuvalanmalarla karakterizedir. Sertoli hücreli tümörle karıştırılabilir; ayırıcı tanısında tümöre komşu alanlarda IGCNU varlığı, PLAP ve OCT3/4 ile pozitif boyanmanın izlenmesi solid tubuler patern de seminom lehinedir (27).

3) **Yüksek mitotik hızlı seminom:** Anaplastik seminom, atipik seminom olarak da bilinir (24). Anaplastik seminomlar 3 veya daha fazla sayıda mitoz gösteren klasik seminomlara göre daha agresif seyirli tümörlerdir. Anaplastik seminomların seyri ile ilişkili farklı görüşler ileri sürülmüştür. Bazı yazarlar evresi ne olursa olsun klasik seminomdan daha agresif olduğunu, diğerleri aynı evredeki klasik tümörden daha agresif olmadığını, ancak ileri evrede görülme olasılığının daha fazla

olduğunu ve klasik seminomla arasında bir prognostik fark olmadığını söylerler. Esas problem tanı kriterlerinin tanımlanmasıdır. Tüm seminomların % 80'inin her büyük büyütme alanında 3 ya da daha fazla mitozla sahip olması, bu kriterin yetersizliğini gösterir. Bu nedenle her büyük büyütmede 6 ya da daha fazla mitoz, nükleer hiperkromazi, nükleol boyutu, pleomorfizm ve nekroz gibi diğer kriterlerle birlikte olması gerektiği ileri sürülmüştür (16).

İmmünohistokimyasal boyamada seminom hücreleri PLAP ile %85-100 pozitifdir; nekrotik alanlarda da boyanma korunur; C-kit ve OCT3/4 ile boyanırken, inhibin, AFP, CD30 ile boyanma olmaz (24,27). Seminomlar vimentin, ferritin, anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) pozitiflerdir (16).

Ayırıcı tanıda;

-Lenfomalarda interstisiyel paternin varlığı, IGCNU olmaması, PLAP ile boyanma olmaz iken, LCA ile pozitif boyanma olması yardımcıdır (29).

-Yolk kesesi tümöründe kistik yapılar iyi sınırlı olup, kistin içi berrak sıvı ile doludur; ancak lenfosit yoktur. İmmünohistokimyasal olarak AFP ve sitokeratin ile pozitif boyanma olurken, OCT3/4 ile boyanma izlenmez (27).

- Embriyonal karsinoma benzer şekilde seminomda hücre membranı iyi sınırlı olmayan, yoğun eozinofilik, amfofilik sitoplazmalı, nükleer üst üste binme ve irregülerite gösteren hücreler izlenebilir. Embriyonal karsinomda sıklıkla CD30 ve sitokeratin pozitifliği saptanmaktadır (27).

-İdiopatik granülomatöz orşitten de ayrılmalıdır (29).

Primer tümörün boyutu, nekroz, vasküler yapılara, tunika vaginalis'e invazyon klinik evre ile ilişkili olup, relaps riskini artırır. Lenfoid stromanın yokluğu da kötü prognoza işaretler. Erken evre hastalarda yaşam süresi uzundur. Seminomlar radyosensitif tümörler olduğundan, erken evre hastalarda radyoterapi, takip ve kemoterapi uygulanabilirken, ileri evrede sadece radyoterapi tercih edilir (23, 24).

### **2.9.3.SPERMATOSİTİK SEMİNOM**

Spermatositik seminom, seminomun bir alt grubu değildir; ayrı bir histopatolojik antitedir. Tüm germ hücreli testis tümörlerinin % 1.2-4.5'ini oluşturur. Klasik seminoma göre daha yaşlı hastalarda ortalama 55 yaşında görülür. Bu tümör erkek gonadlarına sınırlıdır ve farklı bir görünüme sahiptir. Testisin diğer germ



hücreli tümörleri veya IGCN ile birlikteliği yoktur (4,24, 27,29). Diğer germ hücreli tümörlerin aksine testis dışında over, retroperiton, mediastinum gibi ekstragonadal bölgelerde görülmez (26). Kriptorşidizmi olan 79 vakalık seride hastalarda bu tümöre rastlanmamıştır. Çoğu unilateraldir. Metakron gelişen tümörler daha sık olarak bilateral görülebilir. Ayrıca hemen hiç metastaz yapmazlar (24).

Makroskopik olarak seminom vakalarının çoğu yumuşak, jelatinöz, miksoid ve hemorajik özelliklerin kombinasyonundan oluşmuş büyük soluk gri sarı renkli, multinodüler testiküler tümörler olarak görülür. Mikroskopik incelemede koheziv olmayan hücrelerin oluşturduğu solid tabakalardan ibarettir. Arada hemen hiç stroma bulunmaz veya çok az ve ödemli stroma vardır. Büyük büyütmede polimorfik yapıda 3 tip tümör hücresi karakteristiktir:

- a) Lenfosit benzer dar sitoplazmalı, hiperkromatik nükleuslu küçük hücreler,
- b) En sık görülen yuvarlak nükleuslu, spermatozite benzer ince kromatini bulunan, eozinofilik ya da amfofilik sitoplazmalı “intermediate” hücreler,
- c) Multinükleer hücreleri de içeren büyük çaplı poligonal hücreler görülür. Klasik seminomdan farklı olarak lenfositler genellikle yoktur; granüloamatöz reaksiyon da genellikle görülmez (4,16,24,29).

Spermatozitik seminomlar diğer kombine germ hücreli tümörlerde kullanılan immün belirteçler ve PLAP ile genellikle boyanmazlar, fakat %20'sinde PLAP ile izole hücrelerde ve küçük kümeler halinde pozitiflik izlenmiştir. C-kit immunoreaktivitesi görülebilir. AFP ve HCG negatiftir. Sitokeratinler ile pozitiflik görülebilir. Tedavide tek başına orşiektomi yeterli olup prognozları mükemmeldir (16,24,26,29).

### **2.9.3.1.Sarkomlu Spermatozitik Seminom**

Andiferansiye veya daha az olarak diferansiye sarkom ile birlikte olan spermatozitik seminomdur. 34-68 yaşları arasında görülür. Hastalarda yavaş büyüyen veya aylar içinde hızla büyüyen kitle gelişir. Hastaların % 5'inin tanı anında metastazı vardır. Tümör tipik olarak büyük ve çapı 25cm'nin üzerindedir. Kesit yüzeyi nekroz ve fokal miksoid alanlar içerir. Mikroskopik olarak sıklıkla belirgin pleomorfizm odakları görülür. Ortalama yaşam bir yıl olup çoğu hasta metastaz nedeni ile ölür (24).

#### 2.9.4. EMBRİYONAL KARSİNOM

Embriyonal karsinomun seyrek olarak görülen saf formu germ hücreli tümörlerin %2-10'unu oluşturur. Genellikle mikst tip germ hücreli tümörlerin bir komponenti olarak ortaya çıkan embriyonal karsinom mikst germ hücreli testis karsinomlarının %80'inden fazlasında bulunur. En sık görülme yaşı 30'dur. Saf formunda serum AFP düzeyi yükselmez (24,26,27).

Makroskopik incelemede testiste hafif veya orta derecede büyüme olur. Rete testis ve epididim içine lokal yayılım olabilir veya bu yapılar komşuluğunda tümör gelişimi sıktır. Tümör dokusu yumuşak, granüler, düzensiz sınırlı, gri-beyaz renkli kanama ve nekroz alanları içeren solid kitle görünümündedir. Bazen iyi sınırlı kist ve yarıklar içerebilir (24,26,27).

Mikroskopik incelemede tümör hücreleri andiferansiye epitelyal veya embriyonal görünümlüdür. Bunlar büyük poligonal veya bazen kolumnar şekilli, büyük irregüler çoğunlukla veziküler, bazen de hiperkromatik nükleuslu olabilir. Bir veya daha fazla sayıda büyük irregüler nükleol vardır ve nükleer membran düzgündür. Sitoplazma geniş, ince granüler görünümündedir; fakat berrak olabilir. Amfofilik, bazofilik, eozinofilik boyanabilir. Hücre sınırları belirsiz olup sıklıkla nükleer üstüste binme mevcuttur. Mitoz sıktır. Tümöral hücreler solid topluluklar, gland benzeri yapılar ve fibrovasküler stroma içeren papiller yapılar oluşturabilir (24,27). Solid formunda stroma değişkendir; tümörün periferinde daha yoğundur; sıklıkla fibröz yapıdadır. Arada dejenere görünümde hücreler bulunur. Solid paternde bu hücreler yanlışlıkla sinsityotrofoblast olarak değerlendirilir ve koryokarsinomla karışabilir. Hemoraji ile birlikte değilse, immunohistokimyasal çalışmada human koryonik gonadotropin (HCG) negatifliği ile ayırıcı tanı yapılır. Embriyonal karsinomun "çift tabaka" olarak isimlendirilen paterni, yassı şekilli neoplastik hücrelere paralel geniş hücre şeritleri şeklindedir. Bu yassı hücrelerde kuvvetli alfa-fetoprotein (AFP) pozitifliği, embriyonal karsinom ve yolk kesesi tümörü birlikteliğini destekleyen bir bulgudur (29).

Embriyonal karsinomda tümör hücreleri keratin (yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin ve CK19), CD30 ve fokal olarak PLAP, az sayıda hücrede AFP ile (+) boyanırlar. EMA, CEA, vimentin ve CD117 ile boyanma elde edilemez (16,24).

En önemli prognostik faktörü, klinik evresidir. Saf embriyonal karsinom ve damar invazyonu olan hastalar ileri evrededir. Saf tümör, mikst tümörde embriyonal karsinomu belirgin olan hastalar, teratomla ve/veya vasküler/lenfatik invazyonlu diğer tümörlerle birlikte olmayan embriyonal karsinom, ileri lokal evredeki hastaların yüksek risk grubunu oluşturduğunu gösteren araştırmalar, bunu desteklemektedir. Non-seminomatöz GHT olduğu için takip yapılır, diğer bir tercih radikal lenf nodu diseksiyonu veya kemoterapidir (23,24).

### **2.9.5. YOLK KESESİ TÜMÖRÜ**

Saf yolk kesesi tümörü erişkinde nadirdir; fakat çocuklarda en sık görülen testiküler germ hücreli tümördür. Ortalama yaş 1.5 olup, pediatrik grupta yaklaşık %70 sıklıkta en sık görülen testiküler germ hücreli tümördür (27). Erişkinlerde ise mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak ortaya çıkar ve non-seminomatöz germ hücreli tümörlerin % 40-50'sini oluşturur (27,29).

Makroskopik görünümü yaş gruplarına göre farklılık gösterir. Çocuklarda sarımsı kahverengi, homojen, solid, kesiti miksoid görünümde kistik alanlar da içerebilen nodül şeklindedir. Erişkinde genelde mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak görüldüğünden sıklıkla kanama, nekroz ve kistik alanlar içeren heterojen görünümde (16,29).

Yolk kesesi tümörünün endodermal sinüs (perivasküler), retiküler (mikrokistik, bal peteği), papiller, solid, glandüler/alveoler, miksomatöz, sarkomatoid, makrokistik, poliveziküler vitellin, hepatoid ve paryetal olmak üzere çok sayıda mikroskopik tipi tanımlanmıştır. Mikrokistik tip en sık görülmekle birlikte yolk kesesi tümörünün endodermal sinüs tipi en karakteristik olanıdır. Endodermal sinüs benzeri yapılar, glomeruloid cisimcik veya Schiller-Duval cisimciği olarak adlandırılır. Bu yapılar bazı kesit düzlemlerinde malign hücrelerle çevrilmiş fibrovasküler bir kor ile labirent tarzında anastomozlaşan ekstrasellüler boşluklar olarak şekillenir; buna "perivasküler patern" de denir. Hücreler berrak sitoplazmalı, nükleusu belirgin, küboidal-yassı endotele benzer görünür (24,26,27).

İntra ve ekstrasitoplazmik yerleşmiş PAS pozitif, bazısında immunohistokimyasal olarak AFP pozitif eozinofilik yuvarlak hiyalen globüller görülür (16). Mitoz sıktır. Solid patern seminoma benzer; ama hücreler seminom

hücrelerinden küçük ve pleomorfiktir. “Poliveziküler vitellin patern”, selüler ödematöz bir stroma içine dağılmış değişen büyüklüklerde kistlerin varlığı ile karakterlidir (26). Eğer hücreler eozinofilik ve hepatosit benzeri ise bu paterne “hepatoid patern” denir ve değişen derecelerde AFP pozitifliği gözlenir. “Glandüler-alveoler patern” nadir olmayarak görülür. Teratom benzeri immatür glandların belirginliği olabilir. Fakat diğer teratom komponentleri olmaksızın bu enterik patern olarak yorumlanır (4).

Yolk kesesi tümörlerinde %74-100’e kadar değişen oranlarda AFP pozitifliği saptanır. Olguların %50’sinde alfa-1-antitripsin pozitifdir. Düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin ile kuvvetli boyanma izlenir. EMA ve CD30 sıklıkla negatiftir (5,24).

Hastanın yaşı, klinik evresi, AFP seviyesi, lenfovasküler invazyon, prognozda önemli faktörlerdir. Non-seminomatöz tümörler gibi tedavi uygulanır (23, 24).

## **2.9.6.TROFOBLASTİK TÜMÖRLER:**

### **2.9.6.1. KORYOKARSİNOM:**

Koryokarsinom vakalarının % 1’inden daha azı testisin saf germ hücreli tümörü olarak, % 8’i ise mikst germ hücreli tümörün bir komponenti olarak görülür. Koryokarsinomlu hastalar genellikle 25-30 yaşları arasındaki gençlerdir. Saf formu, sıklıkla, testiste primeri görülmeden metastatik hastalık olarak ortaya çıkar. Hastalarda tipik olarak HCG seviyesi çok yükselmiştir. Leydig hücre hiperplazisi, jinekomasti, hipertiroidizm gelişebilir (4,24,29).

Makroskopik olarak tipik görünümü hemorajik nodül şeklindedir. Küçük çaplı neoplazmlardır ve testisi büyütmezler. Genellikle kanamalı ve kısmen nekrotiktirler. Nadiren primer tümör tam regrese olarak geriye sadece hemosiderin pigmenti içeren skar bırakabilir (16,29).

Mikroskopik olarak çeşitli oranlarda sinsityotroblastik, sitotroblastik ve “intermediate” troblastik hücrelerin karışımından oluşur. Bu hücreler çeşitli paternlerde organize olur; sıklıkla hemorajik ve nekrotik zemini vardır. Sinsityotroblastik hücreler sıklıkla multinükleer koyu eozinofilik ya da amfofilik sitoplazmalı, tipik olarak birkaç büyük, irregüler şekilli, hiperkromatik ve sıklıkla benekli görünümlü nükleus içerirler. Sitoplazmalarında, sıklıkla, eritrosit veya pembe sekresyon içeren bir lakün bulunur. Sitotroblastik hücreler soluk berrak

sitoplazmalı, tek, irregüler nükleuslu, bir veya iki belirgin nükleollüdür. 'Intermediate' trofoblastik hücreler eozinofilik berrak sitoplazmalı, tek nükleusludur; bunlar sitotrofoblastik hücrelerden büyüktür (4,24).

Sinsityotrofoblastik hücreler HCG için kuvvetli immunoreaktiftir. Sitokeratin-7 ile trofoblastik hücreler boyanır; fakat germ hücreli tümörün diğer komponentleri boyanmaz (16).

Koryokarsinomun prognozu, muhtemelen subklinik evrede gerçekleşen sistemik yayılımından dolayı, diğer germ hücreli testis tümörlerinin prognozuna göre daha kötüdür. Yüksek HCG seviyesi olan hastalar, daha kötü prognozludur (24).

**2.9.6.2.KORYOKARSİNOM-DIŞI TROFOBLASTİK TÜMÖRLER:** Bu grupta, monofazik koryokarsinoma ve plasental-bölge-trofoblastik tümörü bulunmaktadır (24).

### **2.9.7.TERATOM:**

Teratomlar testiküler germ hücreli tümörlerin sadece % 4'ünde saf tümörler olarak bulunmalarına karşılık mikst germ hücreli tümörlerin sık karşılaşılan bir komponentidir (27). İki yaş grubunda pik yapar: 1. Çocuklarda hayatın birinci ve ikinci yıllarında, 2. Genç erişkinlerde ise 20-40 yaşları arasında sık görülür. Çocukluk çağı testis tümörleri arasında yolk kesesi tümöründen sonra en sık görülen ikinci tümör olan teratom bu grupta genellikle saf matür teratom şeklinde ortaya çıkar. Bu yaşta % 24-36 arasında insidansı vardır. Sitogenetik bakımından diploiddirler; 46 XY normal karyotipe sahiptirler (24,29). Erişkinde ise saf matür teratom formu % 2.7-7 arasında oldukça nadirdir ve mikst testiküler germ hücreli tümörlerin % 47-50'sinde bulunur. Hiperdiploid veya hipotriploiddir. Sitogenetik anomali i(12p) sıklıkla bulunur. Prepubertal testiküler teratomlar benignedir; benzer morfolojiye sahip postpubertal testiküler teratomlar ise matürite veya immatüritesine bakılmaksızın maligndir (24,26,27,29).

Makroskopik görünümleri içerdiği komponentlerin matür ya da immatür olmasına göre değişiklik gösterir. Tümör nodüler ve serttir. Kesit yüzeyi gelişen doku tipine bağlı olarak solid ve kistik alanlar ile heterojen görünümündedir. Kıkırdak, kemik ve pigmente alanlar tanımlanabilir (24,26).

Mikroskopik olarak germinal tabakanın endoderm, ektoderm, mezoderm olmak üzere farklı elemanlarından gelişen birkaç doku içerir. En sık nöroglial doku, kıkırdak ve çeşitli tip epitelyal dokular olmak üzere tüm doku tipleri görülebilir. Matür teratomlar erişkinde diferansiye somatik tip dokulardan oluşur, fakat epitelyal ve mezenkimal komponentinde sıklıkla belirgin sitolojik atipi vardır. Erişkinde tümörde düzensiz gelişim, sitolojik atipi, yaygın mitoz, tümör komşuluğunda yaklaşık % 90 oranında IGCNU, yanı sıra testiküler atrofi sık görülürken; çocuklarda organoid gelişme hakimdir, sitolojik atipi, yaygın mitoz ve IGCNU izlenmez. İyi diferansiye matür doku keratinize ve nonkeratinize skuamöz epitel, nöral ve glandüler dokular içerir. Çocuklara özel olarak deri, respiratuvar, gastrointestinal ve genitoüriner sistemin organoid gelişimi izlenebilir. Tiroid dokusu nadirdir. İmmatür teratom tanısı için embriyonal ya da fetal gelişimin dokularını taklit eden immatür elemanların görülmesi gereklidir. Fetal tip doku ektoderm, endoderm ve/veya mezodermal dokuları içerir. Bunlar organoid gelişim gösteren primitif renal veya pulmoner dokuya benzer (4,24,26). İmmatür elemanlar nöro-epitel, blastematöz dokular, embriyonik tubuller ya da rabdomiyoblastik hücreler gibi yüksek gradeli immatür dokulardan oluştuğunda kolayca tanınabilmektedir. Düşük gradeli immatür elemanlar hiperselüler ya da miksomatöz hiposelüler mezenkimden oluşmaktadır (29).

Saf matür teratomlu postpubertal hastalarda teratomatöz ya da nonteratomatöz elemanlardan oluşan metastazlar gelişebilir (27). Teratom paratestiküler dokuya ve intra- ve ekstratestiküler damarlara invazyon gösterebilir (24).

Prognozda en önemli faktör, tümörün görüldüğü anda hastanın yaşıdır (16,24).

### **2.9.7.1. DERMOİD KİST**

Deri eklerini içeren keratinize skuamöz epitelle döşeli bir veya daha fazla kist içeren matür bir teratomdur. Diğer teratomatöz elemanları da içerebilir. Benignidir. Makroskopide içinde kıllarla karışık camcı macunu kıvamında amorf materyal bulunan tek bir kist olarak görülür. Mikroskopide keratinize stratifiye skuamöz epitelle döşeli kist duvarında ter bezi, silyalı ya da goblet hücresi içeren epitel, düz

kas lifleri, kemik, kıkırdak, tiroid, yağ dokusu, intestinal doku, mide epitel, tükürük bezi, fibröz doku, nöroglia ve pankreas bulunabilir. Spermatogenez sıklıkla normal devam eder ve intratubuler germ hücreli neoplazi izlenmez (4,24).

### **2.9.7.2. MONODERMAL TERATOMLAR**

Tek bir germ yaprağından gelişir; struma ovarii'ye identik struma testis, saf kartilajinöz teratom, epidermal kist olarak tanımlanabilir (24).

### **2.9.7.3. SOMATİK TİPTE MALİGNİTELİ TERATOM**

Germ hücre dışındaki hücrelerden gelişen malign tümördür. Primer veya metastatik germ hücreli tümörlerde oluşabilir ve en sık teratomlardan gelişir. Germ hücreli tümör çevresinde ileri derecede atipi gösteren somatik hücrelerin solid veya invaziv büyümesiyle karakterizedir. En sık gelişen somatik tip malignite kondrosarkom, osteosarkom gibi sarkomlardır; daha az oranda adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, nöroendokrin karsinom gibi karsinomlar görülür. Metastatik yerlerde gelişenler kötü prognozludur (4,24).

### **2.9.8. MİKST GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER (MGHT)**

Birden fazla germ hücreli tümörün farklı kombinasyonlarından meydana gelen tümörlerdir. Hemen her kombinasyon teorik olarak mümkündür. Yalnız spermatositik seminom, diğer germ hücreli tümörler ile birlikte görülmez. MGHT tüm germ hücreli testis tümörlerinin % 32-45'ini oluşturur. Ortalama görülme yaşı 30'dur, puberte öncesi nadirdir. AFP ve HCG sıklıkla yüksektir (4,24).

Makroskopik olarak testis büyümüştür, kesit yüzeyi heterojendir. Solid alanlar kanama ve nekroz içerir. Kistik alanlar teratomatöz yapılara tekabül eder (4,24).

Mikroskopik olarak germ hücreli tümörlerin çeşitli kombinasyonlarından oluşur. Tanıda tüm komponentlerin varlığı ve miktarı belirtilmelidir. Vakaların %47'si embriyonal karsinom ve teratom, % 41'i yolk kesesi tümörü içerirken % 41'inde ise sinsityotrofoblastik hücreler bulunur. En sık görülen kombinasyonlar embriyonal karsinom ve teratom (% 26), embriyonal karsinom ve seminom (%16) ve embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü ve teratomdur (%11) (4,5).

Mikst GHT'lerde vasküler/lenfatik invazyon nodal metastaz ve relaps riskini artırır. Primer tümörde embriyonal karsinom varlığı ve yüzdesi evre II hastalığı gösterir. Orşiektomiden sonra evre I hastalarda teratom ve yolk kesesi tümörün varlığı ise metastaz riskini azaltmaktadır (24).

## 2.10. KLİNİK

Testisin germ hücreli tümörleri sıklıkla testiste ağrısız büyüme şeklinde kendini gösterir. Testisin büyüme hızı değişebilir. Özellikle seminom dışı tümörlerde tanı anında testiste kitle olmadan metastaz yapabilirler. Oysa seminomlar uzun süre testiste sınırlı olup tanıdan önce boyutları artar. Retroperiton, akciğer ve mediastene metastazlar sıktır. Metastaz yerine göre hastalarda boynun solunda kitle, hemoptizi, dispne, abdominal kitle, sırt ağrısı sıktır. Jinekomasti ve memelerde hassasiyet görülebilir (3,16,30).

İntratestiküler lezyonların saptanmasında radyolojik olarak ultrasonografinin % 95'in üzerinde sensitivite ve spesifitesi vardır. Serum tümör belirteçlerinden AFP, normal olarak fetal yolk kesesi ve çeşitli dokularda sentezlenen glikoproteindir. AFP, tümörde seminom dışı bir komponent olduğunu gösteren güvenli bir işaretir. Bunun nedeni, seminomlarda yolk kesesi elemanlarının bulunmamasıdır. Sinsityotrofoblastik hücrelerden salınan HCG koryokarsinomlarda yüksek olmasına rağmen, seminom ve diğer germ hücreli tümörler sinsityotrofoblastik hücreler içerebildiğinden HCG sentezleyebilir. Mikst tümörlerde HCG ve AFP birlikte yükselebilir. Laktat dehidrogenaz (LDH) serumda sıklıkla artmıştır (3,16,30).

## 2.11. PRİMİTİF GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİN REGRESYONU

Testisin primitif germ hücreli tümörleri bazen dikkate değer bir fenomen olan spontan regresyon gösterir. Bu olayın patogenezi için ileri sürülen senaryo, klinik olarak görünür primer hastalığı olmaksızın metastatik hastalığı olan hastalarda, testiste önceki tümörün yerinde en azından bir "hayal"ın varlığıdır. Buna göre bu fenomenin klasik örneğinde mikroskopik olarak testiste invaziv neoplazm tanımlanamaz, fakat bunun yerinde oldukça yoğun sıklıkla hiyalin skar, bazen de tubul komşuluğunda IGCNU izlenir. Metastatik germ hücreli testiküler tümörden ölen hastaların %10'unda otopsi çalışmalarında "burnt-out" primer tümöre



rastlanmıştır. Skar formasyonu, intratubuler kalsifikasyonlar, IGCNU, lenfoplazmatik infiltrat, hemosiderin yüklü makrofajlar ve testiküler atrofi, regrese testiküler germ hücreli tümörün tanısını koyarken yardımcı bulgulardır. Ayrıca skar alanları çevresinde ve içinde yuvarlak hematoksifilik birikimler sık görülür. Bu hematoksifilik boyanan cisimcikler kalsiyum ve DNA içerir. Distrofik kalsifikasyonlu nekrotik tubuller, regresif tümöre işaret eder. Hematoksifilik boyanan cisimcikler regrese seminomda sık değildir; çünkü seminomda intratubuler nekroz beklenmez (4,27).

Spontan regresyona en sık koryokarsinomda rastlanır. Vakaların büyük kısmını oluşturan seminomda, embriyonal karsinom ve mikst germ hücreli tümörlerde de görülebilir. Bu tümörün işareti olarak intratubuler kalsifikasyon kümesi izlenir (27). Testiste izlenen tümörün metastazlarda saptanan tümörden farklı oluşu, regresyona uğrayan testis tümörlerinde sık görülen bir bulgudur. Metastatik embriyonal karsinomu olan hastanın testisinde sadece mikroskopik olarak seminom odakları ve skar alanları izlenebilir. Böyle vakalar, yapısındaki bir kısım elemanlar testiste persiste ederken dissemine elemanların regresyona uğradığı mikst germ hücreli tümörlerin temsilcisi olabilir. Primer tümörle metastazı arasındaki farklılık, başka bir açıklamaya göre, tümör tiplerinin transformasyonu ile açıklanabilir (4,27).

Makroskopik olarak testiste iyi sınırlı olmayan bir veya daha fazla skar odağı, teratoma ait glandları gösteren kistler ve sert kıvrımdak odakları izlenir (4).

İmmünohistokimyasal olarak regresyona uğrayan tümörde yolk kesesi elemanları, teratomatöz glandlar ve hepatoid hücrelerde AFP pozitiftir. Sinsityotrofoblastik hücreler de koryokarsinoma eşlik etsin veya etmesin, HCG ve diğer plasental laktojenler ile boyanmaktadır (27).

## **2.12. YAYILIM, PROGNOZ ve TEDAVİ**

Testis tümörlerinin ilk yayıldığı yer lokal olarak tunica albuginea'dır. Tunica albuginea penetrasyonu zor olan bir bariyerdir. Testis tümörlerinin çoğu mediastinum testis yoluyla epididim veya spermatik kord gibi paratestiküler yapılarla yayılır. Fakat bu oran % 10-15'i geçmez. Rete testis içine yayılım özellikle seminomlarda % 80'e ulaşmaktadır (4,16).

Lenfatik yayılım testis tümörlerinin tüm formlarında sıktır ve genellikle ilk olarak retroperitoneal, paraaortik nodlara, daha sonra mediastinal ve supraklaviküler nodlara yayılır. Hematojen yayılım primer olarak akciğere olur; fakat karaciğer, beyin ve kemikler tutulabilir. Daha önce de bahsedildiği gibi, bazen testis tümörünün metastazı primer tümörden farklı olabilir. Örneğin klasik seminomun metastazı klasik seminom olabileceği gibi embriyonal karsinom veya koryokarsinom olarak yayılabilir. Testiküler germ hücreli tümörlerin geç metastazı sıklıkla teratomatöz komponente sahiptir (16).

Seminomlar uzun süre testiste lokalize olarak kalma eğilimindedir ve büyük kısmı evre 1'dedir. Buna karşılık non-seminomatöz-TGHT'lü hastaların çoğu ileri evrede (evre 2 ve 3) görülür. Seminom metastazı tipik olarak lenf noduna olur. Hematojen yayılım daha geçtir. Non-seminomatöz-TGHT'ler hematojen yolu daha sık kullanırlar ve daha erken metastaz yaparlar. Koryokarsinom non-seminomatöz-TGHT'lerin en agresif davranan türüdür. Testiste büyümeye neden olmadan kan yoluyla ve hızla yayılabilir. Bu nedenle akciğer ve karaciğer tutulumu erkendir. Seminomlar radyoterapiye oldukça hassas iken non-seminomatöz-TGHT'ler nisbeten daha dirençlidir. Seminomlar ile karşılaştırıldığında non-seminomatöz-TGHT'ler biyolojik olarak daha agresiftirler ve genelde daha kötü prognoza sahiptirler. Testis tümörlerinin tedavisi ve prognozu, büyük ölçüde klinik evre ve histolojik tipine bağlıdır. Seminomlar uzun periyotlarda lokalize kalma eğilimindedir ve en iyi prognoza sahiptir. Evre 1 ve 2'deki hastaların % 90'ından fazlasında tam kür elde edilir. Non-seminomatöz tümörlerde alt tip prognozu belirgin etkilemez. Her ne kadar seminom kadar mükemmel prognoz göstermese de, % 80-85'i kemoterapi ile tam remisyona girer ve kür elde edilir. Metastazlı vakalarda kür oranı % 40-95'dir. Bu oranı pulmoner metastazın yaygınlığı belirlemektedir. Eğer sınırlı pulmoner metastaz varsa, hastaların % 40'ı radikal pulmoner irradyasyonla kurtarılabilir; ancak yaygın pulmoner hastalık kötü prognozludur. Non-seminomatöz-TGHT'lerin kemoterapisinde kaydadeğer bir yol alınmıştır. Kür evre 3 hastalıkta bile mümkündür, fakat koryokarsinom fatal bir hastalıktır. Yolk kesesi tümöründe ise prognoz doğrudan hastanın tanı anındaki yaşı ile ilişkilidir: İnfant ve çocuklarda prognoz mükemmeldir, yetişkinlerde ise diğer non-seminomatöz-TGHT'lere benzer (4,16,30).

Seminomlar radyosensitif tümörler olduğundan, erken evre hastalarda radyoterapi, takip ve kemoterapi uygulanabilirken, ileri evrede sadece radyoterapi tercih edilir. Non-seminomatöz GHT olduğu için erken evre hastalarda takip yapılır, diğer bir tercih radikal lenf nodu diseksiyonu veya kemoterapidir. İleri evrede radikal lenf nodu diseksiyonu ile kemoterapi veya takip yapılır, ya da sadece kemoterapi uygulanır (23,24).

### 2.13. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLER

Alkalen fosfatazlar alkalen pH'da etkili fosfat monoesterlerin hidrolizinde ve plazma membran transportunda görev alan fosfataz grubu enzimlerdir. Asit pH' da etkili olan asit fosfatazlar daha çok prostatta vardır. Alkalen fosfatazların ise farklı lokalizasyon, yapı ve fonksiyonda 4 izoformu vardır. Bunlardan dokuya spesifik olanlar plasental, intestinal ve germ hücrelerinde, dokuya nonspesifik olanlar karaciğer, kemik ve böbrekte bulunur. Böbrek ve ince barsak alkalen fosfatazları, membran enzimleridir. Kemiğin enzimi ise metabolizma enzimidir. Serumda daha çok kemik ve karaciğer kaynaklı enzimler bulunur. Patolojik durumlarda ise bunlara diğer enzimler de eşlik eder (7,31,32).

Plazma alkalen fosfataz düzeyi multilokus gen sistemi tarafından kodlanır. Dokuya spesifik olmayan alkalen fosfataz (TNAP) kromozom 1 band p36.1-p34'de lokalizedir. Dokuya spesifik olan alkalen fosfatazlar intestinal (IAP), plasental (PLAP) ve germ hücreli alkalen fosfataz (GCAP) 'ın tümü kromozom 2q37'de lokalizedir. TNAP, dokuya spesifik alkalen fosfatazlara % 50-60 homologdur. IAP, dokuya spesifik olan diğer iki alkalen fosfataza % 90 idendiktir. PLAP ve PLAP benzeri alkalen fosfataz olarak bilinen GCAP % 98 oranında birbirine benzer. PLAP ve GCAP arasında sadece 7 aminoasit farklıdır. TNAP ve IAP, PLAP ve GCAP'dan immünolojik olarak ayrılabilir (7,33).

Dokuya spesifik hücresel alkalen fosfatazlardan olan ısıya dirençli PLAP, aynı zamanda metalloenzimlerin bir subtipidir. Fizyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (6). Gebeliğin 12. haftasında sinsityotrofoblastlar tarafından sentez edilir. PLAP ve GCAP birbirine % 98 oranında benzerlik gösteren ve tümör gelişiminde rol alan izoenzimlerdir. GCAP primordial germ hücrelerinin ve gonositlerin migrasyonu sırasında salınır ve testisin germ hücreli tümörü olan

seminomda ve karsinoma in situ'da sentez ve salınımı artar. Bu hastalıkların klinik takibinde PLAP ve GCAP'ın serolojisi değerlendirilir (34,35).

Seminom ve embriyonal karsinomda PLAP salınımı belirgin oranda artar, dolayısıyla testiküler germ hücreli tümörün tanısında önemlidir. Serum alkalin fosfataz düzeyindeki artış ile hastanın klinik tanısı, takibi ve seyri arasındaki ilişki gösterilmiştir. Seminom ve embriyonal karsinoma ek olarak, PLAP karsinoma in situ'da da salınır, bu nedenle testiküler kanserlerin erken tanısında önemli bir belirleyici olarak kullanılır (7,36).

PLAP, Niehans ve ark. yaptığı 50'si mikst germ hücreli tümör olmak üzere testiküler germ hücreli tümörlerden oluşan toplam 121 vakalık bir seride, seminomlarda % 87, embriyonal karsinomlarda % 86, yolk kesesi tümöründe % 53, koryokarsinomda % 54 oranında boyanmıştır. Seminomda PLAP difüz boyanma gösterirken, diğer germ hücreli tümörlerde fokal boyanır. Boyama şekli sıklıkla kuvvetli membranöz tarzdadır, ama bazı hücreler granüler sitoplazmik boyanma gösterir. Seminom ve embriyonal karsinomdaki boyanma şekli, yolk kesesi tümörü ve koryokarsinomdaki boyanmaya göre birbirine daha çok benzer. On iki teratomun yalnızca birinde (% 8), PLAP sadece kolumnar epitelyal hücre ile dōşeli glandlarda sitoplazmik boyanma göstermiştir (33,37). PLAP testisin germ hücreli tümörü dışında ayrıca akciğer, meme, serviks, over, mide, kolon, rektum karsinomlarında da salınabilmektedir (35.38).

Kanser gelişiminin temelinde, hücreyi öldürmeyen genetik hasar esastır. Dokuda normalde protoonkogen, tümör baskılayıcı gen ve apoptozisi düzenleyen gen olmak üzere üç düzenleyici gen vardır. Genetik hasar veya mutasyon temel olarak bu düzenleyici genleri hedef alır. Protoonkogenler hücre siklusunda hücre yüzeyinde büyüme faktörü ve reseptörleri, sitoplazmada sinyal iletiminde, nükleer düzenleyiciler, büyüme faktörü ve reseptörleri şeklinde görev alırlar. Tümörlerde değişik protoonkogenlerde mutasyon ve/veya aşırı ekspresyon görülebilir. C-kit bir protoonkogen olup tümörlerde gösterdiği değişim çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (3,39).

C-kit protoonkogeni bir tirozin kinaz reseptörü olup, platelet derive büyüme faktörü (PDGF) ve stem cell faktör (SCF1) için reseptör ailesinin bir üyesidir. C-kit hücre dışında immünoglobülin benzer tekrarlayıcılar, transmembran, jukstamembran

bölgesi, tirozin kinaz 1-2 bölgesi ile ilişkilidir. KIT için esas ligand SCF'dir. Bu liganda bağlanması ile fosforile olup aktive olur. Farklı hücrelerde çeşitli transkripsiyon faktörleri ile fosforilasyon yolu aktive edilebilir. Böylece hücrenin adezyonu, kemotaksisi, proliferasyonu, diferansiyasyonu ve apoptozun regülasyonu aktive olur. Anti-apoptotik proteinleri ve hücre proliferasyonunu aktive ederek etki gösterir (11,12,39).

Normal dokuda SCF-KIT sistemi melanosit, eritrosit, mast hücresi, Cajal'ın interstisiyel hücreleri ve germ hücrelerinin gelişiminde kritik rol oynar. C-kit geninde mutasyon, bu hücrelerden gelişen tümörlerde tanımlanmıştır. Ayrıca deri eklerinin bazal epitel hücreleri, ter bezlerinin gland epiteli, memenin duktal epiteli ve serebellar nöronlarda da normalde KIT pozitifliği izlenir. Dokuda normalde negatif kontrol, düz kas ve lenfoid doku elemanlarıdır. C-kit ekspresyonu normalde bulunduğu hücrelerden gelişen tümörlerde artmış olarak izlenmesine rağmen, bazı organ sistemlerinden gelişen tümörlerde azalmış olarak izlenebilir. Memenin duktal epitelinden köken alan tümörler buna örnektir (11,39) .

C-kit mutasyonu esas olarak mast ve miyeloid seri hücrelerinden gelişen mastositoz, akut miyeloid lösemi, gastrointestinal traktın Cajal hücrelerinden gelişen gastrointestinal stromal tümörlerde, germ hücrelerinden gelişen seminomda görülmektedir. C-kit pozitifliği anjiosarkom, Ewing sarkom, sinovyal sarkom, leiomyosarkom, malign fibröz histiositom gibi sarkomlarda da değişen oranlarda izlenmektedir. Ayrıca akciğer ve diğer organlarda gelişen küçük hücreli karsinomda, tükrük bezinin adenoid kistik karsinomunda, böbreğin kromofob karsinomunda, çok seyrek olarak over ve meme karsinomlarında C-kit ekspresyonu artar (11,12,39,40).

Testiste germ hücrelerinin gelişiminde C-kit geni temel rol oynar. C-kit erkek gonadında embriyogenez ve postnatal gelişim sırasında tanımlanabilir. Prolifere spermatogonyalar, Sertoli hücrelerinde ve interstisiyel Leydig hücrelerinde de bulunur. Testisin farklı gelişim dönemlerinde germ hücre proliferasyonunda etkili olması nedeniyle erkek infertilitesinde anahtar rol oynar. İnfertil erkeklerde C-kit ekspresyonu azalmış olarak bulunur. Erkek infertilitesinde SCF/C-kit sisteminin potansiyel rolüne ilaveten, bu sinyalizasyon sisteminin testiküler kanserlerde de varlığı anlaşılmıştır (12,41,42).

Testiküler germ hücreli tümörler arasında, KIT membranöz ekspresyonu, seminomlarda oldukça yüksek oranlarda izlenmiştir. Buna karşın, non-seminomatöz tümörlerde ekspresyon ya çok düşük orandadır, ya da hiç ekspresyon görülmez. Bu sonuçlara bağlı olarak seminomatöz ve non-seminomatöz tümörlerin ayırımında kullanılan immün belirleyicilerin en önemlilerinden biridir (12,39,42,43).

Testisin germ hücreli tümörlerinin prognozu klinik evre ve tümörün histolojik tipine bağlıdır. Evre I'deki hastalarda histolojik tipin yanı sıra, tümör çevresi vasküler invazyon ve lenfatik invazyon, tümör boyutu önem taşımaktadır. Ayrıca metastatik hastalıktaki prognostik risk faktörleri ise metastazın lokalizasyonu, tümör belirleyicilerinin yüksek olması ve akciğer-dışı organ ve dokularda da metastazın varlığıdır. Histolojik olarak non-seminomatöz TGHT'ler seminomlara göre daha kötü prognozludur. Birçok risk faktörü tanımlanmasına rağmen testis tümörlerinde tümörün biyolojik davranışını belirlemek için çeşitli ek yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Tümör proliferasyon indeksi olarak bilinen Ki-67, bunlardan biridir ve testiküler germ hücreli tümörlerin prognozunu belirlemede kullanılmaktadır (8,16,21).

Ki-67, 395 kD ağırlığında büyük bir proteindir. Orijinal antikor bu proteine karşı gelişir. Diğer antikorlar için prototip olan Ki-67'nin MIB-1 (Molecular Immunology Borstel), MIB-5 ve TEC-3 olarak çeşitli epitopları tanımlanmıştır. Yapısı oldukça kompleks olup, nükleus içinde spesifik bir lokalizasyonu vardır. Hücre siklusunun G1, S, G2, ve M fazında eksprese edilir. Mitoz sırasında nükleolustan perikromozomal bölgeye taşınır (8,44,45).

Ki-67'nin fonksiyonu henüz bilinmemekle birlikte hücre proliferasyonunda temeldir. Erken G1 fazında sentromerik ve satellit DNA içeren ektranükleoler bölgedeki lokalizasyonundan dolayı pKi67'nin DNA organizasyonunda rol aldığı ileri sürülmektedir. Aynı zamanda DNA ve RNA'ya bağlanması, diğer proteinlerle kompleks bir etkileşim göstermesi, bu proteinin nükleolus içinde yapısal ve gelişimsel rolü olduğunu düşündürmektedir. Hücre bölünmesi esnasında, ribozom sentezinde esas faktördür. Ribozomun fonksiyonu olan protein sentezinin hızı ile Ki-67 ekspresyonunun korele olduğu doğrulanmıştır (45).

Ki-67'nin çeşitli malign tümörlerde ve prekanseröz hastalıklardaki prognostik önemi bugün oldukça iyi bilinmektedir: Meme kanseri, yumuşak doku tümörleri,

akciğerin yassı hücreli karsinomu ve adenokarsinomu, astrositom, meninjiomda prognoz belirleyici olarak kullanılmaktadır (46). Fakat kolorektal karsinomlarda prognoz ile proliferasyon indeksi arasında ilişki izlenmemiştir. Testisin germ hücreli tümörlerinde de Ki-67 indeksi hastaların risk grubunu belirlemek için kullanılmıştır (45,47,48).

Malign bir tümörün benign tümörden ayrımında en önemli kriter tümörün invazyon ve metastaz yapabilmesidir. Bir tümör hücresinin metastaz yapabilmesi için kohezyon kaybı göstererek diğer malign hücrelerden ayrılması, ekstrasellüler matrikse tutunup parçalaması, damar ve lenfatik sistem içine girdiğinde konakçının immün sisteminden kaçabilmesi önemlidir (3,49). Ekstrasellüler matriksin parçalanması ayrıca gelişim, büyüme ve doku tamiri gibi fizyolojik birçok olayda temel rol oynar. Ekstrasellüler matriksin yıkımı çeşitli hücrelerden salınan proteinazların etkisiyle başlar. Proteinazların metallo-, serino-, aspartik-, sistein-proteinazlar şeklinde çeşitli tipleri vardır. Özellikle metaloproteinazlar tümör invazyonunda anahtar rol oynamaktadır (9,50).

Matriks metalloproteazların tümü çok geniş bir spektrum gösterir. Normal ve malign hücrelerin çoğunda saptanırlar. MMP'lar ekstrasellüler matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu bir grup çinko bağımlı endopeptidlerden oluşur. MMP, tümör invazyonu, metastaz ve anjiogenezde ekstrasellüler matriksin yıkımını kontrol eder ve farklı hücrelerden köken alan malign hücrelerin invazyonu ve metastazı sırasında salınımı artar. MMP'ların kollajenaz, stromelizinler, jelatinazlar, membran-tip-MMP ve diğerleri olmak üzere çeşitli subtipleri vardır. Kollajenaz-1, MMP-1 olarak bilinir (9,50).

Kollajenaz-1, fibroblast kollajenaz ve interstisiyel kollajenaz olarak da bilinen MMP-1 normal dinlenme sürecinde dokularda az miktarda bulunabilir. Fakat in vitro olarak fibroblast, keratinosit, kondrosit, monosit ve makrofajlarla hepatositlerde ve çeşitli tümör hücrelerinde eksprese edilir. MMP-1 esas olarak fizyolojik ve patolojik dokunun şekillenmesinde rol alır (9,51).

MMP-1, polipeptid yapısında bir proenzim olarak salınır. MMP-1 normalde dokuda düşük seviyede bulunur. Yara iyileşmesi ve tamir vb. gibi çeşitli patolojik durumlarda, yeniden şekillenme gerektiğinde seviyesi artar. Bu artış büyüme

faktörleri, hormonlar, sitokinler tarafından regüle edilirken, metaloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP-1) ve alfa-makroglobulin tarafından inhibe edilir (10,51).

MMP-1 ve TIMP-1'in sekresyonu çeşitli sitokinler ve büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır. MMP-1'in sekresyonu epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), hepatosit büyüme faktörü, granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), transforme edici büyüme faktör-alfa (TGF-alfa), interferon alfa, beta, gama, platelet derive edici faktör (PDGF), interlökin (IL)-1,-4,-5,-6,-8 ve -10 gibi sitokinler tarafından stimüle olur. Seks hormonu olan progesteron MMP-1, MMP-3, MMP-7'yi inhibe, TIMP-1 ve TIMP-2 salınımını stimüle ederek, ekstrasellüler matriksin regülasyonunda etki gösterir. Transforme edici büyüme faktörü (TGF)-beta, vitamin A'dan türeyen retinoik asitler ve sentetik retinoidler, MMP-1 transkripsiyonunu suprese ederler. TGF-beta, TGF $\beta$ -inhibitör elementi (TIE) vasıtasıyla etkisini gösterir. Bu elementteki mutasyon ile hem bazal, hem de doku polipeptid antijeni anlamlı şekilde artar, böylece fibroblastlarda MMP-1 gen transkripsiyonu sağlanır, bu ise TIE'nin bu hücrelerde MMP-1'in konstitütif repressörü gibi rol oynayabileceğini düşündürür (10,51).

MMP'lardan sadece MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-14 üçlü helikal yapıdaki fibriler kollajeni parçalayabilir. İlaveten, aggrecan, versican, perlecan, casein, nidogen, serpins ve tenascin-C'yi kapsayan diğer matriks molekülleri MMP-1 için substrattır. Bundan dolayı MMP-1 ekstrasellüler matriksin yeniden şeklenmesinde çok önemli bir rol oynar. MMP-1'in ekstrasellüler matriks depolarından onları serbest bıraktırmak suretiyle biyolojik aktif moleküllerin fonksiyonunu regüle edebilmesi de önemlidir; mesela perlecan'ın parçalanması ile MMP-1 bağlı FGF'yi serbest bırakabilir (51).

Son yıllarda MMP-1'in hücre yüzey molekülleri ve diğer matriks dışı substratları ayırıp uzaklaştırabilme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Bunlardan bazıları, antikemotripsin, antitripsin, insülin-büyüme faktörü bağlayıcı protein (IGFBP)-3, IGFBP-5, IL-I $\beta$ , ovostatin, tümör-nekroz-faktör- $\alpha$  ve stromal hücre-derive faktör-1'dir. Bu geniş aile, MMP-1'i multifonksiyonel bir molekül olarak tayin etmiştir. Mesela, MMP-1, yüksek afiniteli IGF bağlayan IGFBP'leri degrade etmek yönündeki yeteneğinden dolayı insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)'ün regülasyonuna katılabilir. Benzer şekilde, MMP-1, epitelyal hücrelerin spesifik



hareketine dayanan epitelyal morfogenezde önemli rol oynar gözükmektedir. Böylece kollajen-1'e keratinosit migrasyonu, kollajenazlarla kollajen molekülünün spesifik ayrışmasını gerektirir. Alveolar epitel hücreleri tarafından insan MMP-1'inin akciğere spesifik ekspresyonunun, bu enzimin üst-regülasyonunun sigaraya bağlı amfizemde görülenlere benzer amfizematöz değişikliklerin gelişimini provoke ettiği, yani bu hastalığın gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (50,51).

MMP-1 salınımı çeşitli karsinomlarda artmaktadır. Özellikle kolorektal ve özofagus kanserinde MMP-1 artışı, tümörün kötü prognozlu olduğunu gösteren önemli bir bulgudur (9,50,52).

MMP-1'in testis tümörlerinde yapılan çalışması çok azdır. Fakat bazı peritubuler hücrelerde, testiküler kord içinde ve kısmen Sertoli hücrelerinde seyrek izlenmiştir. Matriks metaloproteinazlardan MMP-1 ve MMP-9'un seminom hücrelerinde regülasyonunun arttığı izlenmiştir. Ayrıca testisin diğer germ hücreli tümörlerinde de çeşitli MMP'ların arttığı saptanmıştır. Seminom ve diğer germ hücreli tümörlerde MMP'ların artışı, tümörün metastaz yapma kabiliyeti ile doğru ilişkilidir (10,25,52).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan, Ocak 1983 ve Ekim 2006 tarihleri arasında testiste germ hücreli tümör tanısı alan, tümü orşiektomi materyali olan ve parafin bloklarına ulaşılabilen 49 olgu çalışma kapsamına alındı. Üç olgunun parafin blokları boyama ve değerlendirme yapmak için kesilemedi. Dolayısıyla çalışmaya alınamadı.

Seçilen olgulara ait %10'luk formaldehit solüsyonu ile tesbit edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklardan elde edilen Hematoksilin-Eozin (H-E) boyalı preparatlar, önceki tanılarına bakılmaksızın retrospektif olarak tümörün histolojik tipi, tümör komşuluğunda intratubuler germ hücreli neoplazi, rete testis, epididim, tunica albuginea, spermatik kord ve damar invazyonu primer tümör evrelemesi yapabilmek için değerlendirildi. Materyal ve raporlarda lenf nodu diseksiyonu, metastaz, serum belirleyicileri olmadığı yada belirtilmediğinden tam bir patolojik/klinik evrelendirme yapılamadı. Tümörün histolojik tiplendirilmesi için 2004 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan DSÖ sınıflandırması kullanıldı. MGHT'lerin komponentleri için yüzde oranları verildi. Fakat daha sonra eski yıllarda alınan materyaların materyalin tümörün büyük kısmını ve/veya tamamını yansıtmadığı için ve bu oranlamanın doğru sonucu vermeyeceği düşünülerek çalışma kapsamına alınmadı. Tümörde intratubuler germ hücreli neoplazi değerlendirmesi difüz, fokal, izlenemiyorsa negatif olarak üç gruba ayrılarak yapıldı. Rete testis, epididim, tunica albuginea, damar spermatik kord invazyonu varsa pozitif, yoksa negatif olarak değerlendirildi. Çalışmadaki olguların yaşı, testiste yerleşim yerine ait bilgiler patoloji raporlarından elde edilmiştir.

İmmünohistokimyasal inceleme için çalışma grubuna ait her olgunun histolojik değerlendirmesini en iyi yansıtacak şekilde nekroz içermeyen, tümörün komşuluğunda varsa IGCNU veya seminifer tubul içeren preparatlar seçildi. Bu preparatların parafin bloklarından 3µm kalınlıkta kesitler yapılarak polilizin-L ile kaplı lamlara alındı. Daha sonra bunlara, hücrel alkalen fosfatazlardan PLAP (Mouse Monoclonal Antibody, Clone RTU-PLAP-8A9, Novocastra, England, 2006), tirozin kinaz reseptörü olan C-kit (Mouse Monoklonal Antibody, Clone RTU-CD117-T595, Novocastra, England, 2006), bir proliferasyon belirleyicisi olan Ki-67 (Mouse Monoclonal Antibody, Clone RTU-Ki67-MM1, Novocastra, England, 2006),

matriks metalloproteinazlardan MMP-1 (Rabbit Polyclonal Antibody, Clone Ab-6, Cat.#RB-1536-R7, Neomarkers, 2006) antikoru ile avidin biyotin peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Pozitif kontrol olarak PLAP ve MMP-1 için plasenta, C-kit için apendiks vermiformis, Ki67 için ise tonsil dokusu kesitleri kullanıldı.

### **Boyama yöntemi:**

Boyama işlemi nemlendirilmiş, ısısı 24°C'ye kadar çıkarılmış, ıslak zeminli laboratuvar ortamında uygulandı.

1- Formaline fikse edilen ve parafine gömülü bloklarından 3µm kalınlığında hazırlanan doku kesitleri önce 65°C'de bir gece etüvde bekletildikten sonra 50°C'de 30 dakika süreyle ksilende deparafinize edildi.

2- Bu işlemten sonra sırasıyla 5'er dakika % 80-90-96'luk alkollerden geçirilerek dehidrate edildi.

3- Dokular dehidratasyon işleminden sonra sırasıyla 5 dakika distile suda ve 10 dakika PBS (Phosphate-Buffer-Salin) solüsyonunda yıkandıktan sonra antijen geri kazanımı için % 3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda bekletildi.

4- PBS solüsyonunda 10 dakika tutulduktan sonra, dokudaki antijenleri daha iyi ortaya çıkarabilmek için kesitler mikrodalga fırında 5 dakika yüksek ısıda, bunu takiben 2 kez 10'er dakika süreyle orta derece ısıda kaynatıldı. Kaynatma solüsyonu olarak PLAP ve MMP-1 için pH 6.5, Ki-67 için pH=8.6, C-kit için ise pH=8.8 olan EDTA tamponu kullanıldı.

5- PBS solüsyonunda 10 dakika bekletilen kesitlere U-V blok ile 20 dakika inkübasyon uygulandı.

6- PBS solüsyonundan geçirilen preparatlar, kullanıma hazır solüsyonları olan C-kit, MMP-1, PLAP, Ki67 ile 2 saat oda ısısında ve nemli ortamda inkübe edildi. Takiben 10 dakika PBS'te tutuldu.

7- Bağlayıcı solüsyon (Link) ile 15 dakika oda ısısında inkübasyon yapıldı. Takiben 10 dakika PBS te tutuldu.

8- Streptavidin-Peroksidaz (Label) ile 15 dakika oda ısısında inkübasyon yapıldı ve 10 dakika PBS'te tutuldu.

9- Son olarak substrat kromojen karışımı ile 5-10 dakika bekletilerek yapılan renklendirme işlemi için bir damla AEC kromojen ile 2 ml hidrojen peroksitli

substrat tamponu karışımından oluşan solüsyon ile 20 dakika oda ısısında inkübasyon işlemine geçildi.

10- Zıt boyama için bir dakika süreyle Mayer'in hematoksilen'inin kullanıma hazır formu uygulandı. Takiben distile sudan geçirildi. Doku kurutuldu ve immün kapama ile kapatıldı.

### **Değerlendirme:**

PLAP ekspresyonunu değerlendirirken membranöz ve sitoplazmik boyanma esas alındı. Tümör hücrelerinde boyanma yoksa (-), % 25'inden az boyanma varsa fokal (+), % 25-75 arası boyanma varsa (+) , % 75'inden fazla boyanma varsa difüz (+) olarak kabul edildi (36).

C-kit ekspresyonu değerlendirirken membranöz ve stoplazmik boyanma esas alındı. Tümör hücrelerinde boyanma yoksa (-), % 1-10 arasında boyanma varsa (+), % 11-50 arasında boyanma varsa (++), % 50'den fazla boyanma varsa (+++) olarak kabul edildi (43).

Ki-67 ekspresyonunu değerlendirirken nükleer boyanma esas alındı. Tümörün her histolojik tipi için, boyanmanın en yoğun olduğu 5 farklı büyük büyütme alanındaki tümör hücrelerinin, boyalı tümör hücrelerine oranı verildi. Boyanmanın en yüksek olduğu alan esas alınarak yüzde oranı verildi (11).

MMP-1 boyası değerlendirirken tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanmanın yoğunluğu ve miktarı esas alındı. Buna göre boyanma yoksa (-), soluk boyanma varsa (+), belirgin boyanma varsa (++), yoğun boyanma varsa (+++) olarak değerlendirildi (10).

Elde edilen immünohistokimyasal bulgulardan tanısal belirleyiciler olan PLAP ve C-kit tümörlerin histolojik tipleri ve IGCN ile, prognozu etkileyeceği düşünülen MMP-1 ve Ki-67 ise tümörlerin histolojik tipi ve primer tümör evresi ile karşılaştırıldı. Çalışmanın verileri SPSS (versiyon 10.0) programına yüklenerek verilerin istatistiksel değerlendirmesinde kullanılan Kruskall- Wallis testi, Man-Whitney U testi, Khi-kare ve iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testleri uygulandı. Veriler tablolarda aritmetik ortalama,  $\pm$ standart sapma, denek sayısı ve yüzdesi şeklinde belirtilip, yanılma düzeyi 0.05 olarak alındı.

**BULGULAR:**

Çalışmaya alınan 49 germ hücreli tümör olgusunun yaşları 2-63 arasında olup yaş ortalaması  $31,20 \pm 12,17$  olarak bulunmuştur.

Çalışmayı oluşturan olguların hasta dosyası ve patoloji raporlarından elde edilen yaş ile bu olgulara ait hematoksilen-eozin boyalı preparatların yeniden incelenmesi sonucu tümörün histolojik tipi, tümör komşuluğunda intratubuler germ hücreli neoplazi varlığı, primer tümör (pT) yönünden saptanan rete testis, epididim, tunica albuginea, damar, spermatik kord invazyon değerleri, protokol numaralarıyla birlikte tablo halinde verilmektedir (Tablo-4.1).

**Tablo-4.1.** Olgulara ait protokol, yaş, tümör tipi, IGCNU, pT (invazyon) özellikleri

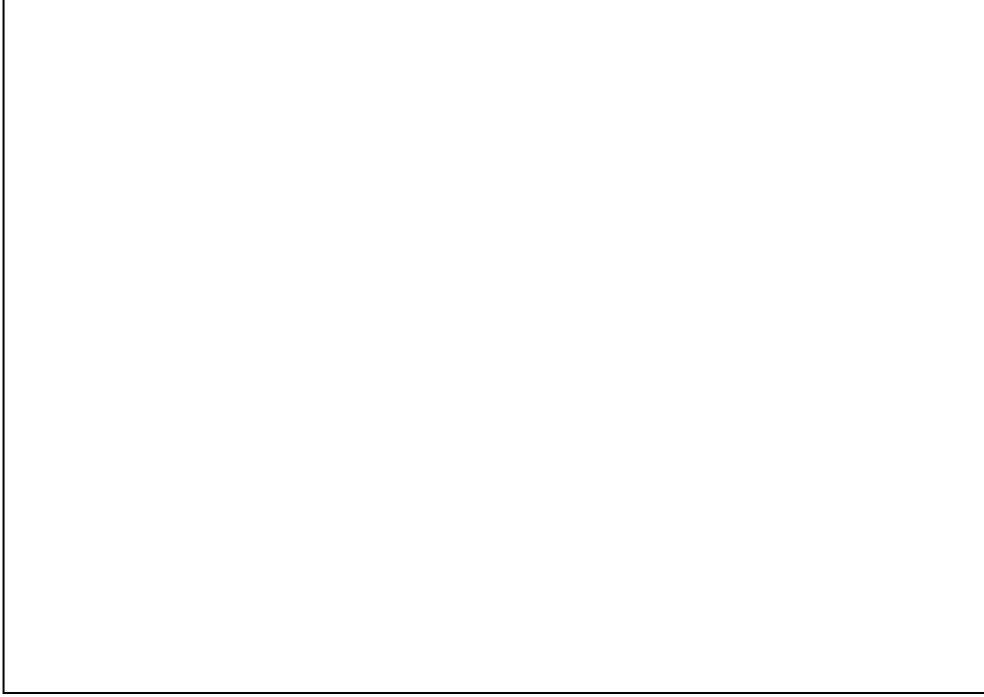
Olgu No	Protokol No	Yaş	Tümör Tipi	IGCNU	Rete testis invazyonu	Epididim invazyonu	Tunica albuginea invazyonu	Damar invazyonu	Spermatik kord invazyonu	Primer Tümör (pT)
1	344/83	45	Emb. Ca	-	*	*	*	-	-	pT1
			YKT							
2	1091/83	18	Emb. Ca	-	*	+	*	-	*	*
			YKT							
			Teratom							
3	1761/83	20	Emb. Ca	*	*	*	*	-	*	*
			YKT							
4	386/87	28	Emb. Ca	Fokal+	*	*	*	-	*	*
5	3086/87	50	S.Seminom	*	*	*	*	-	*	*
6	1625/88	45	Seminom	-	*	*	-	-	*	*
7	2642/88	54	Seminom	-	-	*	-	-	*	*
8	1898/89	35	Seminom	*	*	*	*	-	+	pT3
9	2119/89	26	Seminom	Difüz+	+	-	-	-	-	pT1
10	193/91	28	Emb. Ca	*	*	*	+	-	*	*
			YKT							
			Teratom							
11	383/91	37	Emb. Ca	Fokal+	-	-	-	+	-	pT2
12	475/91	43	Seminom	Fokal+	*	*	+	+	*	*
13	1541/91	50	Seminom	*	+	-	*	-	*	*
14	2957/93	40	Seminom	Difüz+	+	-	+	+	-	pT2
15	3119/93	21	Seminom	*	+	+	+	+	-	pT2
16	660/94	26	Seminom	Difüz+	-	-	*	-	-	pT1
17	2643/94	33	Seminom	Difüz+	+	-	-	+	-	pT2
			Emb. Ca							
18	2068/95	31	Seminom	Fokal+	-	-	-	-	-	pT1
19	2581/95	51	Seminom	Fokal+	+	-	-	-	-	pT1
20	3471/95	30	Seminom	Fokal+	-	+	-	-	-	pT1

Tablo 4.1 devamı										
Olgu No	Protokol No	Yaş	Tümör Tipi	IGCNU	Rete testis invazyonu	Epididim invazyonu	Tunica albuginea invazyonu	Damar invazyonu	Spermatik kord invazyonu	Primer Tümör (pT)
21	125/96	43	Seminom	Fokal+	*	*	-	-	-	pT1
22	1272/97	33	Seminom	-	-	-	-	-	-	pT1
			Emb. Ca							
			Teratom							
23	2923/97	33	Seminom	-	-	-	-	-	-	pT1
24	3562/97	24	Emb. Ca	-	*	*	-	-	-	pT1
			Teratom							
25	3982/97	32	Seminom	*	-	+	-	-	-	pT1
26	4312/97	2	Teratom	-	-	-	-	-	-	pT1
27	3195/98	20	Seminom	-	*	*	-	-	-	pT1
			Emb. Ca							
			YKT							
			Teratom							
28	5314/98	22	Seminom	Fokal+	-	*	*	*	-	*
			Emb. Ca							
29	633/99	36	Seminom	*	-	+	-	-	-	pT1
30	990/99	33	Seminom	Fokal+	-	+	-	+	-	pT2
31	940/01	33	Seminom	Fokal+	-	-	+	+	+	pT3
			Emb. Ca							
32	1037/01	63	S.Seminom	-	+	+	-	+	+	pT3
33	1213/01	2	YKT	-	-	-	-	-	-	pT1
34	3001/01	26	Emb. Ca	Fokal+	-	-	-	+	+	pT3
			YKT							
35	1140/02	42	Seminom	Fokal+	-	-	-	+	+	pT3
36	1607/02	48	Seminom	*	*	*	*	*	*	*
37	1840/02	26	Emb. Ca	-	-	-	-	+	-	pT2
			YKT							
			Teratom							
38	2783/02	27	Seminom	Difüz+	-	-	-	+	-	pT2
			Emb. Ca							
			YKT							
39	3469/02	17	Seminom	Difüz+	*	-	-	+	-	pT2
			Emb. Ca							
			EST							
			Teratom							
40	351/04	24	Emb. Ca	-	-	-	-	-	-	pT1
			YKT							
			Teratom							
41	1396/04	20	Emb. Ca	-	-	-	-	-	-	pT1
			YKT							
			Teratom							
42	2829/04	24	Emb. Ca	Difüz+	-	-	-	+	-	pT2
			Teratom							
43	150/05	28	Seminom	Fokal+	-	-	+	+	-	pT2
			Emb. Ca							
			Teratom							

Tablo 4.1 devamı										
Olgu No	Protokol No	Yaş	Tümör Tipi	IGCNU	Rete testis invazyonu	Epididim invazyonu	Tunica albuginea invazyonu	Damar invazyonu	Spermatik kord invazyonu	Primer Tümör (pT)
44	618/05	25	Emb. Ca	-	-	-	-	+	-	pT2
45	2534/05	30	Seminom	Fokal+	+	-	-	+	-	pT2
			Emb. Ca							
46	3138/05	20	Seminom	Fokal+	+	+	+	-	-	pT1
			Emb. Ca							
47	5347/05	37	Seminom	Fokal+	+	+	+	+	-	pT2
48	5647/05	25	Emb. Ca	Difüz+	-	-	-	+	-	pT2
			Teratom							
49	4271/06	26	Emb. Ca	Difüz+	-	-	-	-	-	pT1
			YKT							
			Teratom							

Emb. Ca:Embriyonal Karsinom, YKT: Yolk Kesesi Tümörü , S.Seminom: Spermatositik Seminom  
 \* : Değerlendirilemedi, +: var - :yok

Çalışmada toplam 49 hasta mevcut olup bununun 27'si (% 55) saf germ hücreli, 22'si (% 45) ise mikst germ hücreli tümör içermektedir. Tümör komşuluğunda IGCNU (**Resim 4.1**) 41 olguda izlendi. Saf ve mikst tümörler birlikte incelendiğinde seminom 30 (% 37) (**Resim 4.2**), embriyonal karsinom 25 (% 30) (**Resim 4.3**), yolk kesesi tümörü 13 (% 15.5) (**Resim 4.4**), teratom 14 (% 15.5) (**Resim 4.5**) ve spermatositik seminom 2 (% 2) (**Resim 4.6**) olguda tesbit edildi.

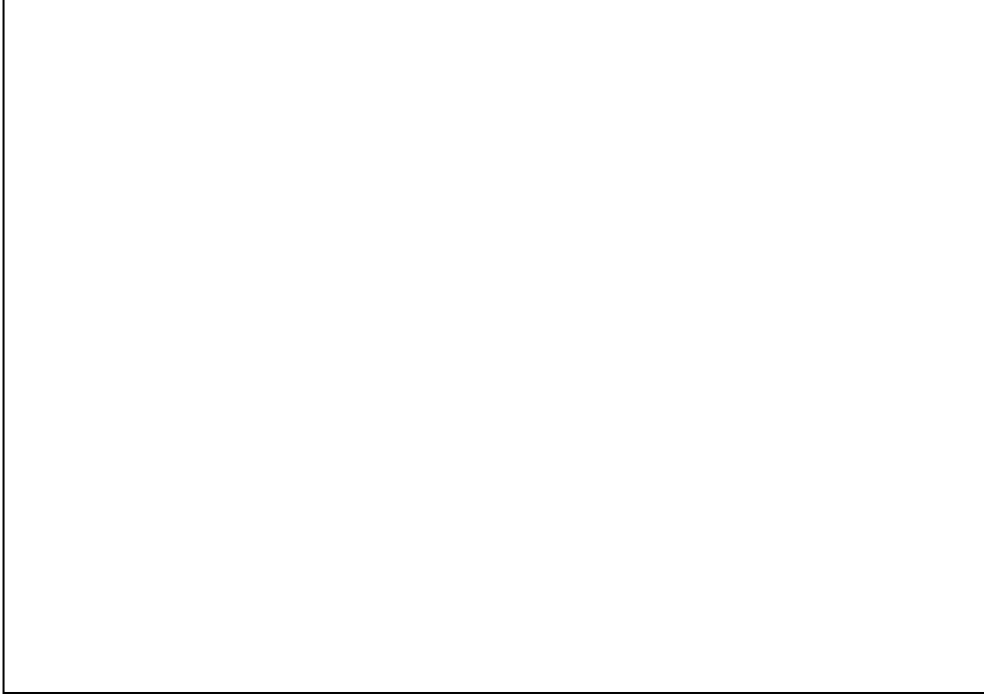


**Resim-4.1.** Testiste tümör komşuluğundaki spermatogenez olmayan seminifer tubullerin duvarında hiyalinizasyon ve kalınlaşma, lümeninde tek sıralı atipik malign germ hücrelerinden oluşan IGCNU (H&E; x25)

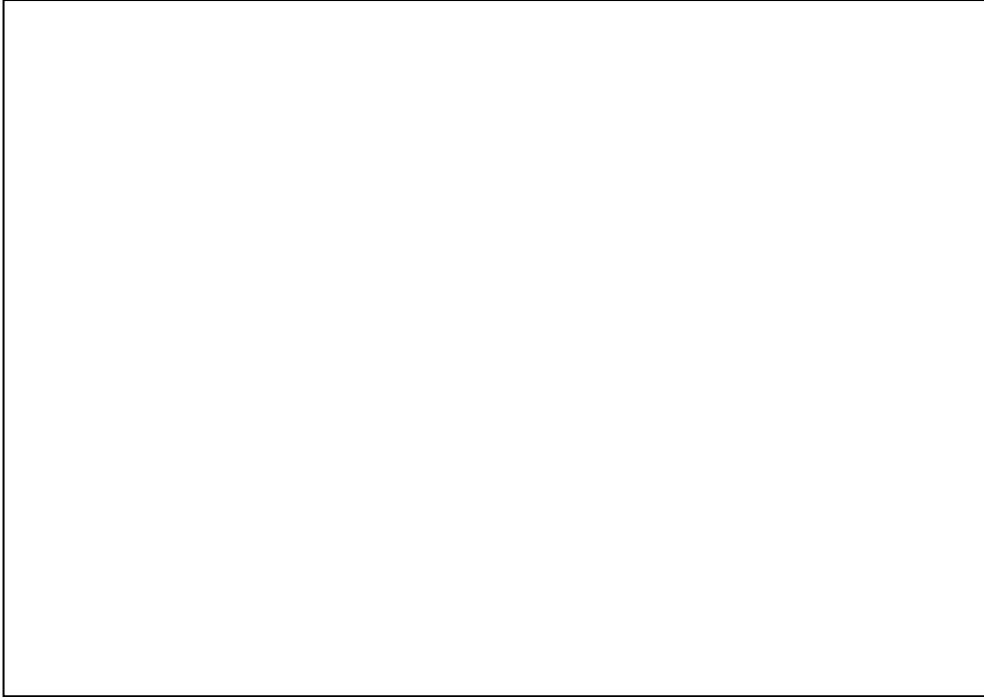


**Resim-4.2.** SEMİNOM: Lenfositlerle infiltre alveolar fibröz çatı içerisinde alveoler boşluklarda uniform görünümde hücrelerden oluşan tümöral doku (H&E; x10).

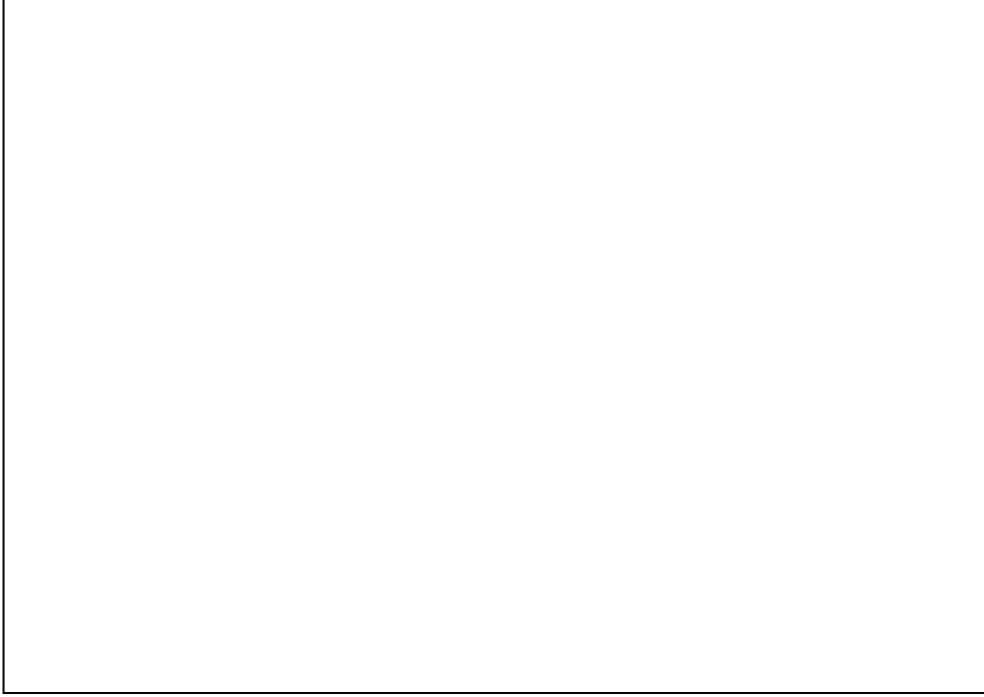




**Resim-4.3.** EMBRİYONAL KARSİNOM: Veziküler nükleuslu belirgin nükleoluslu, sitoplazma sınırları seçilemeyen atipik hücrelerin oluşturduğu glandüler, solid alanlar ve arada küçük nekroz odakları içeren tümör (H&E; x25).



**Resim-4.4.** YOLK KESESİ TÜMÖRÜ: Solid alanların yanı sıra mikrokistik boşluklardan meydana gelen tümör (H&E; x25).



**Resim-4.5.** TERATOM: Fibröz stromada kıkırdak adacıkları arasında immatür glanlardan oluşan teratom (H&E; x25).



**Resim-4.6.** SPERMATOSİTİK SEMİNOM: Kohesiv olmayan polimorfik ve atipik natürde hücrelerin, ince fibröz stromada difüz dağılımı ile karakterli tümör (H&E; x25)

Tümör komşuluğunda IGCNU yönünden değerlendirilmek istendiğinde 8 olgunun parafin bloklarından hazırlanan kesitlerde komşu testis dokusu görülemedi. Geriye kalan 41 olguda IGCN şiddeti ile tümörler arasındaki ilişki incelendi. Difüz ve fokal IGCNU seminom olgularının 18'inde (%68), embriyonal karsinom olgularının 14'ünde (%60.9), yolk kesesi tümörünün 4'ünde (%36.4), teratomun 5'inde (%38.4) izlendi. Serideki 2 spermatositik seminom olgusundan birinde, tümör komşuluğunda testis dokusu görüldü; ancak IGCNU (%100) izlenmedi. Diğer olguda komşu testis dokusu da görülemediğinden IGCNU yönünden değerlendirilemedi. Buna göre saf ve mikst germ hücreli tümör ayırımı yapmaksızın tümör tipine göre difüz ve fokal IGCNU içeren tümörler birlikte değerlendirildiğinde, sıklık sırasına göre seminom, embriyonal karsinom, teratom ve endodermal sinüs tümörlerinde IGCNU izlenmiştir.

Tümör komşuluğunda difüz veya fokal IGCNU izlenen ya da izlenmeyen seminifer tubullerde PLAP ekspresyonu **Tablo 4.2** ve **Şekil 4.1'de** verilmiştir. PLAP ile 9 difüz IGCNU içeren tümörden 5'i (%55.6) difüz (+) (**Resim 4.7**), 2'si (%22.2) (+), 1'i (%11.1) fokal (+) boyandı; 1'inde (%11,1) boyanma olmadı.

On beş fokal IGCNU içeren tümörden 3'ü (%20) difüz (+), 2'si (%13.3) (+), 9'u (%60) fokal (+) boyandı; 1'i (%6.7) boyanmadı.

On yedi IGCNU içermeyen seminifer tubullerden 3'ü (%17.6) fokal (+) boyandı, 14'ü (%82) boyanmadı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. Buna göre,

Komşu testis dokusunda PLAP ile fokal (+) boyanan fokal IGCNU içeren olgular ile difüz IGCNU içeren olgular ve fokal IGCNU içeren ve IGCNU içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p < 0.05$ );

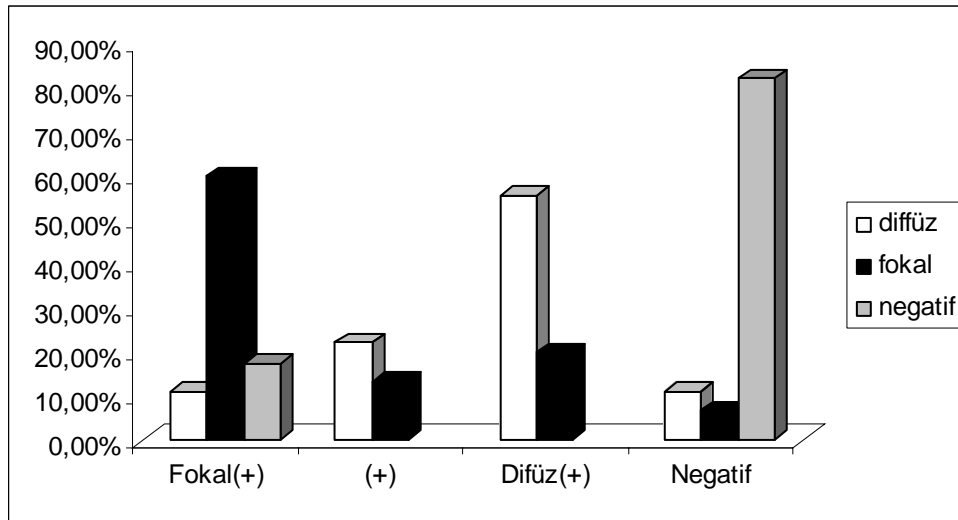
PLAP ile (+) boyanan olgularda tümör komşuluğunda arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p > 0.05$ ).

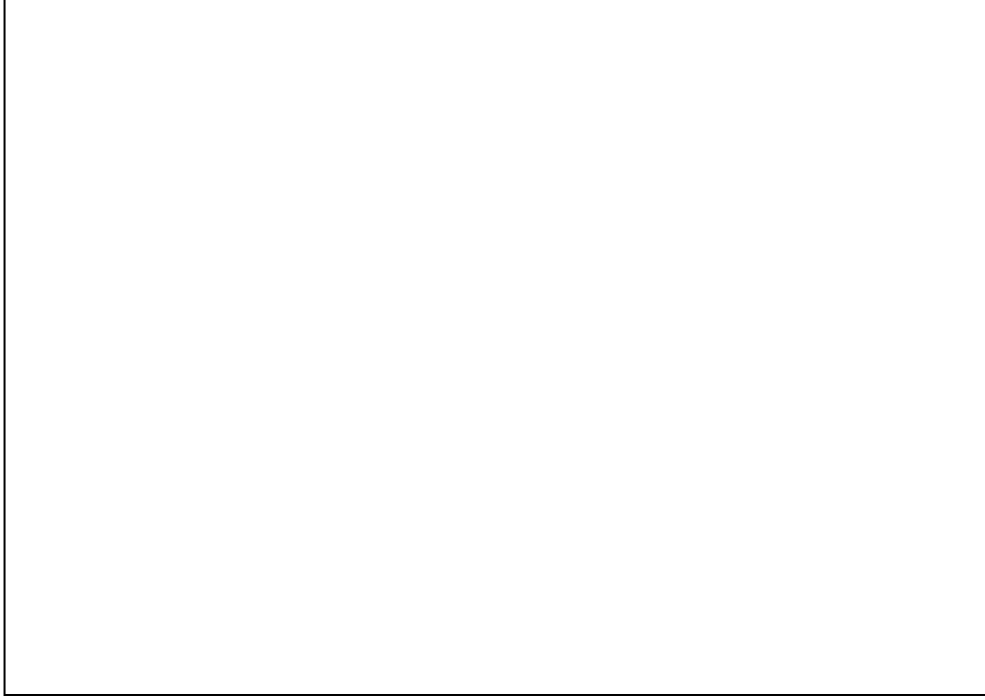
PLAP ile difüz (+) boyanan difüz IGCNU içeren ve IGCNU içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p < 0.05$ );

PLAP ile boyanmayan difüz IGCNU içeren ve IGCNU içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p < 0.05$ );

**Tablo 4.2:** IGCNU ile PLAP ekspresyonu arasındaki ilişki

Tümör Komşuluğu		PLAP			
		Fokal(+)	(+)	Difüz(+)	Negatif
IGCNU	Difüz N=9	1 %11,1	2 %22,2	5 %55,6	1 %11,1
	Fokal N=15	9 %60,0	2 %13,3	3 %20,0	1 %6,7
	Negatif N=17	3 %17,6			14 %82,4
	Toplam N=41	13 %31,7	4 %9,8	8 %19,5	16 %39,0

**Şekil 4.1.** IGCNU-PLAP ekspresyonu arasındaki ilişki



**Resim 4.7.** PLAP ile difüz IGCNU içeren alanlarda difüz membranöz boyanma (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

Tümör komşuluğunda difüz veya fokal IGCNU izlenen veya izlenmeyen seminifer tubullerde C-kit ekspresyonu **Tablo 4.3** ve **Şekil 4.2**'de verilmiştir. C-kit difüz IGCNU içeren 9 tümörden 2'si (%22.2) (++), 7'si (%77.8) (+++) (Resim 4.8) boyandı; boyanmayan veya (+) boyanan olgu izlenmedi.

Fokal IGCNU içeren 15 tümörden 3'ü (%20) (+), 2'si (%13.3) (++), 10'u (%66.7) (+++) boyandı; boyanmayan olmadı.

C-kit ile IGCNU içermeyen 17 tümörden 1'i (%5.9) (+), 5'i (%29.4) (++), 3'ü (%17.6) (+++) boyandı; 8'inde (%47.1) boyanma izlenmedi.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz uygulandı. C-kit ile (+) boyanan tümöre komşu testis dokusunda fokal IGCNU alanları içeren tümörle IGCNU odakları içermeyen tümör arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

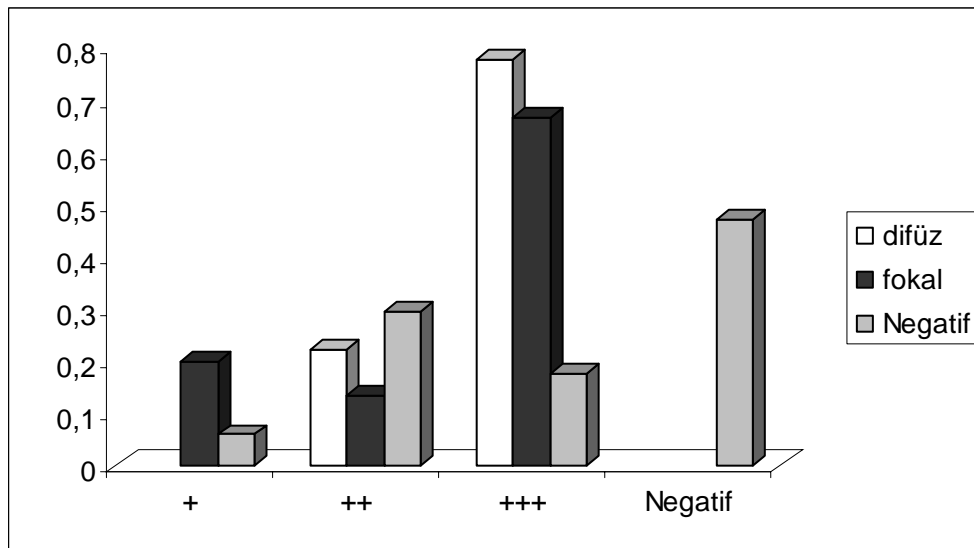
C-kit ile (++) boyanan difüz ve fokal IGCNU içeren ve içermeyen tümörler arasındaki farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

C-kit ile (+++) boyanma yönünden difüz IGCNU içeren ve IGCNU alanları içermeyen tümörler arasında ve fokal IGCNU alanları içerenlerle IGCNU içermeyen tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

C-kit ile boyanmayan tümörlerde, IGCNU içeren tümörler ile içermeyen tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4.3.** IGCNU ile C-kit ekspresyonunun karşılaştırılması

Tümör Komşuluğu		C-kit			
		+	++	+++	Negatif
<b>I G C N U</b>	difüz n=9		2 %22,2	7 %77,8	
	fokal n=15	3 %20,0	2 %13,3	10 %66,7	
	Negatif n=17	1 %5,9	5 %29,4	3 %17,6	8 %47,1
	Toplam N=41	4 %9,8	9 %22,0	20 %48,8	8 %19,5



**Şekil 4.2.** IGCNU-C-kit ekspresyonu arasındaki ilişki



**Resim 4.8.** C-kit ile difüz IGCNU içeren alanlarda membranöz (+++) boyanma (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

Tümörlerin histolojik tipleri ile PLAP ekspresyonu değerlendirildi (**Tablo 4.4** ve **Şekil 4.3**).

PLAP 30 seminom olgusunun 6'sında (%20) fokal (+), 11'inde (%36.6) (+), 12'sinde (%40) difüz (+) (**Resim 4.9**) boyandı; 1'i (%3.3) ise boyanmadı.

Yirmi beş embriyonal karsinom olgusunun 16'sı (%64) fokal (+), 3'ü (%12) (+), 1'i (%4) difüz (+) (**Resim 4.10**) boyandı; 5'i (%20) ise boyanmadı.

On üç yolk kesesi tümörünün 3'ü (%23.1) fokal (+) (**Resim 4.11**) boyandı; 10'u (%76.9) boyanmadı. (+) ve difüz (+) boyanma izlenmedi.

On dört teratom olgusunun 1'i (%6.6) fokal (+) boyandı; 13'ünde (%92.8) boyanma izlenmedi. (+) ve difüz (+) boyanma izlenmedi.

İki spermatositik seminom olgusunun 2'sinde de (%100) PLAP ile boyanma izlenmedi.

Boyanma oranına göre en sık boyanan tümör tipleri karşılaştırıldığında; embriyonal karsinom olgularının 16'sında (%64) fokal (+), seminom olgularının 11'inde (%35.5) (+) ve 12'sinde (%38) difüz (+) boyanma en yüksek oranda izlendi.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldığında PLAP ile fokal (+) boyanan tümörlerde seminom ile embriyonal karsinom, embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom arasında farklılık anlamlı bulundu. Ayrıca seminom ile spermatositik seminom, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom, yolk kesesi tümörü ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı ( $p<0.05$ ), yolk kesesi tümörü ile teratom arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

PLAP ile 30 seminom vakasının 29'unda (%96.7), 25 embriyonal karsinom vakasının 20'sinde (%80), 13 yolk kesesi tümörü vakasının 3'ünde (%23.1), 14 teratom vakasının 1'inde (%7.1) boyanma oldu.

PLAP ile (+) boyanan tümörlerde seminom ile diğer tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

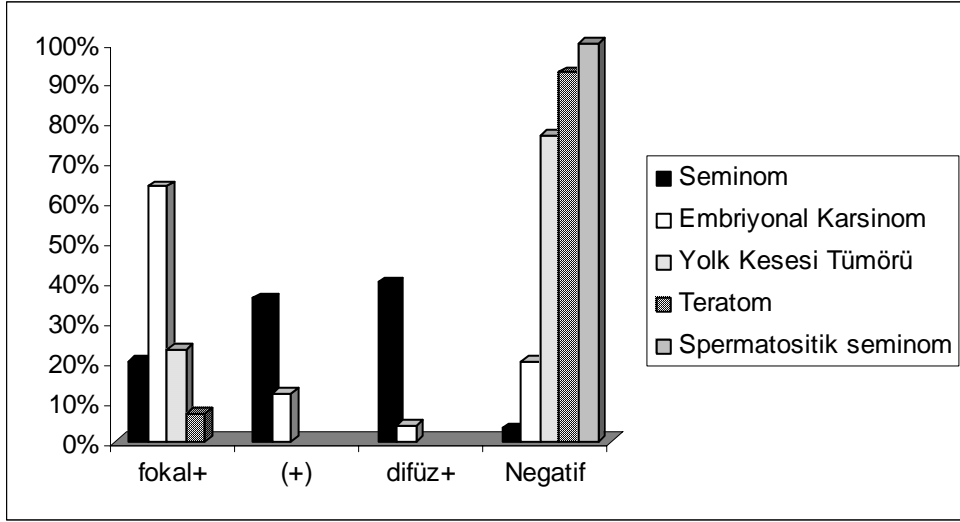
PLAP ile difüz boyanan tümörlerde seminom ile diğer tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

PLAP ile boyanmayan tümörlerde seminom ile yolk kesesi tümörü, teratom, spermatositik seminom arasında ayrıca embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, teratom, spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

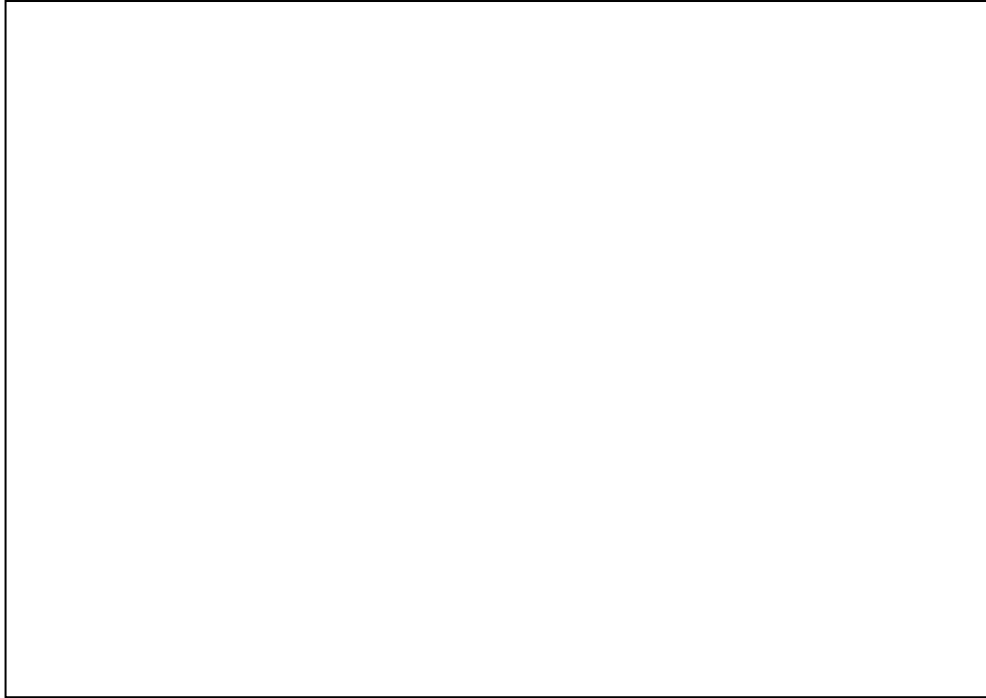
**Tablo 4.4.** Tümör tipine göre PLAP ekspresyonu

	PLAP			
	Fokal(+)	(+)	Difüz(+)	Negatif
Seminom N=30	6 %20	11 %36.6	12 %40	1 %3.3
Embriyonal karsinom N=25	16 %64,0	3 %12,0	1 %4,0	5 %20,0
Yolk kesesi tümörü N=13	3 %23,1			10 %76,9
Teratom N=14	1 %7,1			13 %92.8
Spermatositik seminom N=2				2 %100.0
Toplam N=84	26 %31,0	14 %16,7	13 %15,5	31 %36,9

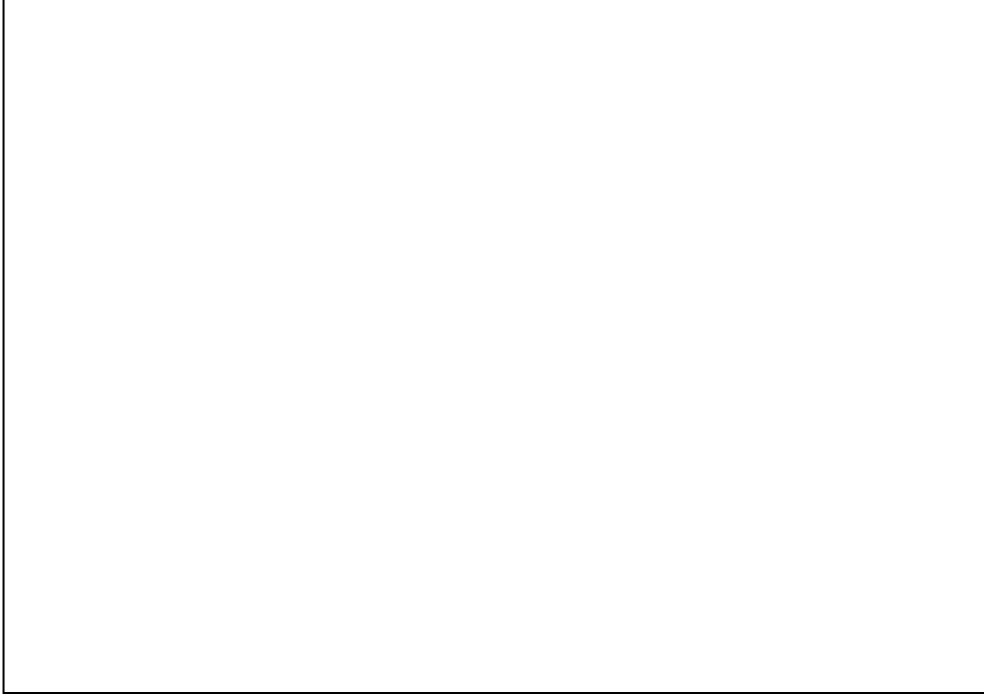




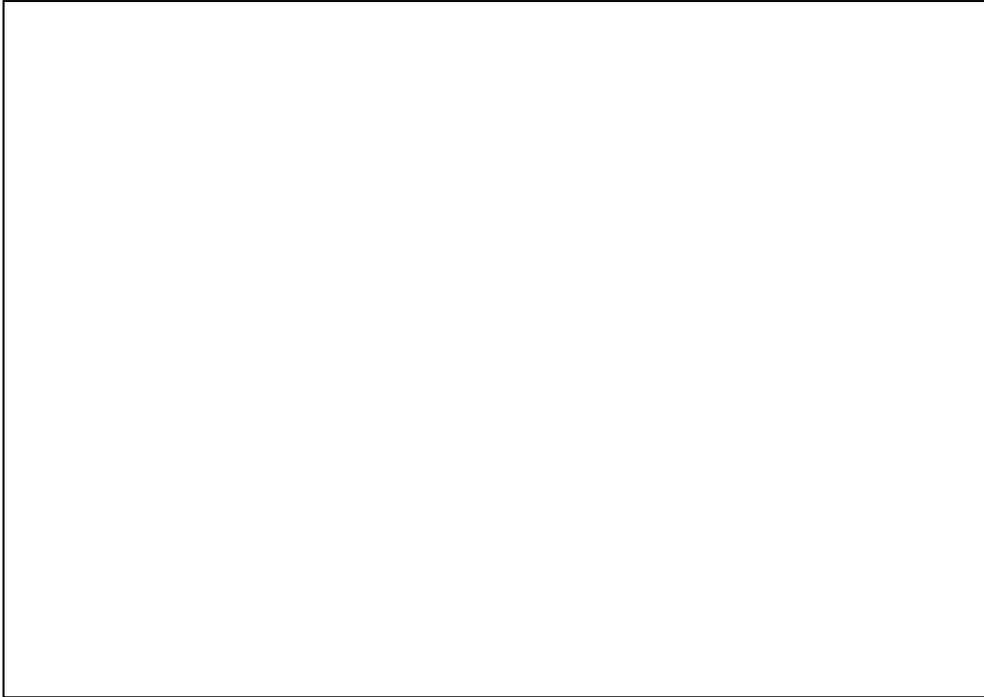
**Şekil 4.3.** Tümör tipine göre PLAP ekspresyonu



**Resim 4.9.** PLAP ile difüz membranöz boyanma gösteren seminom (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.10.** PLAP ile difüz (+) sitoplazmik boyanma gösteren embriyonal karsinom (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.11.** PLAP ile fokal (+) sitoplazmik boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (PLAP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).

Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında PLAP ekspresyonu karşılaştırıldı (**Tablo 4.5**). Mikst tümörü olan 22 olgunun 7'si (%31.8) fokal (+), 4'ü (%18.2) +, 7'si (%31.8) difüz (+) boyanırken, 4'ünde (%18.2) boyanma olmadı. Saf tümörü olan 27 olgunun 7'si (%25.9) fokal (+), 10'u (%37) +, 6'sı (%22.2) difüz (+) boyandı; 4'ünde (%14.8) boyanma olmadı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı: Boyanma yaygınlığına bakılmaksızın yalnız boyanma / boyanmama oranı saf tümörlerde %85.2, mikst tümörlerde %81.2 oranda izlendi. Fakat saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında da PLAP ekspresyonu açısından farklılık izlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.5.** Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde PLAP ekspresyonu

	PLAP			
	Fokal +	+	Difüz +	Negatif
Mikst germ hücreli tümör N=22	7 %31.8	4 %18.2	7 %31,8	4 %18,2
Saf germ hücreli tümör N=27	7 %25.9	10 %37.0	6 %22,2	4 %14,8
Toplam N=49	14 %28,6	14 %28,6	13 %26,5	8 %16,3

Tümörlerin histolojik tipleri ile C-kit ekspresyonu **Tablo 4.6** ve **Şekil4.4**'de değerlendirildi. Buna göre:

C-kit, 30 seminom olgusunun 3'ünde (%10) (+), 12'sinde (%40) (++), 15'inde (%50) (+++) (**Resim 4.12- Resim 4.13**) boyandı.

Yirmibeş embriyonal karsinom olgusunun 4'ü (%16) (+) (**Resim 4.14**), 4'ü (%16) (++) boyandı; 17'sinde (%68) boyanma izlenmedi.

Onüç yolc kesesi tümör olgusunun 2'si (%15.4) (+) (**Resim 4.15**), 2'si (%15.4) (++) boyanırken, 9'unda (%69.2) boyanma olmadı.

Ondört teratom olgusunun 5'i (%35.7) (+) (**Resim 4.16**) boyanırken, 9'unda (%64.2) boyanma olmadı.

İki spermatositik seminom olgusunun 2'sinde (%100) (+) boyanma izlendi.

C-kit ile (++) boyanma teratom ve spermatositik seminomda, (+++) boyanma embriyonal karsinom, yolc kesesi tümörü, teratom, spermatositik seminomda izlenmedi. Ancak spermatositik seminom ve seminom olgularında boyanmayan olmadı ve en az (+) boyanma izlendi. Seminomda en sık boyanma yoğunluğu (+++) olup 15 olguda (%50) izlendi; seminom dışında diğeri tümörlerde (+++) boyanma olmadı. Embriyonal karsinomlardan 17'si (%68), yolc kesesi tümörlerinden 9'u (%69.2) ve teratomlardan 9'u (%64.2) olmak üzere boyanmayan olgu sayısı boyananlardan daha fazla idi.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldığında,

C-kit ile (+) boyanan tümörlerde seminom ile teratom, seminom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Seminom ile embriyonal karsinom, seminom ile endodermal sinüs tümör arasında farklılık anlamsız idi ( $p > 0.05$ ).

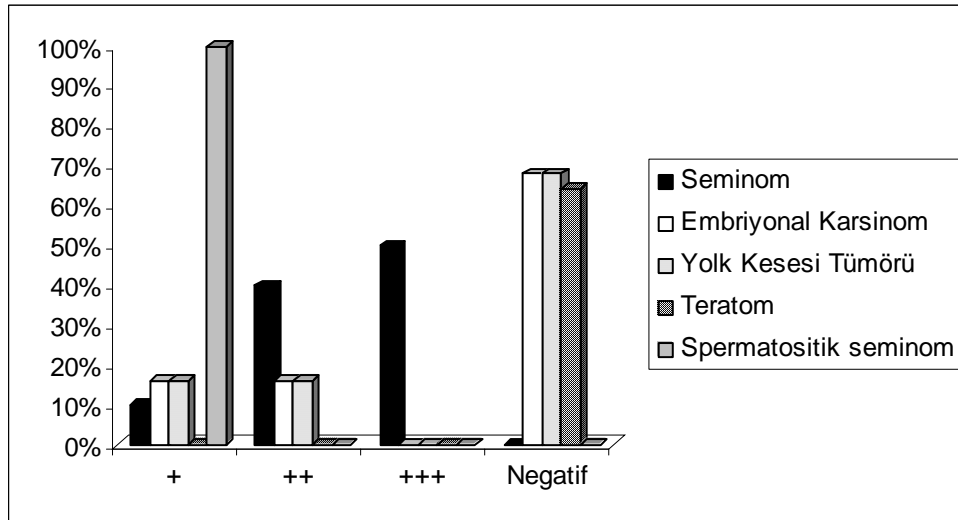
C-kit ile (++) boyanan tümörlerde seminom ile diğeri tümörler arasında ++ boyanma arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

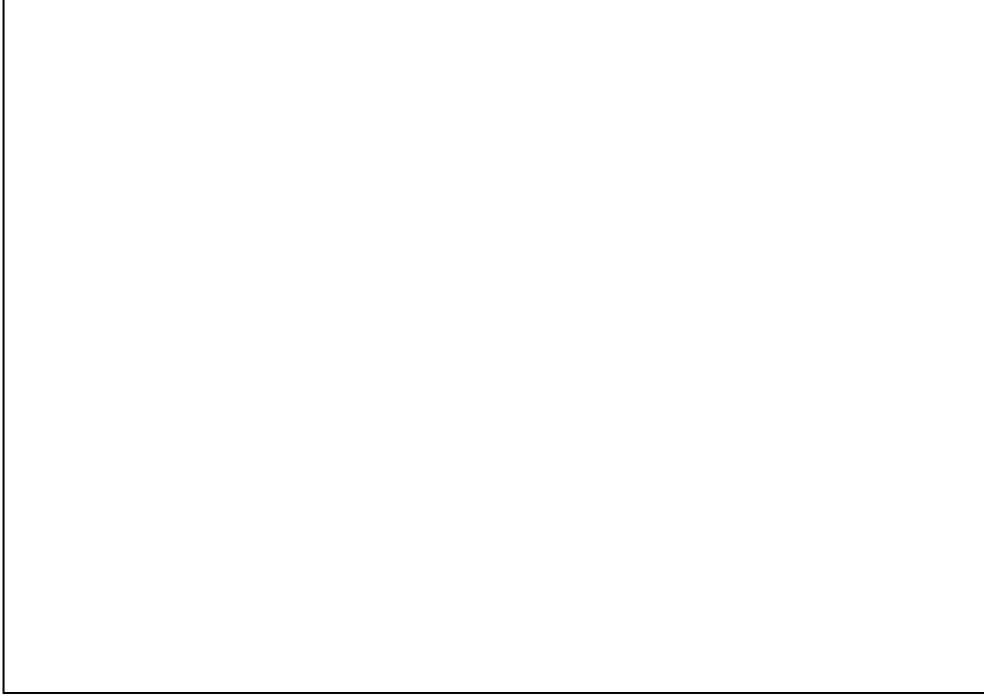
C-kit ile (+++) boyanma sadece seminomda izlendi. Seminom ile diğeri tümörler arasında +++ boyanma arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

C-kit ile boyanmayan tümörler seminom dışı tümörler olup tümörler arasında farklılık anlamsız idi ( $p > 0.05$ ).

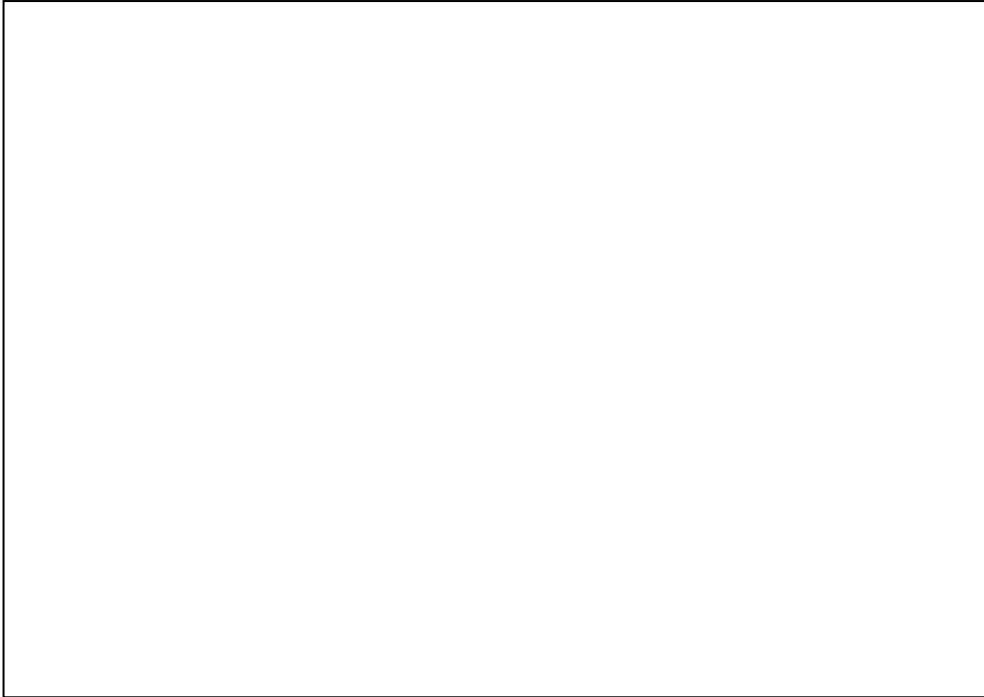
**Tablo 4.6.** Tümör tipine göre C-kit ekspresyonu

	C-kit			
	+	++	+++	Negatif
Seminom N=30	3 %10	12 %40	15 %50	
Embriyonal karsinom N=25	4 %16,0	4 %16,0		17 %68,0
Yolk kesesi tümörü N=13	2 %15,4	2 %15,4		9 %69,2
Teratom N=14	5 %35,7			9 %64,2
Spermatositik seminom N=2	2 %100,0			
Toplam N=84	16 %19,0	18 %21,4	15 %17,9	35 %41,7

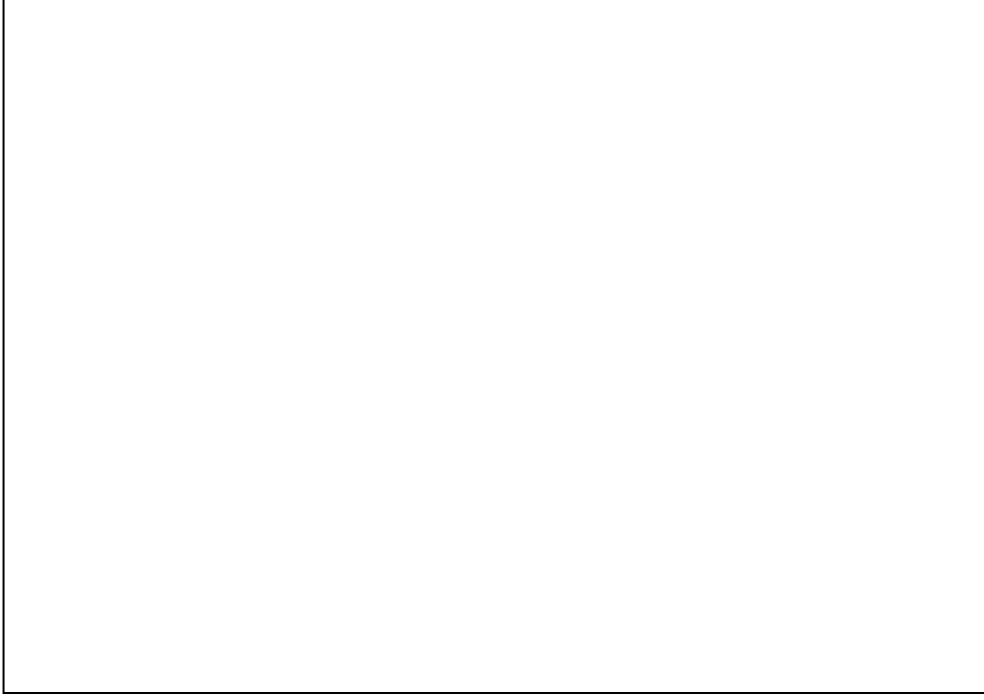
**Şekil 4.4.** Tümör tipine göre C-kit ekspresyonu



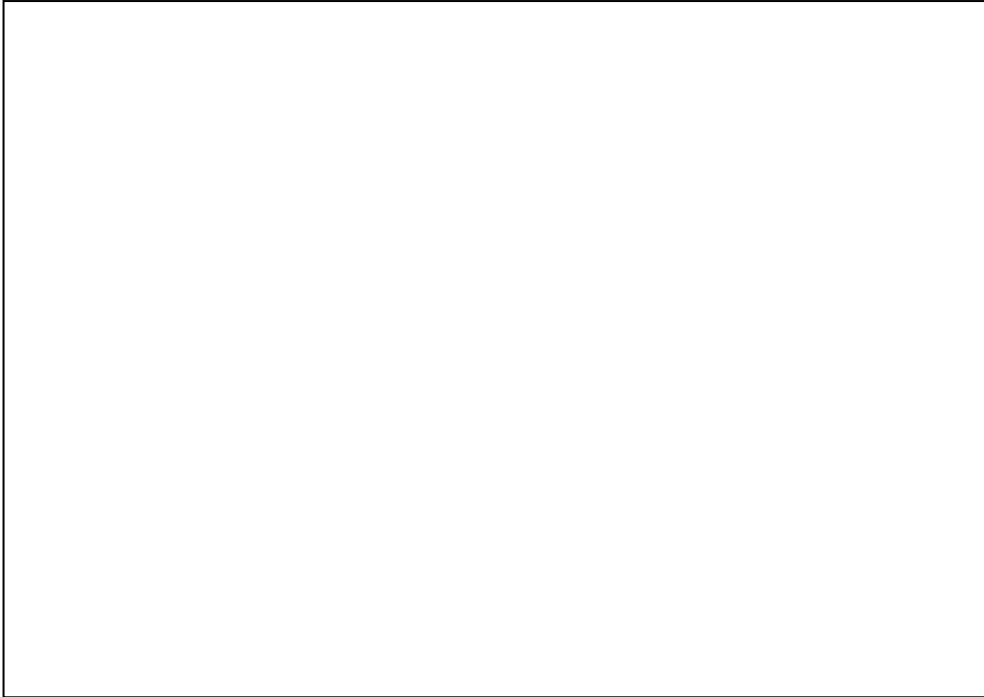
**Resim 4.12.** C-kit ile (+++) membranöz boyanma gösteren seminom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



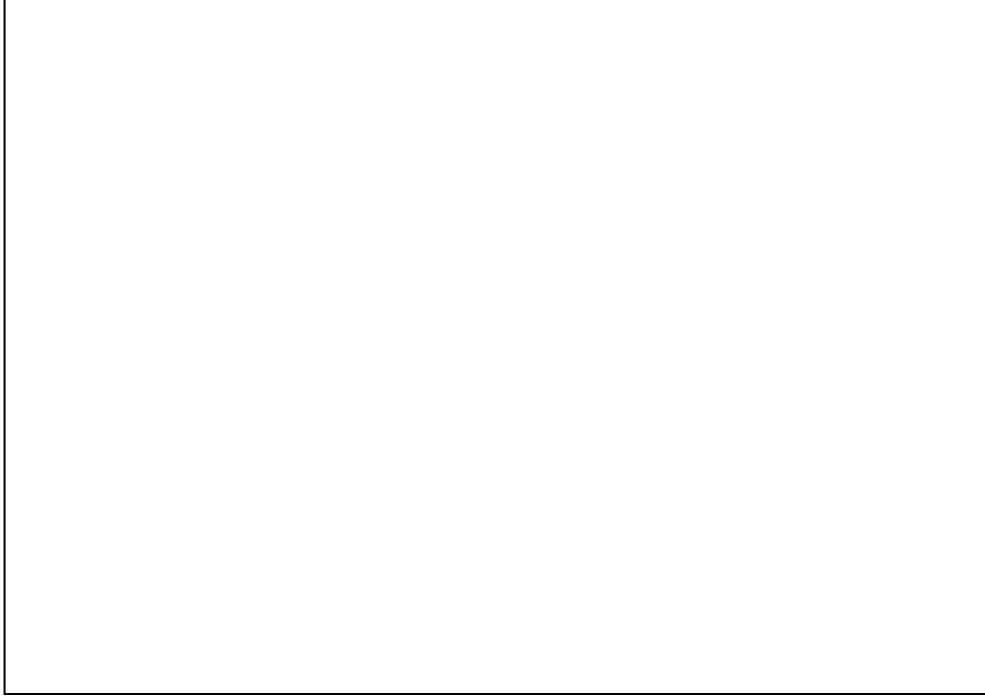
**Resim 4.13.** C-kit ile (+++) membranöz boyanma gösteren seminom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.14.** C-kit ile (+) sitoplazmik boyanma gösteren embriyonal karsinom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.15.** C-kit ile (+) sitoplazmik boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



**Resim 4.16.** C-kit ile (+) sitoplazmik boyanma gösteren teratom (C-kit, avidin-biotin-peroksidaz; x25)

Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında C-kit ekspresyonu **Tablo 4.7** ve **Şekil 4.5**'da gösterildiği gibi değerlendirildiğinde:

Mikst tümörlü olan 22 olgunun 4'ü (%18.2) (+), 4'ü (%18.2) (++), 4'ü (%18.2) (+++) boyanırken, 10'u (% 45.5) boyanmadı.

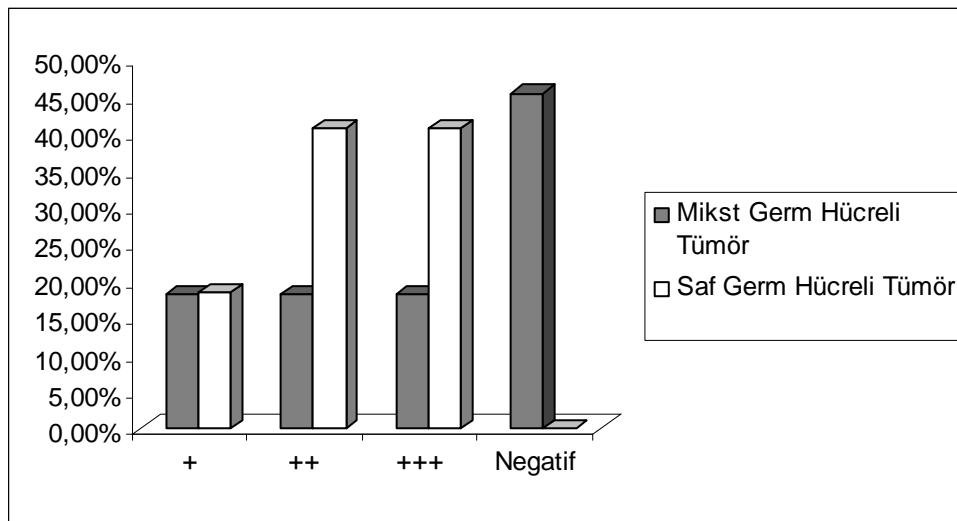
Saf tümörü olan 27 olgunun 5'i (%18.5) (+), 11'i (%40.7) (++), 11'i (%40.7) (+++) boyandı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında C-kit ekspresyonu açısından (++), (+++) boyanma ve boyanmayan tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).



**Tablo 4.7.** Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde C-kit ekspresyonu

	C-kit			
	+	++	+++	Negatif
Mikst Germ Hücreli tümör n=22	4 %18,2	4 %18,2	4 %18,2	10 %45,5
Saf Germ Hücreli Tümör n=27	5 %18,5	11 %40,7	11 %40,7	
Toplam n=49	9 %18,4	15 %30,6	15 %30,6	10 %20,4

**Şekil 4.5.** Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde C-kit ekspresyonu

Tümörlerin histolojik tipleri ile Ki67 nükleer boyanma indeksi **Tablo 4.8** ve **Şekil 4.6**'da değerlendirildi. Buna göre:

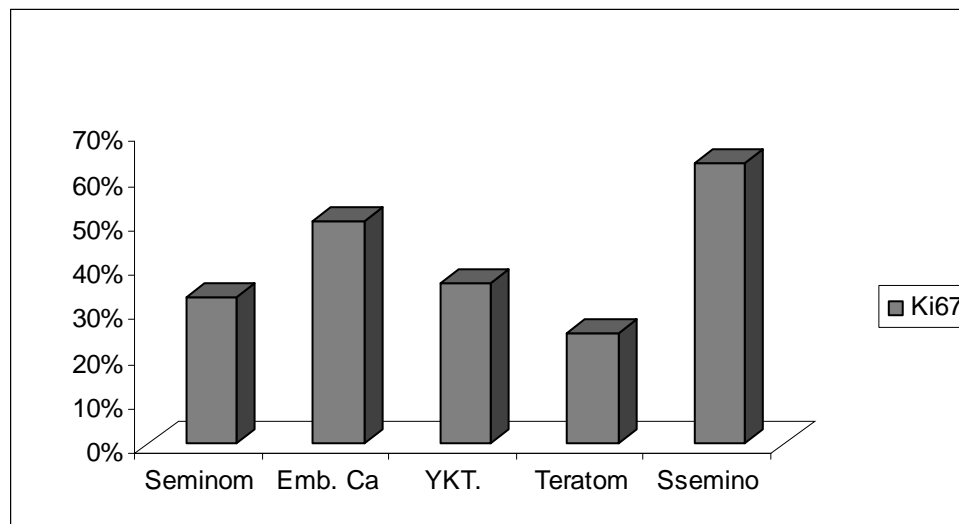
Seminomda  $0.33 \pm 0.11$  (**Resim 4.17**), embriyonal karsinomda  $0.50 \pm 0.12$  (**Resim 4.18**), yolk kesesi tümöründe  $0.36 \pm 0.14$  (**Resim 4.19**), teratomda  $0.25 \pm 0.13$  (**Resim 4.20**), spermatositik seminomda  $0.63 \pm 0.04$  (**Resim 4.21**) olarak saptandı

Ki 67 boyanma indeksi sıklık sırasına göre; spermatositik seminom, embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü, seminom, teratomda izlendi.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı: Ki67 nükleer boyanma indeksi yönünden tümörler ikişer ikişer karşılaştırıldığında seminom ile embriyonal karsinom, seminom ile spermatositik seminom, embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom, yolk kesesi tümörü ile spermatositik seminom, teratom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Ki67 nükleer boyanma indeksi yönünden seminom ile teratom, seminom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

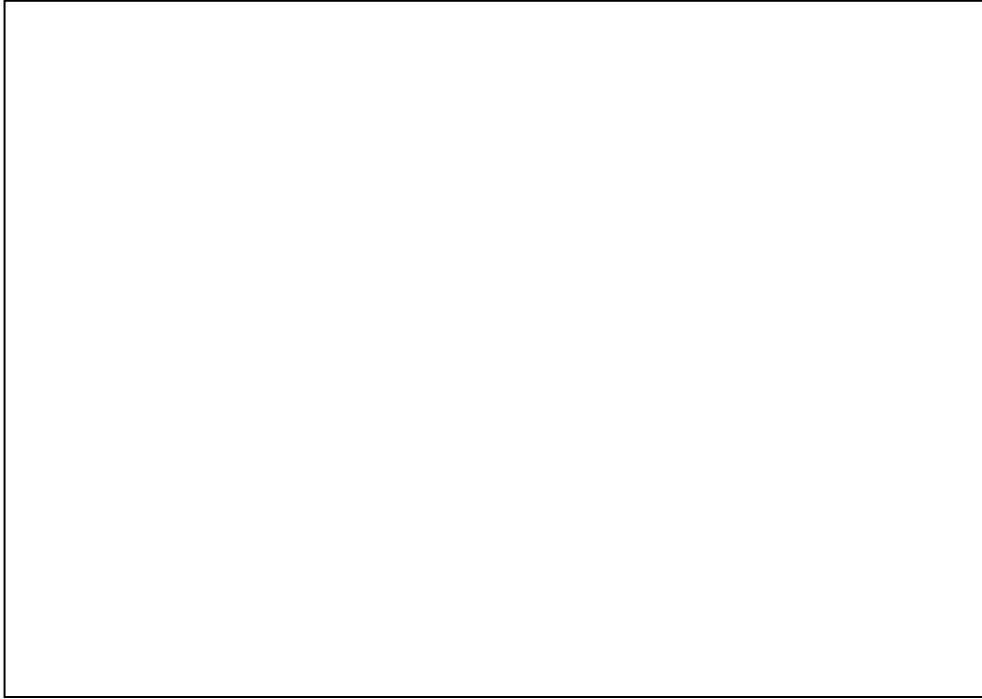
**Tablo 4.8.** Tümör tipine göre Ki-67 indeksi

	N	Ortalama Ki67 indeksi ve standart sapma
Seminom	30	0,33 ± 0.11
Embriyonal karsinom	25	0,50 ± 0.12
Yolk kesesi tümörü	13	0,36 ± 0.14
Teratom	14	0,25 ± 0.13
Spermatositik seminom	2	0,63 ± 0.04
Toplam	84	0,38 ± 0.15

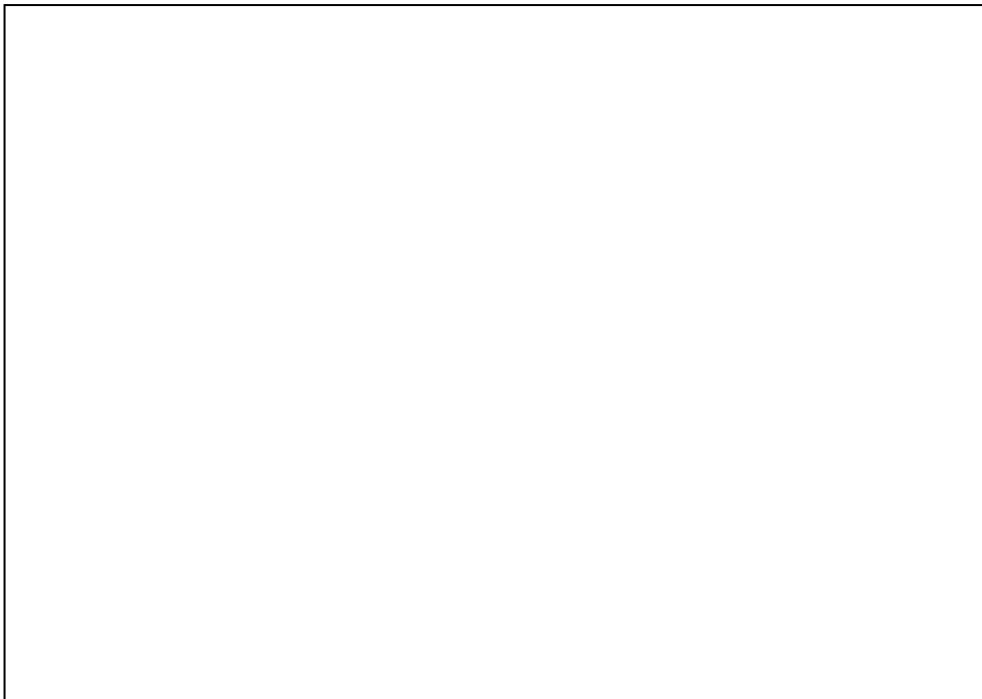


Emb.Ca: Embriyonal Karsinom YKT: Yolk Kesesi Tümörü S.seminom:Spermatositik seminom

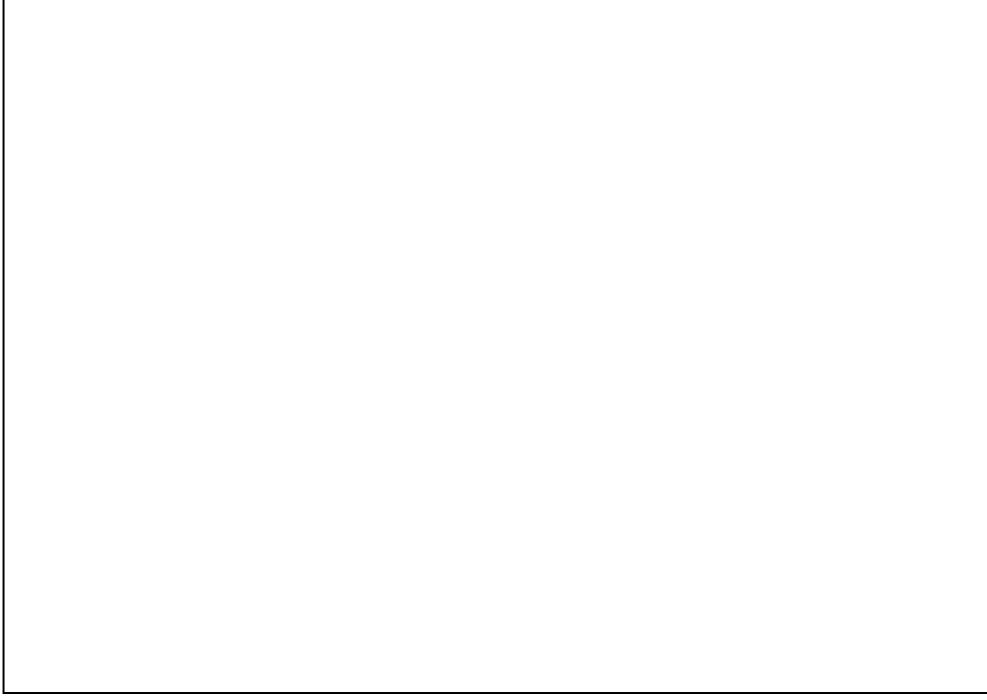
**Şekil 4.6.** Tümörlerde Ki-67 indeksi



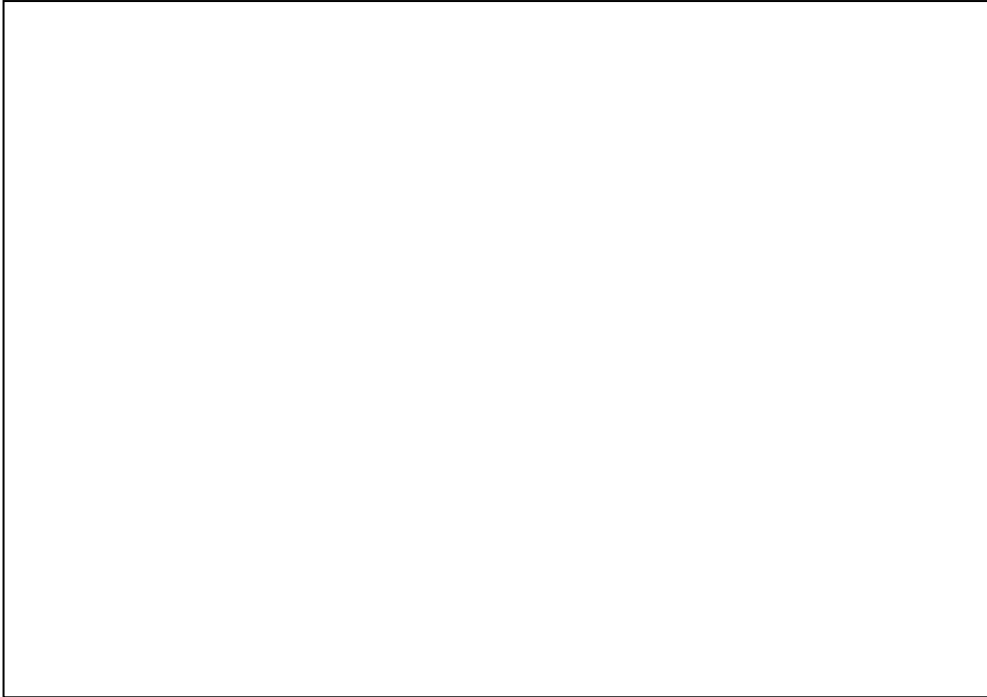
**Resim 4.17.** Ki-67 indeksi % 33 olan seminom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



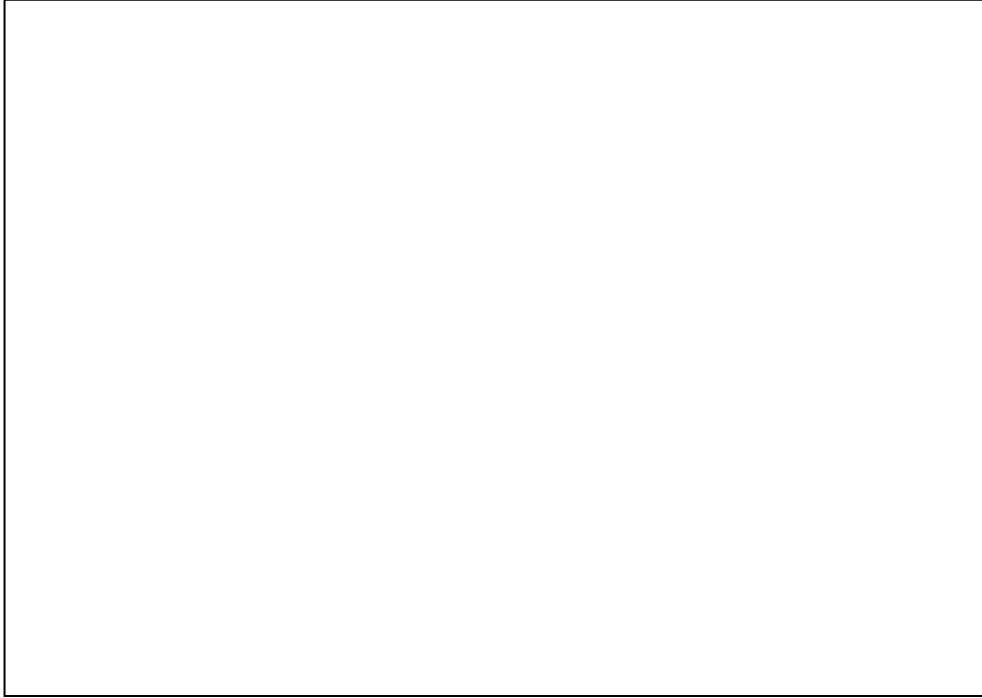
**Resim 4.18.** Ki-67 indeksi % 50 olan embriyonal karsinom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.19.** Ki-67 indeksi % 36 olan yolk kesesi tümörü (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.20.** Ki-67 indeksi % 25 olan teratom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.21.** Ki-67 indeksi % 63 olan spermatositik seminom (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında Ki 67 nükleer boyanma indeksi değerlendirildi (**Tablo 4.9**). Mikst tümörü olan 22 olguda ortalama  $0.41 \pm 0.13$  ve saf germ hücreli tümörü olan 27 olguda ortalama  $0.40 \pm 0.14$  olarak saptandı. Mikst germ hücreli tümörlerin Ki 67 boyanma oranı az da olsa saf tümörlerden yüksek bulundu.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. Ki 67 nükleer boyanma yoğunluğu yönünden saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.9.** Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde Ki 67 nükleer boyanma indeksi

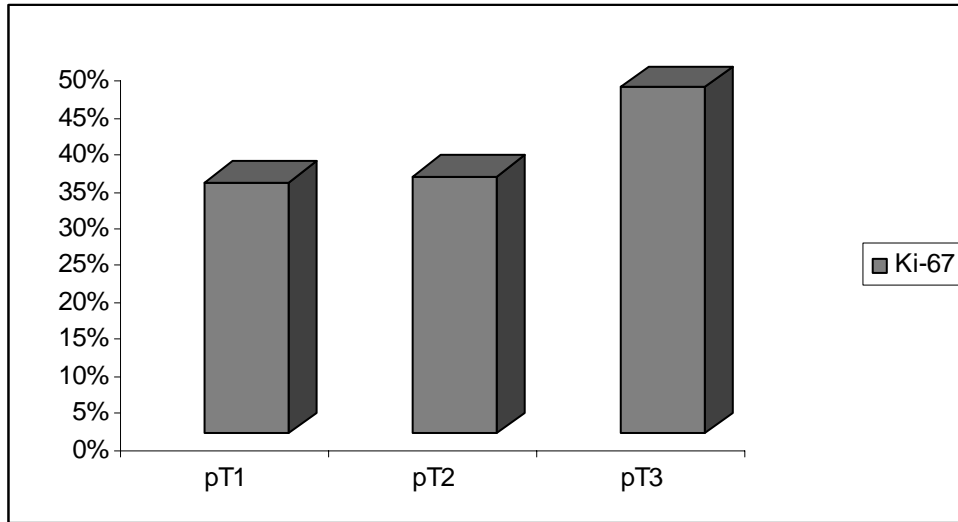
	N	Ortalama Ki67 indeksi ve standart sapma
Mikst germ hücreli tümör	22	0,41±0.13
Saf germ hücreli tumor	27	0,40±0.14

Primer tümör (pT) evresine göre Ki 67 nükleer boyanma indeksi değerlendirildi (**Tablo 4.10** ve **Şekil 4.7**). Buna göre pT1’de olan 19 olguda ortalama Ki-67 indeksi  $0,34 \pm 0.12$ , pT2 olan 14 olguda ortalama  $0,35 \pm 0.21$ , pT3 olan 5 olguda  $0,47 \pm 0.08$  olarak saptandı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı: Ki67 nükleer boyanma indeksi yönünden pT evresi ikişerli olarak karşılaştırıldığında pT1 ile pT3, pT2 ile pT3 arasındaki farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). pT1 ile pT2 arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 4.10.** Primer tümör (pT) evresine göre Ki 67 nükleer boyanma indeksi

	N	Ortalama Ki67 indeksi ve standart sapma
pT1	19	$0,34 \pm 0.12$
pT2	14	$0,35 \pm 0.21$
pT3	5	$0,47 \pm 0.08$
Toplam	38	$0,36 \pm 0.12$



**Şekil 4.7.** Primer tümör (pT) evresine göre Ki-67 indeksi

Tümörlerin histolojik tipleri ile MMP-1 ekspresyonu **Tablo 4.11**'de değerlendirildi. Buna göre: MMP-1 ile 30 seminom olgusunun 12'si (%40) (+) (**Resim 4.22**), 10'i (%33.3) (++), 4'ü (%13.3) +++ boyandı; 4'ü (%13.3) boyanmadı.

Yirmi beş embriyonal karsinom olgusunun 13'ü (%52) (+), 6'sı (%24) (++), 3'ünde (%12) (+++) (**Resim 4.23**) boyanırken, 3'ü (%12) boyanmadı.

On üç yolk kesesi tümör olgusunun 6'sı (%46.2) (+) (**Resim 4.24**), 4'ü (%30.8) (++), 1'i (%7.7) (+++) boyanırken, 2'si (%15.4) boyanmadı.

On dört teratom olgusunun 7'si (%50) (+), 2'si (%14.2) (++) boyanırken, 5'i (%35.7) boyanmadı.

İki spermatositik seminom olgusunun 1'i (%50) (+++) boyandı, 1'i (%50) boyanmadı. Spermatositik seminom olgularında (+) ve (++) boyanma izlenmedi. Teratom olgularında (+++) boyanma izlenmedi.

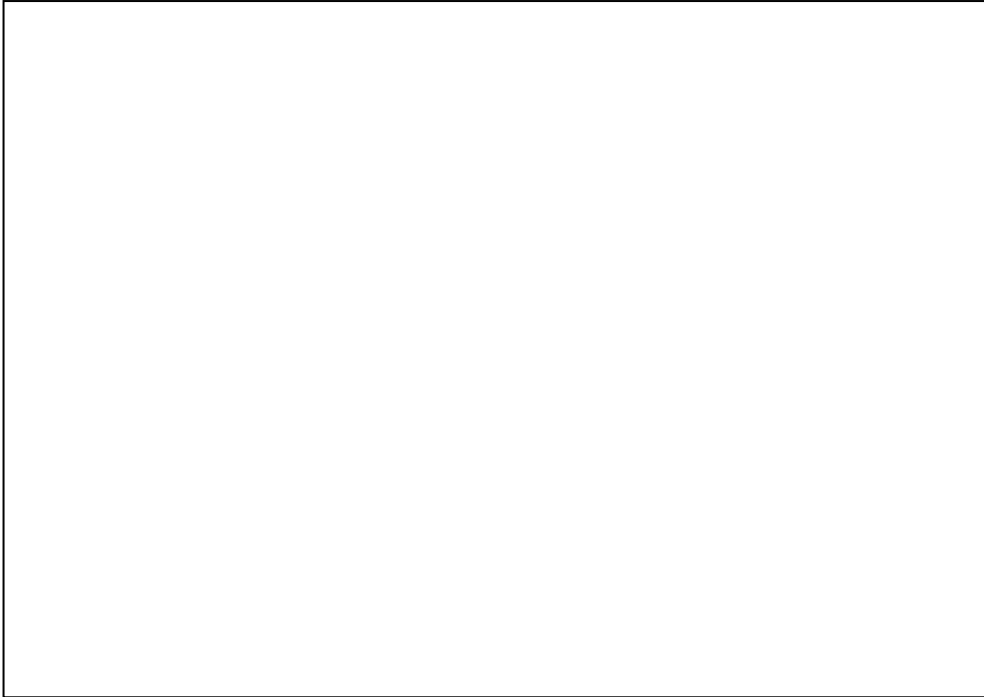
MMP-1 ile ekspresyonu ayırmaksızın her tümörün pozitif boyanma oranları toplandığında sıklık sırasına göre embriyonal karsinom olgularının 22'si (%88), seminom olgularının 35'i (%86.6), yolk kesesi tümörü olgularının 11'i (%84.7), teratom olgularının 8'i (%64.2) spermatositik seminom olgularının 1'i (%50) oranda boyandı. Seminom olgularında (+) boyanma, embriyonal karsinom olgularında (++) boyanma diğer tümörlerden daha sık izlendi. Fakat istatistiksel olarak tümör tipleri ile ekspresyon açısından farklılık, anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.11.** Tümörlerin histolojik tiplerine göre MMP-1 ekspresyonu

	MMP-1			
	+	++	+++	Negatif
Seminom n=30	12 %40	10 %33.3	4 %13.3	4 %13.3
Embriyonal karsinom n=25	13 %52,0	6 %24,0	3 %12,0	3 %12,0
Yolk kesesi tümörü n=13	6 %46,2	4 %30,8	1 %7,7	2 %15,4
Teratom n=14	7 %50	2 %14.2		5 %35.7
Spermatositik seminom N=2			1 %50,0	1 %50,0
Toplam n=84	38 %45,2	22 %26,2	9 %10,7	15 %17,9

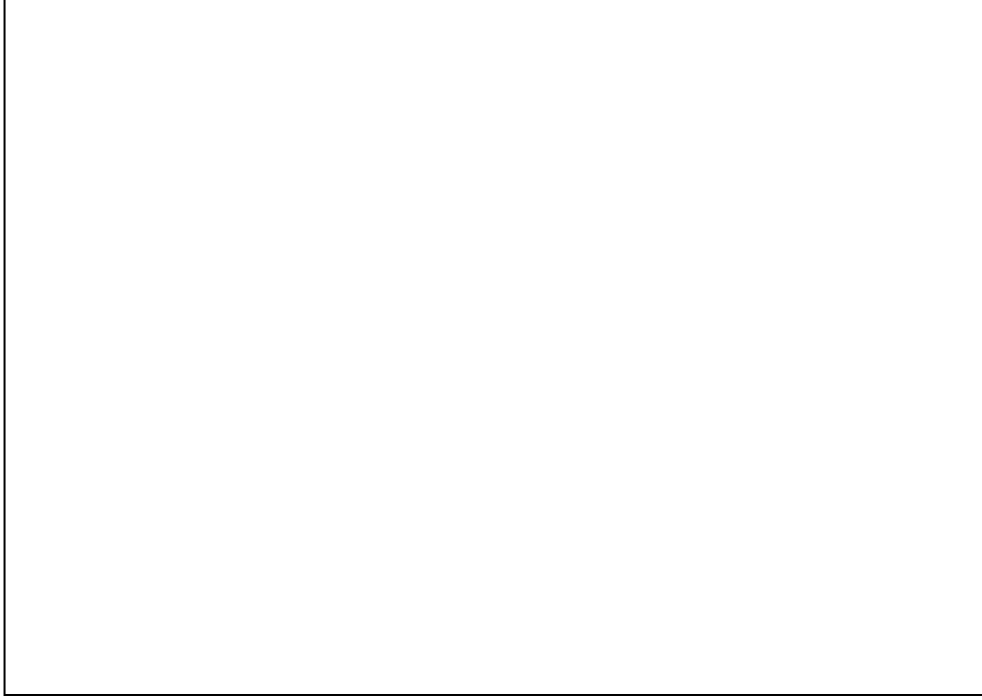


**Resim 4.22.** MMP-1 ile (+) boyanma gösteren seminom (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



**Resim 4.23.** MMP-1 ile (+++) boyanma gösteren embriyonal karsinom (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50)





**Resim 4.24.** MMP-1 ile (+) boyanma gösteren yolk kesesi tümörü (MMP-1, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında MMP-1 ekspresyonu değerlendirildi (**Tablo 4.12**). Mikst tümörü olan 22 olgunun 10'u (%45.5) +, 7'si (%31.8) ++, 3'ü (%13.6) +++ boyanırken, 2'si (%9.1) boyanmadı. Saf germ hücreli tümörü olan 27 olgunun 11'i (%40.7) +, 8'i (%29.6) ++, 4'ü (%14.8) +++ boyanırken, 4'ü (%14.8) boyanmadı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. Ekspresyon derecesi ayırmaksızın toplam boyanma oranı mikst tümörlerde daha yüksek oranda izlendi. Fakat saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında MMP-1 ekspresyonu açısından istatistiksel farklılık izlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.12.** Saf ve mikst germ hücreli tümörlerde MMP-1 ekspresyonu

	MMP-1			
	+	++	+++	Negatif
Mikst germ hücreli tümör N=22	10 %45,5	7 %31,8	3 %13,6	2 %9,1
Saf germ hücreli tümör N=27	11 %40,7	8 %29,6	4 %14,8	4 %14,8
Toplam N=49	21 %42,9	15 %30,6	7 %14,3	6 %12,2

Primer tümör (pT) evresine göre MMP-1 ekspresyonu değerlendirildi (**Tablo 4.13**). MMP-1 ile 19 pT1'deki olgunun 8'i (%42,1) +, 6'sı (%31,6) ++, 4'ü (%21,1) +++ boyanırken, 1'i (%5,3) boyanmadı.

MMP-1 ile 14 pT2'deki olgunun 4'ü (%28,6) +, 7'si (%50) ++, 3'ü (%21,4) +++ boyanırken, boyanmayan olmadı.

MMP-1 ile 5 pT3'deki olgunun 1'i (%20) +, 3'ü (%60) ++, 1'i (%20) +++ boyanırken, boyanmayan olmadı.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. Primer tümör ikiye bölünmüş karşılaştırıldığında MMP-1 boyanma oranı açısından istatistiksel farklılık izlenmedi ( $p>0.05$ ). Fakat ++ boyanan olgularda evre arttıkça, MMP-1 ekspresyonu daha yüksek olduğu izlendi. pT2 ve pT3 olan olgularda MMP-1 ile boyanmayan vaka olmadığı dikkati çekti.

**Tablo-4.13.** Primer tümör evresine göre MMP-1 ekspresyonu

	MMP-1			
	+	++	+++	Negatif
pT1 N=19	8 42,1%	6 31,6%	4 21,1%	1 5,3%
pT2 N=14	4 28,6%	7 50,0%	3 21,4%	
pT3 N=5	1 20,0%	3 60,0%	1 20,0%	
Toplam N=38	13 34,2%	16 42,1%	8 21,1%	1 2,6%

## T A R T I Ő M A

Testis kanserleri erkeklerde görülen tüm malign tümörlerin % 1-1.5'ini oluşturur (21). Genel popülasyonda nadir olmakla birlikte, 15-35 yaş arası erkeklerde en sık görülen kanserdir (16). 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra Avrupa ülkelerinde sıklığı giderek artmaktadır. Bunun aksine Asya ülkelerinde insidansı daha düşüktür (24,26). Testis tümörlerinin büyük bir kısmı, testisin ana fonksiyonel hücresi olan germ hücrelerinden köken alır ve bu tümörler tüm testis tümörlerinin %90-95'ini oluşturur (16,23,29).

Testis tümörleri sınıflamasında 1977 yılından itibaren çok çeşitli sınıflamalar kullanılmıştır. Őu anda bunların en çok kabul göreni, 1988 yılında yapılan sınıflamanın benzeri olarak 2004 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan sınıflama sistemidir (4,24,26). Buna göre testisin germ hücreli tümörleri,

1. Tek histolojik tipte elemanlardan meydana gelen saf tümörler ve
2. Birden fazla histolojik tipte elemanlardan meydana gelen mikst tümörler olarak 2 ana gruba ayrılmıştır.

Saf germ hücreli tümörler seminom, spermatositik seminom, embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü, trofoblastik tümörler (koryokarsinom) ve teratomu içerir. Mikst germ hücreli tümörler ise spermatositik seminom hariç, saf şekillerin akla gelen tüm kombinasyonlarından meydana gelir. Yani, teorik olarak her kombinasyon mümkündür. Testisin germ hücreli tümörlerinin yarısından fazlası saf şekillerdir. Mikst germ hücreli tümörler için bu oran %32-54 arasında değişmektedir (5,24,29). Netekim, çalışmada 49 testiküler germ hücreli tümör olgusunun 27'si (%55) saf, 22'si (%45) mikst germ hücreli tümör idi.

Saf seminom, tüm germ hücreli testis tümörlerinin %35-50'sini oluşturur. Mikst germ hücreli tümörlerin %15-59'unun yapısına katılır (4,5,26,29). Çalışmada seminom 49 vakanın 20 'sinde (%40.8) saf formda iken, 10 vakada (%45.4) mikst GHT'lerin bir komponenti olarak izlendi.

Spermatositik seminom, tüm germ hücreli tümörlerin %1.5-4.5'ini oluşturur. Diğer germ hücreli tümörlerle birlikte, yani kombinasyon halinde görülmez (24,26,27,29). Çalışmada 49 vakanın 2'sinde, yani %4 oranında saf spermatositik seminom izlendi. Literatüre uygun olarak, mikst germ hücreli tümörlerde spermatositik seminom izlenmedi.

Embriyonal karsinom, saf germ hücreli tümörlerin küçük bir kısmı olan %2-10'luk dilimini oluşturur. Mikst germ hücreli tümörlerde ise %40-80'den fazla oranda görülebilir (23,24,26,29). Çalışmada da embriyonal karsinom 49 vakanın yalnız 3'ünde (%6.1) saf formunda görülürken, 22 mikst tümörün tamamında (%100) bir komponent olarak izlendi.

Yolk kesesi (endodermal sinüs) tümörünün saf formu oldukça nadirdir. Buna karşılık, embriyonal karsinom gibi, mikst germ hücreli tümörlerin bir komponenti olarak %40-42 oranında görülür (24,26,29). Benzer şekilde, çalışmada da saf yolk kesesi tümörü 49 vakanın yalnız 1'inde (%2) görülürken, mikst germ hücreli tümörlerde bu oran %54.5'e yükseldi.

Koryokarsinomun da saf formu nadir olup %0.5-1 sıklıkta görülür. Mikst tümörlerde ise %7-16 arasında görülebilir (5,24,26,27,29). Çalışmada hiç trofoblastik tümör olgusu bulunmamaktadır.

Teratomlar, testiküler germ hücreli tümörlerin sadece % 2.7-7'sinde saf tümörler olarak bulunmalarına karşılık mikst germ hücreli tümörlerin %47-50'sinde karşılaşılan bir komponenttir (24,26,27,29). Çalışmada da 49 vakanın sadece 1'i (%2) saf teratom iken, mikst germ hücreli tümörlerde, % 54.5 oranında, yani literatürdekinden biraz daha fazla izlendi.

Testis tümörlerinin farklı tiplerinin sıklığı ile görülme yaşı arasında güçlü bir korelasyon vardır (16). Tümü göz önüne alındığında, ortalama görülme yaşı 30'dur (29). Çalışmaya alınan 49 germ hücreli tümör olgusunun yaşları 2-63 arasında olup yaş ortalaması  $31,20 \pm 12,17$  olarak saptandı.

Klasik veya saf seminomlar, non-seminomatöz tümörlerden daha geç yaşta, ortalama 40 yaşında görülür (5,26,27,29). Non-seminomatöz germ hücreli tümör kombinasyonu için ortalama yaş 35.1'dir (16). Çalışmada saf seminomlarda yaş ortalaması 37.8 iken, seminom içeren mikst tümörlerde 26.3 bulundu. Böylece saf seminomlar literatür bilgilerine benzer şekilde 40'a yakın yaşlarda görülürken, seminomlu mikst tümörler daha genç yaş grubunda görüldü.

Spermatositik seminom 40 yaşın üzerinde, ortalama 52-55 yaşında pik yapar (5,26,27,29). Çalışma kapsamındaki 2 saf spermatositik seminom vakasının yaş ortalaması, buna uygun şekilde 56.5 idi.

Embriyonal karsinomun saf ve kombine şekilleri genel olarak en sık 30 yaşında görülür (4,24,27). Saf formu ise 20-30 yaş arasında sıktır (5). Çalışmada da saf embriyonal karsinom 3 olguda ortalama 30 yaşında izlenirken, embriyonal karsinom içeren 22 mikst tümörde ise ortalama yaş 24.6 olarak saptandı.

Saf yolk kesesi tümörü pediatrik yaş grubunda sık olup, pik yaşı 1.5'tur. Erişkinlerde ise sıklıkla mikst germ hücreli tümörün bir komponenti olarak ortaya çıkar ve 17-40 yaşları arasında görülür (5,24,27). Çalışmada saf yolk kesesi tümörü sadece 2 yaşında bir olguda saptandı. Mikst germ hücreli tümörlerde ise yaş ortalaması 24.7 olan 12 olguda izlendi.

Koryokarsinomlar en sık 25-30 yaş arası genç erkeklerde görülür (24). Çalışma serisinde hiç koryokarsinom olgusu bulunmadığından bu konuda herhangi bir değerlendirme yapılamadı.

Teratomlar iki yaş grubunda pik yapar. Çocuklarda hayatın ilk iki yılında, erişkinlerde ise 20-40 yaşları arasında sık görülür (5,24,27,29). Çalışmamızda 14 teratom olgusunun 1'i saf tümör olup 2 yaşında bir çocukta idi. Onüçü ise mikst germ hücreli tümörün bir komponenti olarak görüldü ve bunlarda ortalama yaş 22.2 olarak saptandı.

Saf seminomlar ortalama 40, spermatositik seminomlar ortalama 65, non-seminomatöz germ hücreli tümörlerin farklı tipleri için ortalama yaş 30.4, seminom ve non-seminomatöz germ hücreli tümör kombinasyonu için ortalama yaş 35.1 olarak tesbit edilmektedir (5,16,26,29). Bir başka ifadeyle, seminom içeren mikst germ hücreli tümörler, seminom içermeyen germ hücreli tümörlerden daha ileri yaşlarda görülmektedir (26). Çalışmada saf germ hücreli tümörlerin büyük kısmını (%74) seminomatöz tümörler oluşturmakta olup, ortalama yaş 37.8 saptandı. Mikst germ hücreli tümörlerin yarısına yakını (%45) seminom komponenti içeriyordu; ortalama yaş 26.3 bulundu. Seminom içermeyen mikst GHT'lerde ise ortalama yaş 23.5 saptandı.

Testisin germ hücreli tümörlerinin büyük bir kısmı intratubuler germ hücreli neoplaziden köken alır (4,25,27). Çalışmada 41 olguda komşu testis dokusu, IGCNU varlığı yönünden incelendi. Difüz veya fokal IGCNU görülme oranı %56.1 bulundu.

Seminom ve embriyonal karsinomda tümör komşuluğunda IGCNU sıklıkla görülür (27). Prepubertal yaşta görülen saf yolk kesesi tümöründe ve teratomlarda

IGCNU nadirdir. Postpubertal teratomlarda ise IGCNU vakaların yaklaşık %90'ında görülür (16,25,27). Spermatoitik seminoma tipik olarak IGCNU eşlik etmez (4,24,26). Çalışmada seminom ve embriyonal karsinom olgularında, yolk kesesi tümörü ve teratom olgularına göre IGCNU daha sık görüldü. Bunun nedeni teratom ve yolk kesesi tümörü olgularının bir kısmı 12 yaş ve altı, yani prepubertal yaşta olmasıdır. Spermatoitik seminom olgularımızda IGCNU saptanmadı.

Testis tümörlerinin tanımlanmasında birçok immünohistokimyasal boyama uygulanmıştır. 1980 yılından sonra tanımlanan PLAP eski bir metod olmasına rağmen günümüzde halen geçerliliğini korumaktadır. PLAP, alkalen pH'da etkili alkalen fosfataz grubu bir enzimdir (7,53). Alkalen fosfatazlar fosfat monoesterlerinin hidrolizinde ve plazma membran transportunda görev alan fosfataz grubu enzimlerdir. Prostatik asit fosfataz olarak bilinen ve asit pH' da etkili olan asit fosfatazlar prostatta bulunmaktadır. Alkalen fosfatazların 4 izoformu vardır. Bunlardan dokuya spesifik olanlar plasental, intestinal ve germ hücrelerinde, dokuya spesifik olmayanlar karaciğer, kemik ve böbrekte bulunur (7,31,32).

Dokuya nonspesifik olan alkalen fosfatazlar (TNAP), dokuya spesifik alkalen fosfatazlara % 50-60 homologdur. İntestinal alkalen fosfatazlar (IAP), dokuya spesifik olan diğer iki alkalen fosfataz (PLAP ve GCAP)'a %90 idendir. PLAP ve PLAP-benzeri alkalen fosfataz olarak bilinen GCAP ise, %98 oranında birbirine benzer (7,33).

Dokuya spesifik olan PLAP'ın fizyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (6,53). Gebeliğin 12. haftasında sinsisyotrofoblastlar tarafından sentetize edilir. PLAP ve germ hücre alkalen fosfatazı birbirine %98 oranında benzerlik gösterdiğinden, germ hücrelerinden köken alan özellikle tümöral lezyonlarda PLAP, GCAP yerine tanısal bir belirleyici olarak kullanılabilir. Germ hücre orijinli alkalen fosfatazlar, primordial germ hücrelerinin ve gonositlerin migrasyonu sırasında salınır. Testisin germ hücreli tümörlerinden olan seminomda ve karsinoma in situ'da en sık tanı amacıyla kullanılan belirleyicilerden biridir. Bu markerler hastalığın takibinde serolojik olarak da kullanılabilir (34,35,53).

Bazı tümörler hücrel alkalen fosfatazlarda belirgin olarak artışa neden olmaktadır. Bu tümörlerin tanı ve takibinde alkalen fosfataz düzeyinin ölçümü önem kazanmaktadır. Alkalen fosfatazlar kolorimetrik, flow-sitometrik,

immünohistokimyasal olarak ölçülebilir. Dabare ve ark., yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada 16 testis tümörünün tamamında PLAP pozitif iken, 14 mesane tümörü ve 16 baş-boyun tümörünün hiç birinde PLAP ile boyanma olmadığını, GHT'ler dışında diğer tüm tümörlerde PLAP ile boyanma olmadığını belirtmektedirler (54).

PLAP ve PLAP-benzeri enzim, malign tümöral dokuların yanı sıra normal dokularda da reaktif olabilmektedir. Hamilton-Dutoit SJ ve ark., normal ve malign tümör dokuları içeren 254 vakalık geniş bir seride frozen kesitlerinde dokuya PLAP (H317) ve PLAP/PLAP-benzeri-enzim (H17E2; H315)'ler için reaktif monoklonal antikor kullanarak bu durumu araştırmışlar ve normal timus, fetal ve neonatal testis ile 22 malign germ hücreli tümörün 21'inde PLAP/PLAP-benzeri-enzim reaktivitesi saptamışlardır. Termde plasenta, endoserviks ve tuba uterina gibi normal dokularda gözlenen, fakat diğer normal dokularda gözlenmeyen gerçek PLAP (H317 klonu) için pozitivite, over ve proksimal gastrointestinal sistem tümörlerinde sıkça, GHT'de ise nadir (2/22) bulunmuştur. *Bu bulgular PLAP/PLAP-benzeri-enzim pozitivitesinin malign GHT'ler için ileri derecede sensitif, fakat orta derecede spesifik immunohistokimyasal marker'ler olduğunu göstermektedir.* Gerçek PLAP reaktivitesi, yani pozitifliği, daha çok over ve proksimal gastrointestinal sistemden köken alan tümörleri akla getirmelidir. Isıya dirençli ALP'ler normal fetal ve neonatal testis ile timusta immünohistokimyasal yönden GHT'e benzer özelliğe sahip olmakla birlikte, köken aldığı dokuya göre PLAP ve PLAP-benzeri enzim olarak bilinen GCAP'ın ekspresyonu farklıdır (55).

Osteojenik sarkomlu hastaların serumunda kemik kökenli ALP'lar artmaktadır. PLAP, akciğer kanseri olan hastaların serumunda da artar. Bu artış histokimyasal olarak da görülebilir (32). Sead ve ark., anterior mediastende izlenen metastatik akciğer kanserleri ve germ hücreli tümörlerden, timik neoplazmların ayrımı için immünohistokimyasal olarak PLAP uyguladılar. Bu çalışmada 20 akciğer adenokarsinomu, 20 akciğer büyük hücreli karsinomu, 20 akciğer yassı hücreli karsinomu, 20 timoma, 10 invaziv timoma, 10 timik karsinom, 15 germ hücreli tümör seçilmiş; bu vakalardan 20 akciğer adenokarsinomunun 5'i, 20 akciğer büyük hücreli karsinomunun 2'si, 20 akciğer yassı hücreli karsinomunun 1'i, 15 germ hücreli karsinomun 11'i PLAP-benzeri enzim ile pozitif boyanma gösterildiği bildirilmiştir (56).

PLAP, bunlardan başka, meme, serviks, over, mide, kolon, rektum karsinomlarında salınabilmektedir (33,38). Wick ve ark., 37'si germ hücreli, 483'ü ise somatik tümörü içeren 520 vakalık bir seride PLAP benzeri enzim aktivitesini araştırdılar. Somatik tümörlerle germ hücreli tümör ayırımında keratin ve EMA kullandılar. Tüm germ hücreli tümörler ile 62 somatik tümörde PLAP pozitifliği gördüler. PLAP immünoaktivitesini kadın genital sistemi, barsak ve akciğer kanserlerinden gelişen tümörlerde sıklıkla izlerken, meme ve böbrek dokusundan gelişen tümörlerde daha az sıklıkta tesbit ettiler. PLAP ile GHT'de difüz, diğer tümörlerde daha fokal boyanma gözlediler. PLAP-reaktif tümörlerde EMA ve keratin pozitifliğinin de olabileceğine dikkat çekilen çalışmanın sonucunda, malign mezotelyoma, nazofarinks, adrenal, karaciğer, pankreas, mide, prostat, mesane kanserlerinde PLAP reaktivitesinin izlenmediğini ve PLAP'ın, germ hücre diferansiyasyonu gösteren tümörler için spesifitesi düşük, fakat sensitivitesi yüksek bir belirleyici olduğunu vurgulamışlardır (57).

Testiste preinvaziv bir lezyon olan IGCN tanısını koymak için çeşitli immünohistokimyasal ve histokimyasal boyamalar yapılmaktadır. Histokimyasal boyalar arasında PAS boyası yer alırken, immünohistokimyasal boyalar arasında PLAP, OCT3/4, C-kit, AP-2 $\gamma$ , p53 yer almaktadır (58,59). IGCN varlığını araştırmada en sık kullanılan boyama PLAP olup, membranöz ve sitoplazmik pozitiflik göstermektedir. Vakaların büyük bir kısmında IGCN elemanlarında PLAP ile pozitif boyanma elde edilmektedir. Nonneoplastik spermatojenik germ hücrelerinde ise hemen her zaman PLAP negatiftir (4).

Loftus ve ark., yaptığı bir çalışmada IGCN varlığını araştırmak için 46 malign testiküler germ hücreli tümörden 43'ünde yeterli tubul bulunduğunu saptadılar. Bunlardan 30 vakada (%70) IGCN hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde izlenirken, 36 olguda (%84) immunhistokimyasal olarak PLAP boyası ile IGCN tanımlandı. Boyanma daha çok membranöz, sitoplazmik veya paranükleer alanlarda görüldü (38). *Dolayısıyla PLAP immunhistokimyası %14'lük bir iyileşme sağlamış oldu.*

Burke ve ark., yaptıkları 203 testiküler GHT'ü içeren geniş bir çalışmada tümör komşuluğunda IGCN bulunan 155 vakaya immunhistokimyasal olarak PLAP boyası uyguladılar. PLAP ile 155 vakanın 154'ünde (%99) gibi çok yüksek bir



oranda pozitif boyanma gösteren bu vakaların, boyanma yaygınlığı bakımından %25'inden daha azı (+), diğerlerinin (++) ve (+++) oranında boyandığı saptandı. Boyanma lokalizasyonu sıklıkla sitoplazma membranında, bazen intrasitoplazmik ve perinükleer olarak görüldü. Sonuçta PLAP'ın IGCN tanısı için çok hassas bir boyama yöntemi olup, tanıda güvenilir bir belirleyici olduğu belirtildi (60).

Manivel ve ark., yaptıkları çalışmada peroksidaz-antiperoksidaz (PAP) tekniği ile GHT'lerin tanısında PLAP poliklonal antikorunun sensitivitesini araştırdılar. Çalışmada 89 materyalin 63'ünde incelemek için yeterli seminifer tubul izlendiği belirtildi. Altmışüç spesmenin 53'ünde (%84) IGCN tesbit edildi ve bunların % 98'inde PLAP ile pozitif boyanma saptandı (61).

Çalışmada da difüz ve fokal IGCNU içeren seminifer tubullerle IGCNU içermeyen tubullerde PLAP boyasının boyama şiddeti araştırıldı. 49 testiküler germ hücreli tümör olgusunun 8'inde (%16) inceleme için yeterli seminifer tubul izlenmedi. IGCNU difüz olan tümörlerde PLAP ile kuvvetli pozitiflik daha yüksek oranda elde edildi. Fokal alanlarda IGCN içeren tümörlerde PLAP ile fokal pozitiflik oranı yüksek olarak izlendi. Yirmidört IGCN içeren tümör materyalinin 22'si (%92) PLAP ile pozitif boyandı. İstatistiksel olarak IGCN içeren ve içermeyen seminifer tubullerin ayırımında PLAP boyasının şiddeti arasındaki ilişki anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). H&E boyalı preparatlarda 17 IGCN izlenmeyen tümörün 3'ünde (%17.6) PLAP fokal pozitif boyandı. Boyanma daha çok membranöz olup zayıf sitoplazmik boyanma daha az olarak izlendi. Buna göre PLAP, IGCN varlığını değerlendirmede genel olarak histopatolojik bulgularımızı desteklemektedir. Ama hematoksilen-eozin ile gözden kaçan fokal alanlarda IGCNU içeren 3 (%16) olguda daha PLAP'ın fokal pozitifliği, bu boyanın tanıdaki önemini göstermektedir.

Testisin germ hücreli tümörlerinin kendi arasında ve diğer bazı tümörlerle histopatolojik olarak ayırıcı tanısı bazen çok güçtür. Oysa bu tümörlerin prognozları büyük farklılıklar göstermektedir. TGHT'lerin tanısında en sık kullanılan markerlerden olan PLAP seminomlarda %87-98 oranında difüz ve membranöz pozitifdir. Diğer germ hücreli tümörlerde de PLAP pozitifliği olabilir; fakat boyanma paterni fokal ve sitoplazmiktir (4).

Niehans ve ark. tarafından yapılan çalışmada testiküler germ hücreli tümörü olan 121 vaka incelenip, seminomda %87, embriyonal karsinomda %86, yolk kesesi

tümöründe %53, koryokarsinomda %54 PLAP (+) immunoreaktivitesi gözlemlendiği belirtilmiştir. Boyanma yaygınlığı açısından seminomda PLAP difüz boyanma gösterirken, diğer germ hücreli tümörlerde fokal idi. Boyanma paterni ise sıklıkla kuvvetli membranöz tarzda olup, ancak bazı hücreler granüler sitoplazmik boyanma gösterdi. Oniki teratom vakasının birinde (%8), PLAP, sadece kolumnar epitelyal hücre ile dōşeli gland yapılarında sitoplazmik olarak boyandı (37).

Jacobsen GK ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise, 33 testiküler germ hücreli tümör vakasına PLAP uygulanmış, 19 seminom vakasının 18'inde %95 oranında, 14 non-seminomatöz tümörün ise 14'ünde (%100) pozitif boyanma izlendi. PLAP ile boyanma non-seminomatöz tümörlerden embriyonal karsinom ve koryokarsinomda izlenirken, yolk kesesi tümörü ve teratomun komponentlerinde PLAP negatifti; boyanan hücrelerin sayısının seminomda embriyonal karsinomdan daha yüksek bulunduğu, ayrıca koryokarsinomun sinsityotrofoblastlarında ve seminomda sinsityotrofoblast benzeri hücrelerinde boyanmanın belirgin olarak izlendiği belirtilmiştir (62).

Suster ve ark., 120 testiküler ve mediastinal germ hücreli tümörü vakasına immünohistokimyasal olarak PLAP uygulamışlar; testiküler seminom olan 24 vakanın 12'sinde (%50), mediastinal seminomu olan 40 vakanın 37'sinde (%92.5) olmak üzere PLAP pozitifliği daha sık izlenirken, tümü testiste bulunan 19 embriyonal karsinom vakasının 5'inde PLAP'ın tümör hücrelerinde kümeler halinde fokal pozitif boyandığını, 18 mediastinal, 7 testiküler yolk kesesi tümörünün hiçbirisinde, ayrıca 6'sı mediastinal, 3'ü testiküler koryokarsinomun hiçbirinde PLAP ile boyanma olmadığını belirtmişlerdir. Testiküler ve mediastinal seminomlarda boyanma paterni arasındaki fark, mediastinal tümörlerin daha matür hücrelerden oluşmasına bağlı olabileceğini belirtmektedirler (36).

Burke ve Mostofi, 63'ü saf GHT, 128'i mikst GHT, 12'si IGCN ve çevre testis dokusundan oluşan 203 testiküler GHT'ü içeren çalışmada, tümörleri histolojik tiplerine ve saf-mikst oluşuna göre ayırıp boyanma oranı ve yoğunluğunu karşılaştırmışlar, her ikisinde birbirine çok yakın oranlarda (kombine seminom vakalarında PLAP immunoreaktivitesini %96, saf seminom vakalarında %95) pozitif bulmuşlar; boyanma paterni bakımından da seminom olgularında daha çok membranöz, nadiren de intrasitoplazmik veya perinükleer boyanma görmüşlerdir. Bu

boyanma yoğunluk bakımından daha çok orta (++) ve kuvvetli (+++) olmuştur. Embriyonal karsinomlarda %96 (78/81), saf formlarında ise %90 (9/10) gibi seminoma yakın oranlarda, yoğunluk bakımından yine orta ve kuvvetli olmak üzere pozitif boyanma saptanırken, yaygınlık bakımından 1+ ve 2+ daha çok vakada görülmüş; boyanma paterni, daha çok intrasitoplazmik, bazen de hücre sınırlarını çevreleyen tipik membranöz boyanma şeklinde olmuş; saf ve mikst embriyonal karsinom ve IGCN içeren ve içermeyen subgruplar arasında boyanma oranı ve yoğunluğu arasında fark görülmemiştir. Yolk kesesi tümörlerinde PLAP ile %25 oranında, zayıf şiddette ve fokal boyanma izlenmiştir. Bu serideki 57 matür, 59 immatür teratomda PLAP ile %5 oranında zayıf-fokal boyanma olmuş, ve bu boyanma glandüler yapıların lüminal yüzeyine sınırlı kalmıştır. Serideki 11 koryokarsinom vakasının 5'inde %45 oranındaki boyanma, sinsityotrofoblastları da içeren zayıf-fokal boyanma tarzında olmuştur. Sonuç olarak, PLAP'ın testiküler GHT'lerde değişik derecelerde ekprese edildiği ve IGCN, seminom ve embriyonal karsinom için hassas bir 'belirteç' olduğunu desteklediği belirtilmiştir (60).

Manivel ve ark., testiküler GHT'ü olan 89 vakanın tanısında tümör hücrelerinde PAP tekniği ile PLAP poliklonal antikorunun sensitivitesini araştırmışlar; PLAP boyama paternini membranöz veya sitoplazma ile kombine boyanma şeklinde görmüşler; çoğu saf formda olan toplam 56 seminom vakasının 55'inde (%98), çoğu mikst tümörlerin kombinasyonuna katılan embriyonal karsinom odakları ile saf embriyonal karsinomdan meydana gelen 35 vakanın 34'ünde (%97) (+) PLAP immunoreaktivitesi; 17'si kombine, 3'ü saf olmak üzere toplam 20 yolk kesesi tümörünün 17'sinde (%85) (+) PLAP immunoreaktivitesi buldular. Boyanma paterni seminom ve embriyonal karsinomda difüz, yolk kesesi tümöründe fokal, buna karşılık boyanma yoğunluğu bu tümörlerin hepsinde orta derecede tesbit edildi. Çoğu (17'si) mikst formda olan 22 teratomun toplam 6'sında PLAP ile pozitiflik görüldü. Bu boyanma olguların 5'inde immatür glandları, 2'sinde immatür kıkırdağı, matür teratomun birinde ise ekzokrin ve endokrin pankreas dokusunu fokal olarak, 2 koryokarsinom vakasının birinde sitotrofoblastik hücrelerde fokal boyanma; ayrıca GHT dışında gonadoblastom vakalarının tamamında PLAP ile kuvvetli boyanma görülmüş, infertil hastaların biopsilerinde, normal germ hücreleri, Sertoli ve Leydig

hücrelerinde boyanma olmamış ve yazarlar buradan PLAP reaktivitesinin tümör tipine göre değişeceği sonucuna varmışlardır (61).

Decaussin M. ve ark. ise, 7 spermatositik seminom vakasında PLAP ile boyanma izlemediler. Bu, spermatositik seminomun antijenik özellikleri bakımından da diğer GHT'lerden farklı bir antite olduğunu göstermektedir (63).

Çalışmada testiküler GHT'de histolojik tiplere göre PLAP immünoaktivitesinin boyanma oranı incelendi. En yüksek oranda boyanma seminom vakalarında oldu. 30 seminom vakasının 29'unda (%96.7), 25 embriyonal karsinom vakasının 20'sinde (%80), 13 yolk kesesi tümörü vakasının 3'ünde (%23.1), 14 teratom vakasının 1'inde (%7.1) oranında pozitif boyanma oldu. Orta (%36.6) ve difüz (%40) boyanma oranı seminomda en sık olup, diğer tümörlerle karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p < 0.05$ ). Fokal boyanma en sık embriyonal karsinomda (%64) görüldü. Spermatositik seminom vakalarımızda hiç boyanma olmadı. Seminom (%3.3) ile embriyonal karsinom (%20) vakalarında görülen PLAP ile boyanmama fenomeni, teratom (%92.8), yolk kesesi tümörü (%76.9) ve spermatositik seminomda (%100) gibi yüksek oranlara varmıştır. PLAP ile boyanmayan tümörlerde seminom ile yolk kesesi tümörü, seminom ile teratom, seminom ile spermatositik seminom arasında, ayrıca embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Seminom vakalarında boyanma sıklıkla membranöz olup, bazı tümörlerde hem membranöz hem de sitoplazmik alanda ve şiddetli oldu. Seminom dışındaki tümörlerde boyanma daha çok sitoplazmik olup boyanma şiddeti düşük izlendi. Teratomda boyanma glandüler yapıların lümeninde ve zayıf şiddette oldu. Saf ve mikst GHT'lerde boyanma oranı ve yoğunluğu açısından istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p > 0.05$ ).

Normal dokuda büyümeyi uyaran protoonkogen, büyümeyi inhibe eden antionkogen ve programlı hücre ölümü yani apoptozu düzenleyen genler vardır. Kanser gelişimine neden olan genetik hasar veya mutasyon, temel olarak bu düzenleyici genleri hedef alır. Protoonkogenler hücre siklusunda sinyal iletiminde, nükleer düzenleyiciler, siklus düzenleyici, büyüme faktörü ve reseptörleri şeklinde görev alırlar. Platelet derive büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforming büyüme faktörü (TGF- $\alpha$ ), c-erbB2 gibi büyüme faktörlerinin

aşırı ekspresyonu ile; ras, abl gibi sinyal iletilen proteinler nokta mutasyonu ve translokasyon ile; myc, N-myc gibi çekirdekte bulunan proteinler translokasyon, amplifikasyon ile; siklin D, CDK4 gibi siklus düzenleyici genler ise amplifikasyon yolu ile kanser gelişimine neden olurlar. Yani protoonkogenlerin mutasyonunun yanı sıra aşırı yapıldığı tümörler de vardır. C-kit geni de çeşitli hücrelerde bulunan bir protoonkogenidir (3,39,49).

C-kit protoonkogeni tirozin kinazın yüzey membran reseptörüdür. PDGF ve SCF-1 (Stem cell faktör) reseptörlerinin bir üyesidir. KIT aslında bir retrovirustan izole edilmiş olup hücredeki homoloğu C-kit'tir. KIT için esas ligand SCF'dir. Bu liganda bağlanarak fosforile olup aktive olur. Hücrelerin adezyonu, kemotaksisi, proliferasyonu, diferansiyasyonu ve apoptozun regülasyonunu aktive eder. Apoptotik proteinleri inhibe ederek ve hücre proliferasyonunu ise aktive ederek etki gösterir (11,12,39,42) .

Normalde C-kit sistemi, bazı hematopoietik hücreler, melanosit, mast hücresi, gastrointestinal sistemde Cajal'ın interstisyel hücreleri, germ hücrelerinde ve bu hücrelerden gelişen tümörlerde bulunmaktadır. Ayrıca deri eklerinin bazal epitel hücreleri, ter bezlerinin gland epiteli, memenin duktal epiteli ve serebellar nöronlarda da KIT pozitifliği izlenir. C-kit sistemini içeren hücrelerden gelişen tümörlerde sıklıkla C-kit ekspresyonu artmış olarak izlenmesine rağmen, bazı organ sistemlerinden gelişen tümörlerde azalmış olarak izlenebilir (39).

C-kit mutasyonu esas olarak mast-miyeloid hücrelerden gelişen mastositoz-akut miyeloid lösemi, gastrointestinal sistemin Cajal hücrelerinden gelişen gastrointestinal stromal tümörlerde, germ hücrelerinden gelişen seminomda görülmektedir. Sihto ve ark., solid kanseri olan 334 vakalık çalışmada 18 gastrointestinal stromal tümörlü hastaların tamamında, küçük hücreli akciğer kanseri olan 30 hastanın 10'unda, testiküler teratokarsinom olan 17 vakanın 4'ünde (%24) C-kit pozitifliği izlediler; KIT eksprese eden tümörlerde mutasyonun sıklığını daha az buldular; ayrıca 8 embriyonal karsinom olgusunun 1'i KIT ekspresyonu orta şiddette (++) iken, 7'sinde boyanma olmadığını bildirdiler. Bu çalışmada 17 teratokarsinom olgusunun 1'i kuvvetli 3(+), 2'si orta şiddette 2(+), 1'i zayıf 1(+) boyandı; 13'ünde ise boyanma olmadı (40).

Çoğu GIST’de C-kit proteinin immünoreaktivitesi ve bu gendeki mutasyon olması bu tümörlerin gelişiminde bu gendeki farklı biyolojik etkilerin rol oynadığını desteklemektedir. Hasegawa T. ve ark., 171 GIST vakasında C-kit’in tanısal değeri olduğunu bildirmektedir (64).

C-kit pozitifliği anjiosarkom, Ewing sarkom, sinovyal sarkom, leiomyosarkom, malign fibröz histiyositom gibi sarkomlarda da değişen oranlarda izlenmektedir. Ayrıca akciğer ve diğer organlarda gelişen küçük hücreli karsinomda, tükrük bezinin adenoid kistik karsinomunda, böbreğin kromofob karsinomunda, çok seyrek olarak over ve meme karsinomlarında C-kit ekspresyonu artar (11,12,40,42).

Sever ve ark., 30 ovarian disgerminom tanısı almış vakada C-kit (CD117) ekspresyonunun tanı ve tedaviye etkisini araştırdılar; patolojik evre veya tümör boyutu ile C-kit boyanması arasında istatistiksel ilişki bulamadılar; seminomlarda rapor edilen %78-100’lük boyanma oranı ile karşılaştırıldığında 30 disgerminom vakasının 26’sı (%87) C-kit için reaktif bulunduğunu, böylece over disgerminomlarında da C-kit’in tanısal olarak kullanılabilceği belirtildi. Prognozu genel olarak iyi seyreden disgerminomlarda bu reseptör klasik tedaviye alternatif olarak ve/veya kombine şekilde immünoterapi için kullanılmalıdır (65).

İnvaziv GHT’lerin prekürsör lezyonu olan IGCN’nin gelişimin erken dönemindeki fetal gonositlerden orijin aldığı bilinmektedir. C-kit primordial germ hücrelerinin gelişimi ve migrasyonu için kritik bir rol oynar. Rajpert-De Meyts E ve ark., testiküler GHT içeren 36 vakada IGCN inceledi, C-kit ekspresyonunu IGCN içeren tüm vakalarda yüksek oranda gördüler; IGCN varlığını tümör komşuluğunda izlediler. Karsinoma in situ hücrelerinde protoonkogen ekspresyonunun yüksek olması, bu hücrelerin primordial germ hücrelerinden orijin aldığı görüşünü desteklemekte ve yazarlar da, C-kit proteininin, testisin karsinoma in situsunu tanımlamada kullanılacak yeni bir belirleyici olduğunu belirtmektedirler (66).

Prepubertal GHT’lerde IGCN çok nadir görülür ve C-kit ile de membranöz boyanır. (25). Chou ve ark. prepubertal ve postpubertal testiküler GHT’de IGCN içeren tümörlerde C-kit ekspresyonunu araştırmışlar, 15 yolk kesesi tümörü içeren prepubertal dokuda tümör komşuluğunda IGCN izlememişler, 10 postpubertal non-seminomatöz GHT içeren 7 vakada IGCN saptamışlar, boyanmanın daha çok sitoplazmik olup membranöz boyanma da görüldü (67).

Jorgensen N. ve ark. 10'u ilk trimester, 76'sı ikinci ve üçüncü trimestere ait testis dokusunun fetal germ hücrelerinde testiküler karsinoma in situ tanısı için kullanılan immünohistokimyasal markerlerin ekspresyonunu incelediler ve C-kit protein üretimi ilk trimestere ait 10 testis dokusunun 3'ünde tanımladılar. Çalışma adultlarda gelişen karsinoma in situ belirleyicilerinin normal fetal germ hücrelerinde de ekspresyonundan dolayı, karsinoma in situnun fetal germ hücrelerinden geliştiği varsayımına dayanmaktadır. Buna göre postnatal dönemde gelişen karsinoma in situda hücrelerde antijenlerin yeniden ekspresyonuyla ilgili açıklama yapılmalıdır. Bu çalışmada normal fetal germ hücrelerinin karsinoma in situ hücrelerine dönüşümünü, fetal gelişimin 9. haftasının sonunda olduğunu düşündüler, erken fetal germ hücrelerinde C-kit ekspresyonunun olması nedeniyle, C-kit ve ligandının erken testiküler gelişimde önemli rol oynadığını belirttiler (68). Honecker ve ark. erken gelişim dönemlerinde C-kit ekspresyonu sıklıkla yüksek iken, zamanla derece derece azalma saptadılar, fakat neonatal germ hücrelerinde de bazen C-kit ekspresyonu gördüler. Bu bulgular IGCNU'nun, intrauterin gelişimin erken dönemlerinde, gelişimi bir aşamada durmuş muhtemelen primordial germ hücrelerinden köken aldığı görüşünü destekler nitelikte bulundu (69).

Çalışmada difüz ve fokal IGCNU içeren tümörlerin tamamı (%100), C-kit ile değişen oranlarda boyandı. C-kit ile (++++) boyanma yönünden difüz IGCN içeren (%77.8) ve IGCN içermeyen (%17.6) tümörler arasında ve fokal IGCN içeren (%66.7) ile IGCN içermeyen (%17.6) tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). C-kit ile boyanmayan tümörlerde IGCN içeren (%0) tümörler ile içermeyen tümörler (%47.1) arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Buna göre difüz ve fokal IGCN içeren tümörlerde C-kit sıklıkla (++++) ve membranöz boyanmaktadır. Fakat IGCN içermeyen normal tubullerde, andiferansiye hücrelerde C-kit pozitifliği görülmesinden dolayı IGCN varlığını ortaya koymada PLAP kadar duyarlı olmadığı kanısına varıldı.

C- kit geninde mutasyon ve ekspresyon artışı, KIT reseptörü taşıyan sistemlerden olan testiküler GHT gelişimine neden olmaktadır. Sakuma ve ark. 4'ü mikst GHT, 29'u saf seminom olan 34 testiküler GHT'ü, Ki67 indeksi, apoptotik indeks, KIT, SCF ekspresyonu ve C-kit mutasyonu açısından araştırdılar. Bir kısmı parafine gömülü doku, bir kısmı da taze frozen kesitlerinden meydana gelen bu

seride, 4 seminomda C-kit mutasyonu bulundu, 29 saf seminomun tamamında boyanma membranöz tarzda, 4 mikst GHT'de ise boyanma seminom komponentine sınırlı ve membranöz tarzda idi, SCF ekspresyonu ise 3 vakada teratom ve yolk kesesi tümörüne sınırlı kalırken, teratomda SCF ekspresyonu membranöz alanda, yolk kesesi tümöründe ise hem membranöz hem de sitoplazmik tarzda olmuş, rete testis ve epididim epitelinde SCF pozitifliği görüldü (11).

Ízquierdo ve ark., 60 germ hücreli tümörde C-kit protoonkogen üretimini araştırdılar; bu tümörlerin 53'ünün testiküler, 7'sinin ekstragonadal bölgeden köken aldığını, 45 vak'anın primer olarak köken aldığı organdan, 15 vaka metastazından saptandığını, 28 seminom vakasının tamamında (%100) C-kit ile hücrelerin çoğunda membranöz boyanma olduğunu, 29 non-seminomatöz tümörden 9'unda (%32) bazı hücrelerde sitoplazmik C-kit pozitifliği görüldüğünü, 3 mikst GHT'de boyanmanın seminom komponentine sınırlı kaldığını bildirdiler; normal testiste C-kit ekspresyonunu bazı bazal tubuler hücrelerde ve andiferansiye spermatogonyalarda tanımladılar; buna göre GHT'in onkogenezinde C-kit'in önemli rol oynadığını ve C-kit regülasyonundaki azalmanın seminomatöz bir tümörün non-seminomatöz tümöre dönüşümünde kritik bir rolü olduğunu vurguladılar. C-kit GHT tanısında dikkate alınmalı, özellikle ekstragonadal seminomların tanısında yardımcı olduğu belirtilmektedir (70).

Leroy ve ark., embriyonal karsinomun seminomdan ayırımında immünohistokimyasal olarak CD30 ve CD117(C-kit) kombinasyonunun değerini incelediler. Çünkü solid embriyonal karsinom ile seminomu ışık mikroskop seviyesinde ayırt edebilmek çok güçtür. Oysa iki hastalığın tedavisi ve prognozu oldukça farklıdır. Seminom tedavisinde orşiektomi ve lenf nodlarına radyasyon yeterli iken, embriyonal karsinomda orşiektomi, retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu veya kemoterapi uygulanır. Yirmi beşi saf seminom, 7'si mikst GHT'ün bir komponenti olarak toplam 32 seminom vakası ve 7'si saf, 7'si mikst GHT'ün bir üyesi olarak toplam 14 embriyonal karsinom vakası incelemeye alındı; 35 seminomun 27'sinde C-kit pozitif, CD30 ise negatif bulunurken, üç seminomda C-kit ve CD30 negatif, iki seminomda C-kit ve CD30 pozitif olup C-kit negatif / CD30 pozitif vaka izlenmedi; 14 embriyonal karsinomun 11'i CD30 pozitif, C-kit ise negatif; iki embriyonal karsinomda CD30 ve C-kit negatif; bir vakada CD30 ve C-kit



pozitif olup, CD30'un negatif C-kit'in ise pozitif olduğu vaka saptanmadı. Buna göre çalışmada CD30 ve C-kit kombinasyonunun seminomun embriyonal karsinomdan ayırımında yardımcı olduğu ileri sürüldü (43).

Bokemeyer ve ark., 32 testiküler kanserli hastada C-kit proteinini ve bunun ligandı olan SCF'ü immünohistokimyasal olarak incelediler, 5 normal testis dokusundan yapılan hücre kültüründe üç testiste non-seminomatöz tümör saptadılar, 9 saf seminomun 7'sinde (%78) tümör hücrelerinin yüzeyinde SCF ve C-kit proteini kuvvetli pozitif, embriyonal karsinom içeren 14 non-seminomatöz tümörde SCF ve C-kit proteini tamamen negatif iken, sadece 6 tümörde soluk boyanma saptadılar. Bu serideki 11 diferansiye teratom olgusunun 8'inde (%73) SCF ve C-kit kuvvetli pozitiflik görüldü. Kültürü yapılan testiküler hücre dizilerinde hücreler C-kit ile zayıf boyanırken, SCF ile boyanma olmamıştır. Normal testiküler dokulardaki germ hücreleri C-kit için kuvvetli immunohisyo kimyasal reaksiyon gösterirken, SCF pozitivitesi, yalnız tubuler membranda ve Sertoli hücrelerinin yüzeyinde tesbit edilmiştir. SCF /C-kit sistemi, spermatogenez için zorunlu mikro-çevre oluşturulduğunda normal testiküler dokuda düzenleyici fonksiyona sahiptir. Özellikle non-seminomatöz testiküler GHT'lerde bu düzenleyici sistemde kayıp görülmüştür. SCF/C-kit sisteminin normal spermatogenezde düzenleyici olması, infertilitenin tanı ve tedavisinde yeni imkanlar sağlayabileceğini düşündürmektedir (71).

Strohmeier ve ark., normal ve malign testiküler dokuda C-kit ekspresyonu ve bunun ligandı olan SCF sistemini, Northern blot analizi ve immünohistokimyasal yöntemlerle incelemişlerdir. C-kit-mRNA-protein-ekspresyonu testiküler GHT'den seminomatöz tiplerde %80, non-seminomatöz tiplerde %7 oranında görülmüştür. Spermatogenez korunmuş olan malign tümör komşuluğundan alınmış 18 normal testiküler dokunun tamamında C-kit ile membranöz tarzda boyanma olduğunu izlemişlerdir. Ekspresyon spermatogoniumlar ve spermatozoidlerde kuvvetli olup, haploid spermatozoidlerle Leydig hücresi ve interstisyel hücrelerde boyanma izlenmedi. On seminomda ve geniş seminom alanları içeren 4 mikst GHT'de C-kit ekspresyonu membranöz tarzda olup seminom komponentine sınırlı bulundu; 2 teratokarsinomda C-kit ekspresyonu heterojen şekilde andiferansiye tümör hücrelerinde görüldü; 4'ü embriyonal karsinom, 4'ü teratokarsinom, 2'si mikst GHT olan 10 non-seminomatöz

tümörde ise ekspresyon izlenmedi. SCF ise Northern blot tekniği ile Sertoli hücrelerinde ve nadir tümör hücrelerinin sitoplazmasında görüldü (42).

Chou ve ark., prepubertal ve postpubertal testiküler GHT'de p53, C-kit ve CD34 ekspresyonunu araştırmışlar; bu amaçla 15 prepubertal, 10 postpubertal GHT içeren 25 vakayı incelemişler; 15 prepubertal testiküler GHT'ü olan vakaların tamamının yolk kesesi tümörü içerdiği, bunların 9'unda, 11 normal testis dokusunun 8'inde C-kit pozitifliği bulunmuştur. Prepubertal 15 yolk kesesi tümörünün komşuluğunda IGCN izlenmezken, aynı serinin 3'ü saf embriyonal karsinom, 5'i embriyonal karsinom+yolk kesesi tümör ve/veya koryokarsinom komponentlerinden meydana gelen mikst GHT, 2'si de malign teratomdan oluşan toplam 10 vakalık postpubertal GHT'ler bölümünde, bu 10 vakanın 2'sinde C-kit ekspresyonu izlenmiştir. Halbuki bu yaş grubunda 9 normal kontrol dokusunun 5'inde C-kit ekspresyonu izlenmiş; ayrıca IGCN 7 tümörde saptanmış, boyanma daha çok sitoplazmik olup membranöz boyanma da görülmüş; normal seminifer tubul komşuluğunda difüz sitoplazmik pozitif, postpubertal tümörlerde yolk kesesi ve dev sınıtyotroblastlarda fokal pozitif, tümörlerin çoğunda negatif saptandığı belirtilmektedir. Prepubertal ve postpubertal testiküler GHT'lerin gelişimi farklı yollar üzerinden olmaktadır. Günümüzde testiküler GHT'lerin primordial germ hücrelerinden köken aldığına inanılır. Seminom, IGCN ve primordial germ hücreleri ultrastrüktürel olarak birbirine benzerler. Bu yüzden infant GHT'lerinde C-kit ekspresyonu sıktır. Bu çalışmada C-kit ekspresyonunun postpubertal testiküler GHT'de azalmış olduğu bulundu (67).

Decaussin ve ark., 7 spermatositik seminom vakasının tümünde (%100) C-kit ekspresyonu görmüşlerdir. Bu ekspresyon vakaların 4'ünde fokal membranöz boyanma, 3'ünde ise difüz ve çok kuvvetli olmuş, buna göre C-kit pozitifliğinin spermatositik seminom tanısında yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir (63).

Çalışmada testiküler GHT'lerde C-kit ekspresyonu karşılaştırıldı: C-kit ile (+++) boyanma sadece seminomda izlendi:

a) C-kit ile (+++) boyanan seminom ile seminom-dışı tümörler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

b) C-kit ile (++) boyanan tümörlerde seminom ile embriyonal karsinom ve Yolk kesesi tümörü arasında farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

c) C-kit ile (+) boyanan tümörlerde de seminom ile teratom, seminom ile spermatositik seminom arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

d) Seminom ile embriyonal karsinom ve seminom ile yolk kesesi tümörü arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamsız idi ( $p>0.05$ ). C-kit ile boyanmayan tümörler seminom-dışı tümörlerden ibaretti ve bu tümörler arasında farklılık anlamsız idi ( $p>0.05$ ).

e) En kuvvetli boyanma sadece seminom olgularında izlenip C-kit tüm seminom olgularında (%100) boyanma izlendi. Boyanma sıklıkla membranöz olup sitoplazmik boyanma da görüldü.

f) Non-seminomatöz olgularda zayıf ve orta şiddette boyanma, sıklıkla sitoplazmik olarak görüldü. Daha önce yapılan çalışmalara uygun olarak spermatositik seminom olgularında zayıf C-kit pozitifliği saptandı.

g) Sonuç olarak, seminom ile seminom-dışı tümörlerin ayırıcı tanısında C-kit ile kuvvetli (+++) ve orta (++) membranöz boyanmanın tanıyı destekler nitelikte olduğu gözlemlendi.

C-kit ile testisin GHT'de yapılan çalışmalar genellikle seminomatöz ve non-seminomatöz tümörlerin ayırıcı tanısına yöneliktir. Ek olarak saf ve mikst GHT'lerin ayırıcı tanısında da önemli olabileceği düşünüldü. Çalışmada C-kit ile (++) , (+++) boyanan ve boyanmayan saf ve mikst germ hücreli tümörler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Buna göre zayıf pozitif boyanan saf ve mikst GHT'ler arasında anlamlı farklılık izlenmezken, C-kit ile (++) ve (+++) boyanma saf GHT'lerde daha belirgin oranda yüksekti. Saf GHT'lerin tamamı C-kit ile değişen oranlarda pozitif iken, mikst GHT'lerin yarıya yakınında boyanma izlenmedi. Saf GHT olgularının büyük kısmını seminom oluşturmakla birlikte seminom-dışı olan saf GHT'lerde de C-kit boyanma yoğunluğu artmıştı. Bundan dolayı saf GHT'lerde C-kit'in daha kuvvetli olmasının, sadece çoğu olgunun seminom olması dışında, tek yönde diferansiye olan tümörlerdeki malign hücrelerin primitif germ hücrelerine daha çok benzemesine bağlı olabileceği düşünüldü.

Testisin germ hücreli tümörlerinin prognozunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri klinik evre ve tümörün histolojik tipidir. Histolojik olarak non-seminomatöz germ hücreli tümörler seminomlara göre daha

kötü prognozlu seyretmektedir. Non-seminomatöz testiküler GHT'lerden özellikle embriyonal karsinomda vasküler ve lenfatik yapılara, paratestiküler dokulara ve epididimise infiltrasyon sıklıkla görülür. Tümörde patolojik evreleme yapabilmek için paratestiküler ve vasküler yapılara invazyon belirtilmelidir (4,23,24,26). Erken evre hastalarda patolojik olarak histolojik tipin yanı sıra, tümör çevresi vasküler-lenfatik invazyon ve tümör boyutu önem taşımaktadır. Metastatik hastalığı olan vakalarda metastazın lokalizasyonu, tümör belirleyicilerinin yüksek olması ve akciğer dışında da metastazın varlığı prognoz açısından önem taşır. Serumda yükselen çeşitli tümör marker'leri, tümörde artan trofoblastik veya diğer komponentleri işaret ederek, sıklıkla kötü prognozu göstermektedir (4,16,23,44). Göze ve ark., 20 vakalık seriden elde ettikleri bulgulara dayanarak, testis tümörlerinden çok parça alınmasının histolojik tiplendirme, dolayısıyla tedavi ve prognoz açısından önemine işaret etmişlerdir (72). Buna mukabil, Pont ve ark., retrospektif olarak yaptıkları çalışmada klinik Evre-1 non-seminomatöz TGHT'de en önemli prognostik faktör olarak kan damarı invazyonunu esas almaktadırlar (73). Riese ve ark., non-seminomatöz TGHT'ü olan vakalarda embriyonal karsinom oranı ve patolojik evresi yüksek olanlarda retroperitoneal metastaz için artmış risk tanımladılar (74). Birçok risk faktörü tanımlanmasına rağmen testis tümörlerinde tümörün biyolojik davranışını belirlemek için çeşitli ek yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Bunlardan biri de tümör proliferasyon indeksi olarak bilinen Ki-67'dir (4).

Ki-67, birçok malign tümörde doğru histopatolojik tanı, prognoz ve tedavi yaklaşımlarını belirlemede kullanılan bir proliferasyon kinetiği belirleyicisidir. Ki-67 monoklonal antikoru, bu bakımdan çok yerde kullanılmakla birlikte, özellikle glial tümörlerde grade'ler arası ayırimda yardımcı bir metoddur. Dolayısıyla prognoz belirlerken kullanılmaktadır (45,46). Kordek ve ark., farklı grade'lerde 59 astrositik tümörde immünohistokimyasal olarak proliferasyon hücre nükleer antijen (PCNA) ve Ki-67 boyanma özelliklerini karşılaştırmışlar, PCNA'yı düşük ve yüksek dereceli tümörlerin ayırimında istatistiksel olarak anlamlı bulurken, farklı dereceli astrositik tümörlerin ayırimında Ki-67'yi daha spesifik ve sensitif olduğunu belirtmektedirler (75).

Ki-67, bundan başka, meme kanseri, yumuşak doku tümörleri, akciğerin yassı hücreli karsinomu ve adenokarsinomu, astrositom ve meningiomda prognoz belirleyici olarak kullanılmaktadır. Fakat kolorektal karsinomlarda prognoz ile proliferasyon indeksi arasında ilişki izlenmemiştir (45). Rudolph ve ark., parafine gömülü 189 karsinom vakasında tümörün derecesi, mitotik indeksi ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar; 189 vakada kolorektal karsinom, meme karsinomu, yassı hücreli karsinom, akciğerin küçük hücreli-dışı ve küçük hücreli karsinomunu içeren olguları seçmişler; tümör grade'i ile Ki-67 arasındaki en yüksek ilişkiyi meme kanserinde ve akciğerin küçük hücreli dışı kanserinde, en zayıf ilişkiyi kolorektal adenokarsinom ve küçük hücreli akciğer karsinomunda bulmuşlardır. İlginç olarak bu ilişki, yassı hücreli karsinomlarda kuvvetli bulunmuştur (76).

Brown DC. ve ark., invaziv serviks karsinomu olan 31 serviks biopsisinde immünohistokimyasal olarak monoklonal Ki-67 antikorunu kullanarak tümör proliferasyon hızını incelediler; Ki-67 ile boyanan hücrelerin yoğunluğunu, çoğu olguda tümörün %10-50'si arasında bulmuşlar, bu belirleyiciyi, "*tümör büyüme hızındaki değişiklikleri oldukça iyi yansıtan bir indikatör*" olarak tanımlamışlardır. Burada tümörün histolojik parametreleri olan hücre tipi veya tümör diferansiyasyonu ile pozitif hücrelerin yüzdesi arasında ilişki anlamlı bulunmamış; buna göre servikal tümör biopsilerinin Ki-67 antikorunu ile incelenmesinin uzun dönem klinik takipte prognoz açısından önemli yeni bir yaklaşım olabileceğini ileri sürülmüştür (77).

Normal immatür ve malign germ hücrelerinde (IGCNU) PLAP, C-kit ve pluripotent hücre markeri olan OCT3/4 gibi proteinler bulunmaktadır. Honecker ve ark., ikinci ve üçüncü trimesterde erkek gonadlarında PLAP, C-kit, OCT3/4 ve Ki-67 gelişimin erken döneminde yüksek düzeyde iken bu marker'lerin zamanla azaldığını saptadılar. Ki-67, 24. haftada tubuller içindeki gonositlerde belirgin iken, 24. haftadan sonra tubuler içinde santralde ve bazalde eşit düzeyde görülüp, zamanla pozitif hücrelerin tubullerin santralinde lokalize olduğunu ve sayısının da azaldığını saptadılar (68).

Testisin germ hücreli tümörlerinde Ki-67 indeksi hastaların risk grubunu belirlemek için kullanılmaktadır. Heidenreich ve ark., klinik olarak evre-1 non-seminomatöz germ hücreli tümör içeren 89 vakayı lenf nodu tutulumuna dair patolojik risk faktörleri açısından araştırdılar. Bu amaçla tümörün proliferasyon

hızını, yani Ki-67 indeksini belirlemek için MIB-1 monoklonal antikorunu kullandılar. H-E boyalı preparatlarda vasküler invazyon ve embriyonal karsinomun yüzdesi, NSGHT'lerde lenf nodu tutulumunun iyi bir indikatörü olarak kabul edildi. Veriler gözden geçirildiğinde Ki-67 ile tümöral hücrelerde boyanma oranı, embriyonal karsinom ve immatür teratomda ekseriya %51-75 arası, matür teratomda %26-50 arası, seminom ve yolk kesesi tümöründe ise %1-25 boyanma daha sık görüldü. Fakat klinik evre-1 non-seminomatöz GHT'lerde, MIB-1 ekspresyonunun patolojik evre ile korelasyonu izlenmedi (48).

Albers ve ark., non-seminomatöz GHT nedeniyle 78 orşiektomi ve retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu üzerinde yaptıkları çalışmada, 78 klinik evre-1 hastanın 50'sinin patolojik evre-1, 28'inin ise patolojik evre-2 olduğunu saptamışlardır. Evre-1 hastaların MIB-1 pozitif boyanan tümör hücresi oranı %51'5 iken, patolojik evre-2'de %75.1 olarak izlemişler ve bu farkı önemli bulmuşlardır. Embriyonal karsinomun oranı ve vasküler invazyon gibi bilinen diğer risk faktörleri ile MIB-1'in prognostik açıdan doğruluk oranını, metastaz için daha az risk taşıyan erken evredeki hastalarda, ileri evredeki hastalara göre daha anlamlı olduğu belirtilmektedir (79).

Mazumdar ve ark., GHT'lerin subgrubu olan embriyonal karsinomda AFP, HCG, LDH gibi serum tümör marker'leri ile Ki-67, hücre ölümü ile ilişkili p53 ve apoptozin prognozla ilişkisini araştırmak amacıyla diğer germ hücre komponentlerini içeren ve içermeyen tedavi edilmiş 95 embriyonal karsinom olgusunu incelemişler; birbirine benzer seviyede serum tümör marker salınımı gösteren bir grup ile diğer tüm vakalarda karşılaştırma yapmışlardır. Seçilen grupta özellikle yüksek Ki-67 indeksi, düşük apoptoz ve düşük p53 düzeyi gösteren embriyonal karsinomlu olgular tercih edilmiş, seçilen embriyonal karsinom olgularında Ki-67, apoptoz, p53 seviyesinin tedaviye cevabı etkilediği ve dolayısıyla yaşam süresiyle ilişkili olduğu saptanmaktadır. Bu çalışmada embriyonal karsinoma; teratom, koryokarsinom ve yolk kesesi tümörü eşlik ettiğinde Ki-67 indeksinin düştüğü görülmektedir. Teratom vakalarının düşük Ki-67 indeksi göstermesi nedeniyle, bu tümörün kemoterapiye direnç gösterdiği belirtilmiştir (8).

Garrido ve ark., normal dokuda ve çeşitli neoplastik dokularda Ki-67 ve yeni tanımlanan bir monoklonal antikor ve proliferasyon belirleyici olan JCI ile normal ve

çeşitli malign dokularda proliferasyon oranını karşılaştırdılar. Ki-67 normal dokuda tonsilin skuamöz epitelinin bazal tabakasında, tonsilin germinal merkezinde, derinin bazal tabakasında bulunan hücrelerin % 80'inden fazlasında kuvvetli boyanma göstermiştir. Ki-67 ile normal testisi içeren 5 dokuda bazalde yer alan andiferansiye hücrelerin %10-50'sinde nükleer boyanma saptanmış, diferansiye hücreler olan matür spermatozoalar ve Leydig hücrelerinde boyanma saptanmamıştır. On seminom vakasında ise Ki-67 indeksi ortalama %30 oranında nükleer boyanma izlenmiş, JCI ise daha yüksek oranlarda boyanmış, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (47).

Sakuma ve ark., testiküler GHT'lerde, C-kit genindeki değişimleri ve Ki-67 indeksini incelemişlerdir. Testiküler GHT'ü olan 29'u saf, 5'i mikst GHT'ün bir komponenti olarak seminom içeren 34 vakayı incelediler. Ki-67 indeksi saf seminomlarda ortalama %41.4, mikst GHT'de %49 olarak izlediler (11). Düe ve ark., 20 seminom olgusunda immünohistokimyasal olarak Ki-67 antikoru ile tümörün büyüme paternini ve proliferatif aktivitesini araştırdılar. Seminomlarda tümör hücrelerinin büyüme hızını Ki-67 ile %50-80 arasında buldular. Çoğu patolojik evresi yüksek olan vakaları kapsayan bu çalışmada, tümörlerin patolojik evresi ile proliferasyon hızı arasında ilişki olduğunu saptadılar. Fakat tümör boyutu veya lenfositik infiltrasyon ve büyüme hızı arasında ilişki kuramadılar. Proliferatif aktivitenin incelenmesi, seminomların kemoterapi ve radyasyona duyarlılığını belirlediğinden rutin tanıda Ki-67 yapılması gerektiğini önermektedirler (80).

Çalışmada tümörlerin histolojik tipleri ile Ki67 indeksi nükleer boyanma yoğunluğu değerlendirildiğinde, seminomda  $0.33 \pm 0.11$ , embriyonal karsinomda  $0.50 \pm 0.12$ , yolk kesesi tümöründe  $0.36 \pm 0.14$ , teratomda  $0.25 \pm 0.13$ , spermatositik seminomda  $0.63 \pm 0.04$  olarak saptandı. Ki67 boyanma oranı en yüksek olarak spermatositik seminom ve embriyonal karsinomda izlendi. Ki67 indeksi yüksek olan bu iki tümör arasında istatistiksel farklılık anlamsız bulundu ( $p > 0.05$ ). Embriyonal karsinom ile seminom, yolk kesesi tümörü ve teratom arasında, spermatositik seminom ile seminom, yolk kesesi tümörü ve teratom arasında farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Seminom, yolk kesesi tümörü ve teratomda daha düşük proliferasyon hızı izlendi. Seminomda elde edilen bulgular bazı çalışmalarla uyumlu bulundu. (47,48). Fakat bazı çalışmalarda, patolojik evresi yüksek hastaların

seçilmesinden dolayı daha yüksek Ki-67 değerleri elde edilmiştir. Çalışmada olguların lenf nodu tutulumu, organ metastazı ve serum tümör belirteçlerine ulaşamadığı için patolojik evrelendirme yapılamadı. Yine çalışmada Ki-67 indeksi birçok çalışmaya uygun olmakla birlikte, bazı çalışmalardan daha düşük izlenmesi vakaların patolojik evresinin düşük olabileceğini düşündürdü. Teratom olgularımız büyük oranda matür alanlar içerdiğinden ortalama Ki-67 indeksi, matür teratomlarla ilgili bazı literatür bilgileri ile uyumludur. (48). Seminom, yolk kesesi tümörü ve teratom daha önce yapılan birçok çalışmalarda Ki-67 indeksi birbirine yakın olup proliferasyon hızı düşük tümörlerdir. Buna göre çalışmada Ki-67 indeksi yönünden seminom, teratom ve yolk kesesi tümörü arasında istatistiksel farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

Saf ve mikst GHT'ler arasında Ki-67 indeksini karşılaştıran çalışma çok az olup, bu konudaki çalışmalar tümör tiplerine yönelik yapılmıştır. Saf GHT'lerin büyük kısmını seminom, mikst tümörlerin ise büyük kısmını embriyonal karsinom oluşturduğundan, bu tümörlerin Ki-67 indeksinin, saf ve mikst tümörlerin Ki-67 indeksi hakkında fikir verebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte mikst GHT'lerde embriyonal karsinoma eşlik eden teratom, yolk kesesi veya koryokarsinom varsa, Ki-67 indeksi daha düşük saptanmaktadır (8). Çalışmada saf tümörlerde %40, mikst GHT'lerde ise %41 olarak saptanan Ki-67 indeksi bu konuda yayınlanmış bir literatüre uygundur (80). Ki-67 nükleer boyanma yoğunluğu yönünden saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında istatistiksel olarak farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

Çalışmada hastanın prognozunda önemli olan primer tümörde evresi ile Ki-67 indeksi pT1'de  $0,34 \pm 0.12$ , pT2'de  $0,35 \pm 0.21$ , pT3'de  $0,47 \pm 0.08$  olarak saptandı. pT1 ile pT3, pT2 ile pT3 arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Buna göre primer tümör evresi arttıkça Ki-67 indeksi artmaktadır. Özellikle pT3 evresinde olan hastalarda proliferasyon hızının belirgin olarak artmış olması, bu belirleyicinin prognostik olarak önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Neoplastik hücreler transforme olduktan sonra çoğalarak büyümeye devam eder. Malignite için en önemli kriter, tümörün invazyon ve metastaz yapabilmesidir. Bunun için kohezyon kaybı göstermesi, ekstrasellüler matrikse tutunarak parçalaması, damar ve lenfatik sistem içine girdiğinde konakçının immün sisteminde



yanıt oluşturmaması gereklidir. Gelişim, büyüme ve doku tamiri gibi fizyolojik birçok olayda ekstrasellüler matriksin parçalanması temel rol oynar. Tümör hücresinin hücrelerarası matriksteki laminin ve fibronektine bağlandıktan sonra ekstrasellüler matriksi parçalaması gerekmektedir. Ekstrasellüler matrikste bulunan tip-IV kollajenin parçalanması metaloproteinazlar sayesinde olmaktadır. Dolayısıyla metaloproteinazlar tümör invazyonunda önemli rol oynamaktadır (3,49).

Matriks metaloproteinazları, büyüme, gelişme ve doku tamiri gibi çeşitli fizyolojik olaylarda gereklidir. MMP'lar ekstrasellüler matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu bir grup çinko bağımlı endopeptidlerden oluşur. Romatoid artrit, osteoartrit, otoimmün büllöz hastalıklar, dermal güneş hasarı ve periodontit gibi hastalıklarda temel rol oynarken, tümörlerin invazyonu, metastazı ve anjiogenezi sırasında da salınımı artmaktadır. MMP'ların birçok subtipi olmakla birlikte kolajenaz-1, MMP-1 olarak bilinir (9,46,50).

MMP-1, normal dokularda düşük düzeydedir; fakat iyileşme, doku tamiri, dokunun yeniden şekillenmesi gereken durumlarda seviyesi artmaktadır. Ekspresyonu, büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinler tarafından kontrol edilir. MMP-1 'in sekresyonu epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), hepatosit büyüme faktörü, granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), transforme edici büyüme faktör-alfa (TGF-alfa), interferon alfa, beta, gama, platelet derive edici faktör (PDGF), interlökin (IL)-1, -4, -5, -6, -8 ve -10 gibi sitokinler tarafından stimüle edilir (9,51). MMP-1, polipeptid yapısında bir proenzim olarak salınır. MMP-1 inhibisyonu, metaloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP-1) ve alfa-makroglobulin tarafından sağlanır. TIMP-1'in sekresyonu da, çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır (10,51) Üçlü heliks yapısına sahip fibriler kolajeni parçalayabilen MMP-1, ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesinin yanı sıra epitel morfogenezinde, keratinosit migrasyonunda, akciğerde amfizematöz değişikliklerin gelişiminde önemli rol oynamaktadır (50,51).

Öte yandan, çeşitli karsinomlarda MMP-1 salınımı artmaktadır. Örneğin akciğer karsinomları, baş ve boynun yassı hücreli karsinomları, kolorektal tümörlerde dokuda yüksek miktarda bulunmaktadır. Özellikle özefagus kanserlerinde (hem yassı hücreli karsinomu, hem de adenokarsinomunda) MMP-1 artışı, tümörün kötü prognozlu olduğunu gösteren önemli bir bulgudur (9,51,52).

Nöroendokrin ve non-nöroendokrin çeşitli tiplerden 54 akciğer kanserini inceleyen Bolon ve ark., frozen kesitlerde uygulanan in situ hibridizasyon yöntemi ile MMP-1, c-ets-1 ve ürokinaz-tip plazminojen aktivatör gen ekspresyonunu araştırdılar. Nöroendokrin olmayan 34 tümörün 16'sında, 20 nöroendokrin tümörün 1'inde stromada veya tümör hücrelerinde MMP-1 (kolajenaz 1) ekspresyonunu gördüler. Buna göre transkripsiyon faktörü, c-ets-1, kollajenaz 1 ve ürokinaz-tip plazminojen aktivatörü, özellikle metastaz yapmış ileri evre akciğer kanserlerinde daha yüksek oranda olmak üzere tümör invazyonunda rol almaktadır. *Kolajenaz-1 geninin tümör invazyonu sırasında c-ets proteinini aktive ettiği ileri sürüldü* (81).

MMP-I ekspresyonu, kolorektal karsinomlar için bilhassa önemlidir. İnterstisiyel stromada tip I, -II, -III kollajeni parçalayan, kollajenazların bir üyesi olan MMP-1'in hematojen metastazda önemli bir vasıta olacağı düşünülmektedir. Bu maksatla Sunami ve ark., farklı evrede kolorektal kanseri olan 133 vakada, kanser invazyonu alanlarında, MMP-1 ekspresyonunu immünohistokimyasal boyamayla incelediler. MMP-1 kanser hücrelerinin sitoplazmasında, bazı stromal hücrelerde ve kolon mukozasının az sayıda normal epitel hücrelerinde tanımlandı. Hematojen yayılım gösteren kolorektal kanserlerle, MMP-1 ekspresyon şiddeti arasındaki ilişki "önemli" bulundu. Fakat bu çalışmada klinikopatolojik özelliklerle MMP-1 ekspresyonu arasında ilişki izlenmedi. MMP-1, hematojen yayılım gösteren kolorektal kanserlerde alışılmışın dışında bir marker olup, inhibisyonunun, metastazı önlemek için, yeni bir strateji olabileceği ileri sürüldü (82). Murray ve ark., ise kolorektal kanserli vakalarda yaptığı çalışmada Dukes evreleme sisteminden bağımsız olarak MMP-1 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu tesbit ettiler ve bu sonuçlara dayanarak MMP-1 üreten tümörlerin tedavisinde MMP-1 inhibitörlerinin kullanımına yönelik çalışmaların sürdürülmesini önerdiler (83).

Matriks metalloproteinazlar ve bunların inhibitörlerinin, özellikle "kötü prognozlu tümörler" üzerindeki etkisi araştırılmaktadır. Pankreas adenokarsinomu da hızlı ilerleyen, geç bulgu veren, tanı esnasında lokal invazyonu ve metastazı sık olan, kötü prognozlu tümörler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Yamamoto ve ark., 70 pankreatik duktal adenokarsinomu olan hastada MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 (matrilizin), MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak araştırdıklarında, tümör hücrelerinde veya stromal

hücrelerde değişen oranlarda ekspresyon görmüşlerdir. Bunlar arasında MMP-7 (+) olan vakalarda patolojik evre ile MMP-7 ekspresyonu arasında ilişki izlenmiş, MMP-7 pozitif vakaların ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğu saptanmıştır. Diğer MMP'ler ve TIMP'lerle böyle bir ilişki izlenememiştir. Buna göre pankreas adenokarsinomlarında MMP-7 dışında MMP-1'i de içeren diğer MMP'lerle klinikopatolojik bulgular ve prognoz arasında ilişki saptanmadı (84).

Murray GI ve ark., özofagus kanseri olan hastalarda immünohistokimyasal olarak MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunun prognoz ve yaşam süresi arasındaki ilişkisini incelemişler; özofagus kanserli hastaların %24'ünde MMP-1, %70-78'inde ise MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu saptamışlar; MMP-1 ekspresyonunun diğer prognostik faktörlerden bağımsız olarak özellikle kötü prognozla ilişkili olduğunu görmüşlerdir. Ancak yapılan bu çalışmalar esas alınarak özofagus kanserine has MMP subtipinin tanımlanması ile MMP inhibitörlerinin hastaların tedavisinde kullanılacağına yönelik çalışmaların, henüz deneme aşamasında olduğunu belirtmektedirler (85).

Bazı tümörlerin stromasında üretilen MMP ile tümör marjinde üretilen MMP'lar da farklılık göstermektedir. MMP-1 baş-boyun tümörlerinde esas olarak invazyon yakınında tümör hücrelerinde bulunurken, MMP-13 invazyon sınırında tanımlanmıştır. Bunun tersine MMP-13, meme kanserlerinde daha çok stromal fibroblastlarda izlendi. Meme kanserinde stroma artışı karsinogenez için çok önemlidir, çünkü bu dönemde tümör invazyonu ve stromal fibroblast artışı için gerekli olan anjiogenez başlar. Tümör invazyonu için matriks yıkımını proteazlar başlatır. Anjiogenez ve proteaz üretimi çeşitli seviyelerde kontrol edilir. Bunlardan biri de transkripsiyon faktör Ets-1'dir. Behrens ve ark., ISH ve immünohistokimyasal olarak meme kanserlerinde MMP-1, MMP-9 ve Ets-1 ekspresyonunu araştırdılar. Bu üç gen intraduktal ve lobuler karsinoma in situ çevresindeki desmoplastik stromada, endotel hücreleri ve stromal fibroblastlar tarafından eksprese edilir. İnvaziv duktal ve lobuler kanserde stromada regülasyonu artar. Buna göre çalışmada in vivo olarak bu üç gen, meme kanserinin erken dönemlerinde eksprese edildiği görüldü (86).

MMP'ların subtiplerinin testiste peritubuler hücrelerde, testiküler kord içinde ve Sertoli hücrelerinde yerleşimi ve yoğunluğu farklılık göstermektedir. MMP'ler ve metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP), ekstrasellüler matriksin düzenlenmesi ve

büyüme faktörlerinin salınımının kontrolünde etkili olabilmektedir (10). Robinson ve ark., gebeliğin sonlanmasından sonra 21 fetüsten elde edilen gonadal dokuda, gonad gelişimi sırasında MMP ve TIMP lokalizasyonunu ve üretimini immünohistokimyasal ve zimografik tekniklerle araştırdılar; sitoplazmik boyanma yoğunluğuna göre zayıf, orta, ve kuvvetli pozitif olarak değerlendirdiler; 13-19 haftalık 10 testiste MMP-1 interstisiyel hücrelerin sitoplazmasında ve daha az olarak yüzey epitelinde bulundu; bazı peritubuler hücrelerin arasında ve testiküler kord içinde özellikle Sertoli hücrelerinde MMP-1 saptandı, MMP-2 daha çok testis interstisiyumunda ve bazı tubul hücrelerinin sitoplazmasında bulunurken, gonositlerde Sertoli hücrelerinden daha yoğun izlenmiştir. MMP-9 esas olarak testiküler kord içinde bazı interstisiyel hücreler ve yüzey epitelinde saptandı, MMP-2 ve MMP-9 peritubuler hücrelerde tanımlanmazken, TIMP-1 ise interstisiyel hücrelerin sitoplazmasında testiküler kord içinde, özellikle Sertoli hücrelerinde boyanması ile izlendi, bu çalışmada MMP-1, -2, -9 ve tüm TIMP'lerin dokuda ve hücre içinde yerleşim yeri belirlendi. MMP ve TIMP'lar gonadal gelişimde ekstrasellüler matriksin düzenlenmesi sırasında ve hücreler arası matriksin birbirini etkilemesi sırasında önemli rol oynar (10).

Ets transkripsiyon ailesi, DNA bağlayan zincirde bulunan iskelet gelişimi, nöral sinaps formasyonu, hematopoez, immünomodülasyon, tümörigenez ve metastaz gibi birçok biyolojik olayda görev alır. ER71 testise spesifik Ets proteindir, homologu yoktur ve fizyolojik olarak eşsiz bir görevi vardır. Haro ve ark., ER71'in MMP-1 aktivasyonuna direkt olarak katkıda bulunduğunu gösterdiler ve ER71'in adult testisinin gelişimi ve testiküler GHT tümörigenezinde fonksiyonunun önemli olabileceğini belirtmektedirler. Buna göre ER71 ile ilişkili MMP-1 regülasyon artışı, seminom hücrelerinde rol oynayabilir ve MMP-1 ekspresyonun artışı metastaz potansiyeli ile koreledir (87).

Koshida ve ark., 25 seminom ve 17 non-seminom ksenograft modelinde immünohistokimyasal olarak inceleme yaptılar; MMP-1, MMP-2, MT1-MMP, MT3-MMP ekspresyonunu seminom ksenogreftlerinde gördüler, immünohistokimyasal olarak seminom ksenogreftlerinde lenf nodu metastazı ve MMP-2 ekspresyonu arasında korelasyonu anlamlı buldular (88). Seminomlu

hastalarda yapılan mikroarray çalışmada MMP-9 regülasyonunun arttığı görülürken MMP-19 ve TIMP-2 regülasyonunun azaldığını saptadılar (25).

Testiküler GHT'lerde MMP-1 regülasyonu ile ilişkili çalışmalar çok azdır. Bu çalışmalarda da MMP-1 regülasyonu artışıyla ilgili kesin sonuçlar elde edilmemekle birlikte seminomlarda artabileceği vurgulandı (87). Tümör tipleri ile MMP-1 boyanma yoğunluğu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ( $p>0.05$ ). Fakat MMP-1 ile boyanma yoğunluğu ayırmaksızın her tümörün toplam boyanma oranı toplandığında sıklık sırasına göre embriyonal karsinom olgularının 22'si (%88), seminom olgularının 26'sı (%87.1), yolk kesesi tümörü olgularının 11'i (%84.7), teratom olgularının 9'u (%61.5) spermatositik seminom olgularının 1'i (%50) oranında boyandı. Buna göre seminomda, embriyonal karsinomda ve yolk kesesi tümöründe, teratom ve spermatositik seminoma göre daha yüksek pozitiflik olması bu tümörlerin invazyon yeteneğinin daha fazla olmasını düşündürmektedir. Spermatositik seminom sıklıkla metastaz yapmayan, testise sınırlı, iyi prognozlu bir tümördür. Bu olgularda MMP-1 ile boyanmanın düşük olması bilinen bu gerçekleri desteklemektedir.

Çalışmada primer tümör ile MMP-1 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ( $p>0.05$ ). Fakat primer tümör evresi arttıkça boyanma oranının artışı MMP-1'in invazyonda azda olsa etkisinin olabileceğini düşündürdü.

Sonuç olarak, seminom ile seminom-dışı tümörlerin ayırıcı tanısında hücrelerin PLAP ve C-kit ile kuvvetli ve orta membranöz boyanması, güvenilir bir belirteçdir. Embriyonal karsinom ve seminomda PLAP, diğer tümörlere göre daha yüksek oranda pozitif immunoreaktivite vermektedir. Fakat PLAP, IGCN tanısını, C-kit'ten daha yüksek oranda desteklemektedir. Ki-67 ile elde edilen sonuçlara göre, spermatositik seminom ve embriyonal karsinom yüksek proliferasyon indeksi gösteren germ hücreli testis tümörleridir. Primer tümör evresi (paratestiküler dokulara invazyon) arttıkça Ki-67 indeksinin artması, bu belirleyicinin prognostik açıdan önemli olabileceğini düşündürmektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada testiküler germ hücreli tümör tanısı alan 49 olguya ait H&E boyalı preparatlar 2004 yılında düzenlemeler yapılan DSÖ sınıflaması dikkate alınarak tümörün histolojik tipi, tümör komşuluğunda intratubuler germ hücreli neoplazi, primer tümör evrelemesi için rete testis invazyonu, epididim invazyonu, tunica albuginea invazyonu, damar invazyonu, spermatik kord invazyonu yönünden değerlendirildi. Materyal ve raporlarda lenf nodu diseksiyonu, metastaz, serum belirleyicileri olmadığı yada belirtilmediğinden tam bir patolojik/klinik evrelendirme yapılamadı. Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler testiküler germ hücreli tümörlerde PLAP, C-kit, Ki-67, MMP-1 ekspresyonunun tanıya ve prognoza etkisini araştırmak için immünohistokimyasal olarak Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile boyandı. Aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Çalışma grubundaki 49 germ hücreli tümör olgusunun yaşları 2-63 arasında olup yaş ortalaması  $31,20 \pm 12,17$  idi.
2. Çalışma grubunu oluşturan 49 hastanın 27'si (% 55) saf germ hücreli, 22'si (% 45) ise mikst germ hücreli tümör içermekteydi. Saf ve mikst tümörler birlikte incelendiğinde seminom 30 (% 37), embriyonal karsinom 25 (% 30), yolk kesesi tümörü 13 (% 15.5), teratom 14 (% 15.5), ve spermatositik seminom 2 (% 2) olguda tesbit edildi.
3. Tümör komşuluğunda IGCNU 41 olguda izlendi. Sekiz olguda tümör komşuluğunda seminifer tubul izlenmediği için IGCNU değerlendirilemedi. Saf ve mikst germ hücreli tümör ayırımı yapmaksızın tümör tipine göre difüz ve fokal IGCNU içeren tümörler birlikte değerlendirildiğinde, sıklık sırasına göre seminom (%72), embriyonal karsinom (%60.9), teratom (%38.5) ve yolk kesesi tümöründe (%36.4) IGCNU izlenmiştir. Spermatositik seminom olgusunda IGCNU izlenmedi.
4. Rete testis invazyonu olan 10 (%20) olgu, olmayan 24 (%48) olgu, değerlendirilemeyen 15 (%30) olgu saptandı.
5. Epididim invazyonu olan 9 (%18) olgu, olmayan 26 (%53) olgu, değerlendirelemeyen 14 (%28) olgu saptandı.
6. Tunica albuginea invazyonu olan 8 (%16) olgu, olmayan 31 (%63) olgu, değerlendirelemeyen 10 (%20) olgu saptandı.

7. Damar invazyonu olan 19 (%38) olgu, olmayan 28 (%57) olgu, değerlendirelemeyen 2 (%4) olgu saptandı.

8. Spermatik kord invazyonu olan 5 (%10) olgu, olmayan 34 (%69) olgu, değerlendirelemeyen 10 (%20) olgu saptandı.

9. Primer tümör evrelemesi için rete testis invazyonu, epididim invazyonu, tunica albuginea invazyonu, damar invazyonu, spermatik kord invazyonu yönünden değerlendirildiğinde; 19 olgu pT1, 14 olgu pT2, 5 olgu ise pT3'de saptandı. On bir olgu değerlendirilemedi.

10. Tümör komşuluğunda difüz veya fokal IGCN izlenen ya da izlenmeyen seminifer tubullerde PLAP ekspresyonu değerlendirildiğinde; PLAP ile fokal (+) boyanan fokal IGCN içeren olgular ile difüz IGCN içeren olgular ve fokal IGCN içeren ve IGCN içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p<0.05$ ); PLAP ile (+) boyanan olgularda tümör komşuluğunda arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ). PLAP ile difüz (+) boyanan difüz IGCN içeren ve IGCN içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p<0.05$ ); PLAP ile boyanmayan difüz IGCN içeren ve IGCN içermeyen olgular arasında farklılık anlamlı ( $p<0.05$ ).

11. Tümör komşuluğunda difüz veya fokal IGCN izlenen veya izlenmeyen seminifer tubullerde C-kit ekspresyonu değerlendirildiğinde; (+) boyanan tümöre komşu testis dokusunda fokal IGCN alanları içeren tümörle IGCN odakları içermeyen tümör arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ). (++) boyanan difüz ve fokal IGCN içeren ve içermeyen tümörler arasındaki farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ). (+++) boyanma yönünden difüz IGCN içeren ve IGCN alanları içermeyen tümörler arasında ve fokal IGCN alanları içerenlerle IGCN içermeyen tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). C-kit ile boyanmayan tümörlerde, IGCN içeren tümörler ile içermeyen tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

12. Tümörlerin histolojik tipleri ile PLAP ekspresyonu değerlendirildiğinde; fokal (+) boyanan tümörlerde seminom ile embriyonal karsinom, embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom arasında farklılık anlamlı bulundu. Ayrıca seminom ile spermatositik seminom, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom, yolk kesesi tümörü ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı ( $p<0.05$ ), yolk kesesi tümörü ile teratom arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ). PLAP ile (+) boyanan tümörlerde seminom ile diğer tümörler

arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). PLAP ile difüz boyanan tümörlerde seminom ile diğer tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). PLAP ile boyanmayan tümörlerde seminom ile yolk kesesi tümörü, seminom ile teratom, seminom ile spermatositik seminom arasında ayrıca embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ )

**13.** Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında PLAP ekspresyonu karşılaştırıldığında; saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında da PLAP ekspresyonu açısından farklılık izlenmedi ( $p>0.05$ ).

**14.** Tümörlerin histolojik tipleri ile C-kit ekspresyonu değerlendirildiğinde; (+) boyanan tümörlerde seminom ile teratom, seminom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Seminom ile embriyonal karsinom, seminom ile yolk kesesi tümörü arasında farklılık anlamsız idi ( $p>0.05$ ) (++) boyanan tümörlerde seminom ile diğer tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). (+++) boyanma sadece seminomda izlendi. Seminom ile diğer tümörler arasında +++ boyanma arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). C-kit ile boyanmayan tümörler seminom dışı tümörler olup tümörler arasında farklılık anlamsız idi ( $p>0.05$ ).

**15.** Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında C-kit ekspresyonu karşılaştırıldığında; Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında C-kit ekspresyonu açısından (++) , (+++) boyanma ve boyanmayan tümörler arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

**16.** Tümörlerin histolojik tipleri ile Ki67 nükleer boyanma indeksi değerlendirildiğinde; seminom ile embriyonal karsinom, seminom ile spermatositik seminom, embriyonal karsinom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile teratom, yolk kesesi tümörü ile spermatositik seminom, teratom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Ki67 nükleer boyanma indeksi yönünden seminom ile teratom, seminom ile yolk kesesi tümörü, embriyonal karsinom ile spermatositik seminom arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).

**17.** Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında Ki 67 nükleer boyanma indeksi değerlendirildiğinde; saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında farklılık anlamsız bulundu ( $p>0.05$ ).



**18.** Primer tümör (pT) evresine göre Ki 67 nükleer boyanma indeksi değerlendirildiğinde; pT1 ile pT3, pT2 ile pT3 arasındaki farklılık anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). pT1 ile pT2 arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p > 0,05$ ).

**19.** Tümörlerin histolojik tipleri ile MMP-1 ekspresyonu değerlendirildiğinde; MMP-1 ile ekspresyonu ayırmaksızın her tümörün pozitif boyanma oranları toplandığında sıklık sırasına göre embriyonal karsinom olgularının 22'si (%88), seminom olgularının 35'i (%86.6), yolk kesesi tümörü olgularının 11'i (%84.7), teratom olgularının 8'i (%64.2) spermatositik seminom olgularının 1'i (%50) oranda boyandı. Fakat istatistiksel olarak tümörlerin histolojik tipleri ile MMP-1 ekspresyonu arasındaki farklılık, anlamsız bulundu ( $p > 0.05$ ).

**20.** Saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında MMP-1 ekspresyonu değerlendirildiğinde; saf ve mikst germ hücreli tümörler arasında MMP-1 boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel farklılık izlenmedi ( $p > 0.05$ )

**21.** Primer tümör (pT) evresine göre MMP-1 ekspresyonu değerlendirildiğinde; MMP-1 boyanma oranı açısından istatistiksel farklılık izlenmedi ( $p > 0.05$ ) Fakat ++ ve +++ boyanma evre arttıkça daha yüksek olduğu izlendi.

Sonuç olarak seminom ile seminom-dışı tümörlerin ayırıcı tanısında hücrelerin PLAP ve C-kit ile kuvvetli ve orta membranöz boyanması dikkati çekti. Embriyonal karsinom ve seminomda PLAP, diğer tümörlere göre daha yüksek oranda pozitif immunoreaktivite vermektedir. PLAP, IGCNU tanısını, C-kit'ten daha yüksek oranda desteklemektedir. Ki-67 ile elde edilen sonuçlara göre, spermatositik seminom ve embriyonal karsinom yüksek proliferasyon indeksi gösteren germ hücreli testis tümörleridir. Primer tümör evresi (paratestiküler dokulara invazyon) arttıkça Ki-67 indeksinin artması, bu belirleyicinin prognostik açıdan önemli olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1- Hodgson SV, Maher ER: A Practical Guide to Human Cancer Genetics. Second edition. Cambridge University Press, 1999;104-107.
2. Melicow MM. Classification of Tumors of Testis. J Internat College Surg 1956;25:187-201.
3. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Editors. Neoplasia and The Male Genital Tract. In: Robbins Pathologic Basis of Disease. Sixth Edition. Philadelphia, WB Saunders Company 1999: 260-327, 1011-1034
4. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord and Scrotum. Atlas of Tumor Pathology Third Series Fascicle 25 AFIP, Washington DC 1999; 86
5. Tickoo SK, Tamboli P, Warner NE, Amin MB. Testis and Paratestis Including Spermatic Cord. In: Modern Surgical Pathology. Eds: Weidner N, Cote R J, Suster S, Weiss LM. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 1215- 1256.
6. Nouri AME, Torabi-Pour N, Dabare AANP. A New Highly Specific Monoclonal Antibody Against Placental Alkaline Phosphatase: a Potential Marker for the Early Detection of Testis Tumour BJU International 2000(86); 894-900
7. Roelofs H, Manes T, Janszen T ve ark. Heterogeneity in Alkaline Phosphatase Isozyme Expression In Human Germ Cell Tumours: An Enzyme- /Immunohistochemical and Molecular Analysis. J. Pathol. 1999(189); 236-244
8. Mazumdar BM, Bacik J, Tickoo SK ve ark. Cluster Analysis of p53 and Ki67 Expression, Apoptosis, Alpha-fetoprotein and Human Chorionic Gonadotrophin Indicates a Favorable Prognostic Subgroup within the Embryonal Carcinoma Germ Cell Tumor. Journal of Clinical Oncology 2003, 21(14); 2679-2688
9. Westermarck J and Kahari VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. FASEB Jour13;781-792
10. Robinson LLL, Sznajder NA, Riley SC, Anderson RA. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Human Fetal Testis and Ovary. Molecular Human Reproduction 2001. 7(7);641-648
11. Sakuma Y, Sakurai S, Oguni S, Hironaka M, Saito K. Alterations of the C-kit gene in testicular germ cell tumours .Cancer Sci 2003 Jun94(6);486-491

- 12-** Devoussaoux-Shisherboran M, Mauduit C, Tabone E ve ark. Growth Regulatory Factors and Signalling Proteins in Testicular Germ Cell Tumours. *APMIS* 2003(111); 212-224
- 13.** Junqueira LC, Corneiro J, Kelley RO. *Basis Histology*. 7 th Ed. Çeviri Editörü: AYTEKİN Y. Temel Histoloji. Barış Kitabevi 1993: 407-422.
- 14.** Gürsoy E, Koptagel E. *Embriyoloji Atlası*. Esnaf Ofset Matbaacılık. 1997: 12-30, 140-164.
- 15.** Sadler T.W. *Langman's Medical Embryology*. 7 th ed. Çeviri Editörü: BAŞAKLAR A.C. Langman's Medikal Embriyoloji. Palme Yayıncılık. 1996: 1-20, 260-297.
- 16.** Rosai J. Editor Testis. In *Acerman's Surgical Pathology*, Vol.1, 9th Edition St. Louis, Mosby Company, 2004; 1412-1456.
- 17.** Ro JY, Grignon DJ, Amin MB, Ayala A. Normal Anatomy and Histology of the Testis. in *Atlas of Surgical Pathology of the Male Reproductive Tract* 1997; 101-4.
- 18.** Dere F. *Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji Atlası ve Ders Kitabı*. 3. baskı 2000: 1-146.
- 19.** Tickoo SK, Amin MB, Cramer HM, Harik LR, Ulbright TM. The Testis, Paratesticular Structures and Male External Genitalia. In *Silverberg's Principal and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology*, Vol.2.4th Edition Elsevier,2006;1731-90.
- 20.** Geneser VF: Hoden. In: Geneser VF. *Histologie*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 1990; 589-608.
- 21.** Ferner H, Staubesand J. Urogenital System In: *Sobotta, München-Wien-Baltimore, Urban & Schwarzenberg*, 175-201, 1985
- 22.** Şenol TH. *Metay Anatomi Ders Notları*. 1. Baskı. Saray Medikal Yayıncılık 1996; 375-418
- 23.** Laguna MP, Pizzocaro G, Klepp O ve ark. EAU Guidelines on Testicular Cancer. *European Urology*; 102-110
- 24.** Mostofi FK, Sesterhenn IA. Tumours of the Testis and Paratesticular Tissue: in *World Health Organisation Classification of Tumours*. Lyon 2004; 218-249

25. Von Eyben FE, Jacobsen GK, Skotheim RI. Microinvazive germ cell tumor of the testis. *Virshows Arch* 2005; 447; 610-625
26. Sesterhenn IA, Davis CJ-Jr. Pathology of Germ Cell Tumors of the Testis. *Cancer Control* 2004; (11) 6:374-87.
27. Ulbright TM. Germ Cell Tumors of the Gonads: A Selective Review Emphasizing Problems in Differential Diagnosis, Newly Appreciated, and Controversial Issues. 2005; 18:61-79.-
28. Von Der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S. ve ark. Carcinoma in situ of Contralateral Testis in Patiens with Testicular Germ Cell Cancer: Study of 27 Cases in 500 Patients. *British Medical Journal* 1986; 293:1398-1401
29. Ulbright TM, Germ Cell Neoplasms of the Testis. *The American Journal of Surgical Pathology* 1993; 1075-1091
30. Carver BS, Sheinfeld J. Germ Cell Tumours of the Testis. *Annals of Surgical Oncology* 2005; 12(11): 871-880
31. Yenson M. Enzimler ve biyofonksiyonları, İnsan Biyokimyası. Bölüm11 İstanbul 1984, 5. Bası 648-683
32. Fishman WH. Clinical and Biological Significance of an Isozyme Tumor Marker-PLAP *Clical Biochemistry* 1987; Vol 20, pp, 387-392
33. Haspolat K, Söker M. Kemiğe Ait Biyokimyasal Değerler ve Onkoloji. *Dicle Tıp Dergisi* 2002; 29(3):83-90
34. Koshida K, Uchibayashi T, Yamamoto H, Hirano K. Significance of Placental Alkaline Phosphatase (PLAP) in the Monitoring of Patients with Seminoma. *British Journal of Urology* 1996; 77; 138-142
35. Narisawa S, Smans KA, Avis J, Hoylaerts MF, Millan JL. Transgenic Mice Expressing the Tumor Marker Germ Cell Alkaline Phosphatase: An Invivo Tumor Model for Human Cancer Antigens *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993 June90;5081-5085
36. Suster S, Moran CA ve ark. Germ Cell Tumors of the Mediastinum and Testis: A Comparative Immunohistochemical Study of 120 Cases. *Human Pathology* 1998 July;29(7); 737-742
37. Niehans GA, Manivel JC, Coplant GT ve ark. Immunohistochemistry of Germ Cell and Trofoblastic Neoplasms. *Cancer* 1988; 62; 1113-1123

- 38.** Loftus MB, Gilmartin GL, O'Brien MJ ve ark. Intratubular germ Cell Neoplasia of the Testis: Identification by Placental Alkaline Phosphatase Immunostaining and Argyrophilic Nucleolar Organizer Region Quantification. *Human Pathology* 1990;21(9): 941-948
- 39.** Miettinen M, Lasota J. KIT (CD117): A Review on Expression in Normal and Neoplastic Tissue and Mutations and Their Clinicopathologic Correlation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005. 13 (3); 205-220
- 40.** Sihto H, Sarlamo-Rikala M, Tynninen O ve ark. KIT and Platelet-Derived Growth Factor Reseptor Alpha Tyrosine Kinase Gene Mutations and KIT Amplifications in Human Solid Tumors. *Journal of Clinical Oncology* 2005 Jan;23(1); 49-57
- 41.** Grimaldi P, Rossi P, Dolci S ve ark. Molecular Genetics of Male Infertility: Stem Cell Factor / C-kit System. *AJRI* 2002(48); 27-33
- 42.** Strohmeyer T, Reese D, Pres M. Expression of the C-kit Protooncogene and Its Ligand Stem Cell Factor (SCF) in Normal and Malignant Human Testicular Tissue. *The Journal of Urology* 1995; 153: 511-515
- 43.** Leroy X, Augusto D, Leteurtre E, Gosselin B. CD30 and CD117(C-kit) Used in Combination Are Useful for Distinguishing Embryonal Carcinoma from Seminoma. *The Histochemistry & Cytochemistry* 2002, 50(2);283-285
- 44.** Sallien PK, Haapasalo HK, Visakorpi T, ve ark. Prognostication of Astrocytoma Patient Survival by Ki-67 (MIB-1), PCNA, and S-Phase Fraction Using Archival Parafin- Embedded Samples. *J Pathol* 1994: 174; 275-282.
- 45.** Brown DC, Gatter KC. Ki67 Protein: the Immaculate Detection. *Histopathology* 2002 (40); 2-11
- 46.** Astrositik Tümörlerde CD44, Membran Tip 1-Matriks Metaloproteinaz (MT1-MMP), Ki-67 Ekspresyonu. Kıvanç F. Tıpta Uzmanlık tezi, Danışmanı: Prof. Dr. H.Reyhan Eğilmez. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, 2006, Sivas. 79-97
- 47.** Garrido MC, Cordell JL, Becker MHG ve ark. Monoclonal Antibody JCI: New Reagent for Studing Cell Proliferation. *J Clin Pathol* 1992(45); 860-865
- 48.** Heidenreich A, Schenkman NS, Sesterhenn IA ve ark. Immunohistochemical Expression of Ki-67 to Predict Lymph Node Involment In

Clinical Stage I Nonseminomatous Germ Cell Tumors. *Journal of Urology* 1997(158); 620-625

49. Ersöz C, Ayhan A. Neoplazi1-2. *Temel Patoloji*, Editör: Kuzey GM, Özdamar ŞO, Zergeroğlu S. 2006;141-162
50. Curran S, Murray GI. Matrix Metalloproteinases in Tumor Invasion and Metastasis. *J Pathol* 1999; 189; 300-308.
51. Pardo A. and Selman M. MMP-1: The Elder of the Family. *The International Journal of Biochemistry& Cell Biology* 2005; 35;283-288
52. De Haro L and Janknecht R. Functional Analysis of the Transcription Factor ER71 and Its Activation of the Matrix Metalloproteinases-1 Promoter *Nucleic Acids Research*, 2002; 30(13);2972-2979
53. Rajpert De Meyts E, Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Human Reproduction Update*, Vol.12, No.3 pp, 2006; 303-323
54. Dabare AA, Nouri AM, Cannell H. Profile of Placental Alkaline Phosphatase Expression in Human Malignancies: Effect of Tumour Cell Activation on Alkaline Phosphatase Expression. *Urol Int. (Abs)* 1999; 63(3); 168-174
55. Hamilton-Dutoit SJ, Lou H, Pallesen G. The Expression of Placental Alkaline Phosphatase (PLAP) and PLAP-like Enzymes in Normal and Neoplastic Human Tissues. An Immunohistological Survey Using Monoclonal Antibodies. *APMIS (Abs)* Sep;98(9); 797-811
56. Saad RS, Landreneau RJ, Liu Y, Silverman JF. Utility of Immunohistochemistry in Separating Thymic Neoplasms from Germ Cell Tumors and Metastatic Lung Cancer Involving the Anterior Mediastinum. *Appl Immunohistochemistry Mol Morphol. (Abs)* 2003 Jun;11(2); 107-112
57. Wick MR, Swanson PE, Manivel C. Placental-like Alkaline Phosphatase Reactivity in Human Tumors. *Human Pathology* 1987 Sep; 18(9); 946-954
58. Kutzyk MA, Serth J, Bokemeyer C ve ark. Alterations of the p53 Tumor Suppressor Gene in Carcinoma In situ of the Testis. *Cancer*. 1996; 78(9):1958-66
59. Hoei-Hansen CE, Rajpert De Meyts E, Daugaard G, Skakkebaek NE. Carcinoma In situ Testis, the Progenitor of Testicular Germ Cell Tumours:A Clinical Review. *Annals of Oncology* 2005; 16: 863-868

60. Burke AP, Mostofi FK. Placental Alkaline Phosphatase Immunohistochemistry of Intratubular Malignant Germ Cells and Associated Testicular Germ Cell Tumors. *Human Pathology* 1988 Jun; 19 (6) ;663-670
61. Manivel JC, Jesurun J, Wick MR, Dehner LP. Placental Alkaline Phosphatase Immunoreactivity in Testicular Germ Cell Neoplasms. *The American Journal of Surgical Pathology* 1987 Jan;11 (1) ;21-29
62. Jacobsen GK, Norgaard PD. Placental Alkaline Phosphatase in Testicular Germ Cell Tumors and in Carcinoma In situ of the Testis. An Immunohistochemistry Study. *Acta Pathol.(Abs)* 1984 Sep;92(5); 323-329
63. Decaussin M, Borda A, Bouvier R ve ark. Spermatocytic Seminoma. A Clinicopathological and Immunohistochemical Study of 7 cases. *Ann Pathol (Abs)* 2004 Apr;24(2); 161-166
64. Hagesawa T, Matsuno Y, Shimoda T ve ark. Gastrointestinal Stromal Tumor: Consistent CD117 Immunostaining for Diagnosis and Prognostic Classification Based on Tumor Size and MIB-1 Grade. *Hum Pathol.* 2002 Jun;33(6); 669-676
65. Sever M, Jones TD, Roth LM ve ark.Expression of CD117 (C-kit) Reseptor in Dysgerminoma of the Ovary: Diagnostic and Therapeutic Implications. *Modern Pathology* 2005 (18);1411-1415
66. Rajpert De Meyts E, Shakkebaek NE. Expression of the C-kit Protein Product in Carcinoma In situ and Invasive Testicular Germ Cell Tumours. *Int J Androl (Abs)* 1994 Apr;17(2); 85-92
67. Chou PM, Barquin N, Guinan P ve ark. Differential Expression of p53, C-kit and CD34 in Prepubertal and Postpubertal Testicular Germ Cell Tumors. *Cancer* Jun;79(12); 2430-2434
68. Jorgensen N, De Meyts RE. Expression of Immunohistochemical Markers for Testicular Carcinoma In situ by Normal Human Fetal Germ Cells. *Lab Invest. (Abs)* 1995 Feb;7(2); 223-231
69. Honecker F, Stoop H, De Kriger RR ve ark. Pathobiological Implications of the Expression of Markers of Testicular Carcinoma In situ by Fetal Germ Cells. *Journal of Pathology* 2004(203); 849-857

70. Izquierdo MA, Van der VP, Van Ark-Otte J ve ark. Differential Expression of the C-kit Proto-oncogene in Germ Cell Tumours. *J Pathol (Abs)*1995Nov;177(3); 253-258
71. Bokemeyer C, Kuczyk MA, Dunn T ve ark. Expression of Stem Cell Factor and its receptor C-kit Protein in Normal Testicular Tissue and Malignant Testicular Germ Cell Tumours. *J Cancer Res Clin Oncol.(Abs)* 1996;122(5);301-306
72. Göze ÖF, Güneş HA, Özbilim G, Düzcan E. Testisin Germ Hücreli Tümörleri: *Turk J Resc Sci* 1991; 9: 298-303
73. Pont J, Hörtl W, Kosak D ve ark. Risk Adapted Treatment Choice in Stage I Nonseminomatous Testicular Germ Cell Cancer by Regarding Vasküler İnvazion in the Primary Tumor: A Prospective Trial. *J Clin Oncol* 1990; Jan 8(1);16-20
74. De Reise WT, Albers P, Walker EB ve ark. Predictive Parameters of Biologic Behavior of Early Stage Nonseminomatous Testicular Germ Cell Tumors. *Cancer* 1994 Aug74(4);1335-1341
75. Kordek K, Biernat W, Alwasiak J, Liberski PP. Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) and Ki-67 Immunopositivity in Human Astrocytic Tumors. *Acta Neurochir* 1996: 138; 509-513
76. Rudolph P, Peters J, Lorenz D ve ark. Correlation Between Mitotic and Ki-67 Labeling Indices in Paraffin-Embedded Carcinoma Specimens. *Human Pathology*. 1998(29);1216-1222
77. Brown DC, Cole D, Gatter KC, Mason DY. Carcinoma of the Cervix Uteri: An Assessment of Tumour Proliferation Using the Monoclonal Antibody Ki67. *Br. J. Cancer* 1988(57); 178-181
79. Albers P, Blergoff E, Neu D ve ark. MIB-1 Immunohistochemistry in Clinical Stage I Nonseminomatous Testicular Germ Cell Tumors Predicts Patients at Risk for Metastasis. *American Cancer Society* 1997, 79(9);1710-1716
80. Düe W, Dieckmann, Loy V. Immunohistological Determination of Proliferative Activity in Seminomas. *J Clin Oncol* 1988: 41;304-307
81. Bolon I, Gouyer V, Devauassoux M ve ark. Expression of C-ets-1, Collagenase 1 and Urokinase-type Plasminogen Activator Genes in Lung Carcinomas. *American Journal of Pathology (Abs)*1995:147;1298-1310



- 82.** Sunami E, Tsuno N, Osada T ve ark. MMP-1 is a Prognostic Marker for Hematogenous Metastasis of Colorectal Cancer. *The Oncologist (Abs)* 2000 Apr;5(2);108-114
- 83.** Murray GI, Duncan ME, O'Neil P, Melvin WT, Fothergil JE. Matrix Metalloproteinase-1 is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancer (Abs) 1996 Apr;2(4);461-462
- 84.** Yamamoto H, Itoh F, Iku S ve ark. Expression of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Human Pancreatic Adenocarcinomas: Clinicopathologic and Prognostic Significance of Matrilysin Expression *J Clin Oncol* 2001;19:1118-1127
- 85.** Murray GI, Duncan ME, O'Neil P, Melvin WT, Fothergil JE. Matrix Metalloproteinase-1 is Associated with Poor Prognosis in Oesophageal Cancer (Abs) 1998 Jul;185(3);256-261
- 86.** Behrens P, Rothe M, Welmann A, Krischler J, Wernert N. The Ets-1 Transcription Factor is Up-regulated Together with MMP-1 and MMP-9 in the Stroma of Pre-invasive Breast Cancer. *Journal of Pathology* 2001;194;43-50
- 87.** De Haro L, Janknecht R. Functional Analysis of the Transcription factor ER71 and Its Activation of the Matrix Metalloproteinase-1 Promoter. *Nucleic Acids Research* 2002; 30(13):2972-2979
- 88.** Koshida K, Konaka H, Kato H ve ark. Correlation Between Expression of Metastasis-related Genes and Lymph Node Metastasis in Testicular Cancer. *Hinyokika Kyo (Abs)* 2000 Oct; 46(10);775-781