

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Testisin Germ Hücreli Tümörlerinin Tanısında PLAP, OCT3/4 ve SALL4
İmmünekspresyonunun Yeri

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif ONAT

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Işın Kılıçaslan

İstanbul, 2011

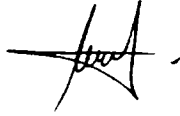
T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Testisin Germ Hücreli Tümörlerinin Tanısında PLAP, OCT3/4 ve SALL4
İmmünekspresyonunun Yeri

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif ONAT



Tez Danışmanı: Prof. Dr. Işın Kılıçaslan

İstanbul, 2011

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

(Proje No: 4242)

İ.Ü. Kütüphane ve Dok. D. Bşk.	
Dem. No:	48685
Sıra No :	

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitim sürecimde desteklerinden ve deneyimlerinden yararlandığım Anabilim Dalı başkanları Sn. Prof. Dr. Mehmet AĞAN, Sn. Prof. Dr. Işın KILIÇASLAN, Sn. Prof. Dr. Yersu

KAPRAN

ve Sn. Prof. Dr. Dilek YILMAZBAYHAN'a,

tezimin ve eğitimimin her aşamasında desteğinden güç bulduğum

değerli hocam, tez danışmanım

Sn. Prof. Dr. Işın KILIÇASLAN'a,

teknik aşamalarda yardımlarını esirgemeyen

Sn. Prof. Dr. Öner DOĞAN ve Sn. Uzm. Dr. Yasemin Özlük'e,

uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini özveriyle ve sabırla aktaran

tüm hocalarıma,

istatistiksel değerlendirmeye katkılarından dolayı

Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn. Dr. Sevda ÖZEL'e,

teknik çalışmalardaki yardımlarından ötürü

Sn. Fatma AY, Sn. Jülide Hocaoğlu, Sn. Cengizhan ARTUK, Sn. Serap TÜRKEL'e,

arşiv çalışmalarındaki yardımlarından dolayı

Sn. Balabey KALAÇAY'a

ve tüm Patoloji çalışanlarına,

acı tatlı pek çok anıyı paylaştığım, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum

tüm arkadaşlarıma,

her zaman destekleriyle yanımda olan

hayat arkadaşım, eşim

Sn. Dr. Levent ONAT'a

ve aileme

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I- ÖZET.....	1
II- ABSTRACT.....	3
III- GİRİŞ.....	5
IV- GENEL BİLGİLER.....	7
A- Testisin germ hücreli tümörleri.....	7
1. Epidemiyoloji.....	7
2. Patogenez.....	8
3. Sınıflama.....	11
4. İntratubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmamış.....	12
5. Seminom.....	14
6. Spermatozitik seminom.....	19
7. Sarkom içeren spermatozitik seminom.....	21
8. Embriyonal karsinom.....	22
9. Yolk sak tümör (endodermal sinüs tümörü).....	24
10. Koryokarsinom.....	28
11. Koryokarsinom dışı trofoblastik neoplazmlar.....	30
12. Teratom.....	31
13. Dermoid kist.....	33
14. Monodermal teratom.....	34
15. Somatik tip maligniteler ile teratom.....	34
16. Poliembriyoma.....	35
17. Mikst germ hücreli tümör.....	36
B- Araştırmada kullanılan belirleyiciler ile ilgili genel bilgiler.....	38

1. SALL4.....	38
2. OCT3/4.....	39
3. PLAP.....	41
V- GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
A- Araştırma olgularının belirlenmesi ve hazırlanması.....	42
B- İmmünohistokimyasal değerlendirme.....	45
1. SALL4.....	45
2. OCT3/4.....	45
3. PLAP.....	46
D- Biyoistatistiksel analiz.....	46
VI- BULGULAR.....	46
A- İmmünohistokimyasal inceleme sonuçları.....	49
1. PLAP.....	49
2. SALL4.....	51
3. OCT3/4.....	53
4. PLAP, SALL4 VE OCT3/4'ün karşılaştırılması.....	59
VII-RESİMLER.....	73
VIII-TARTIŞMA.....	80
IX- SONUÇLAR.....	88
KAYNAKLAR.....	91
ÖZGEÇMİŞ.....	108

I- ÖZET

Germ hücreli tümörler, gonadal veya ekstragonadal olabilir. Bu tümörler, tüm testis tümörlerinin %90-95'ini oluştururlar ve çeşitli alt tipleri vardır. Epidemiyoloji, kromozomal yapı, patogenez, seyir farkı bulunan bu alt tiplerin tanınması hastaların prognozu ve tedavileri için önemlidir. Bu tümörler monomorfik veya mikst histoloji gösterebilir. Ayrıca metastatik kitlelerde de tümörün germ hücre kökenli olduğunu belirleyebilmek ve tiplenebilmek önemlidir. Bu tümörlerin tanısı yardımcı belirleyiciler olmadığında bazen zorlayıcı olabilir. Çalışmamızın amacı erken embriyonik gelişim ve embriyonik kök hücre pluripotensi için gerekli transkripsiyon faktörü ve yeni bir immünohistokimyasal belirleyici olan SALL4'ün, yine bir transkripsiyon faktörü olan OCT3/4 ve PLAP ile karşılaştırmalı olarak, spesifite ve sensitivitesinin değerlendirilmesi ve böylece histomorfolojik ayrımın kesin olarak yapılamadığı primer ve özellikle metastatik germ hücreli testis tümörlerinin tanısında kullanılabilecek olduğu düşünülen yeni bir immünohistokimyasal belirleyicinin kesin tanıya ulaşmadaki faydasını araştırmaktır. Bu amaçla seminom (40), embriyonal karsinom (14), yolk sak tümör (11) ve mikst germ hücreli tümör (MGHT) (73) tanısı almış toplam 138 orşiektomi materyalinde PLAP, OCT3/4, SALL4 ekspresyonunu araştırmaya yönelik immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Kontrol grubu olarak da 10 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomu, 10 mide adenokarsinomu ve 10 kolon adenokarsinomu tanısı almış 40 karsinom vakası çalışma kapsamına alınmıştır.

Çalışmamızda PLAP ile 51 seminomun (saf ve komponent) tümünde (%100), 71 embriyonal karsinomun (saf ve komponent) 70'inde (%98.5), 54 yolk sak tümörün (saf ve komponent) 34'ünde (%62.9), 37 teratomun (sadece MGHT komponenti) 10'unda (%27), 6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti) 4'ünde (%66.6) boyanma saptandı. SALL4 ile 51 seminomun (saf ve komponent) tümünde (%100), 71 embriyonal karsinomun (saf ve komponent) tümünde (%100), 54 yolk sak tümörün (saf ve komponent) 52'sinde (%96.2), 37 teratomun (saf ve komponent) 10'unda (%27), 6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti) 3'ünde (%50) boyanma izlendi. OCT4 ile ise 51 seminomun (saf ve komponent) tümünde %100, 71 embriyonal karsinomun (saf ve komponent) 70'inde (%98.5), 54 yolk sak tümörün (saf ve komponent) 7'sinde (%12.9), 37 teratomun 7'sinde (%18.9), 6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti) 1'inde (%16.6) boyanma saptandı. PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile intratubuler germ hücreli neoplazi sınıflandırılmamışların (İTGHNS) tümü (%100) pozitivite gösterdi.. PLAP ile 40 karsinomun 4'ünde (%10) (1 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 1 mide adenokarsinomu, 2 kolon adenokarsinomu) boyanma görüldü. SALL4 ve OCT3/4 ile nonspesifik boyanma

gösteren bir vaka hariç karsinomların hiçbirinde boyanma saptanmadı PLAP ile 51 seminomun 34'ünde (%66.6), 71 embriyonal karsinomun 16'sında (%22.5) tümör hücrelerinin %90'dan fazlasında (4+) membranöz veya sitoplazmik pozitivite elde edildi. SALL4 ile 51 seminomun 39'unda (%76.4) ve 71 embriyonal karsinomun 57'sinde (%80.2) tümör hücrelerinin %90'dan fazlasında (4+) nükleer pozitivite görüldü. OCT3/4, 51 seminomun 39'unda (%76.4) ve 71 embriyonal karsinomun 43'ünde (%60.5) tümör hücrelerinin %90'dan fazlasında (4+) nükleer boyanma saptandı.

Çalışmamızda yolk sak tümörlerin %96.3'ünde koryokarsinomların %50'sinde SALL4 ekspresyonu görülürken, OCT3/4 ekspresyonunun ise yolk sak tümörlerin %3'ünde, koryokarsinomların %6.3'ünde saptanması OCT3/4 ile karşılaştırıldığında SALL4'ün genel olarak testiküler germ hücreli tümörler için daha iyi bir belirleyici olduğunu göstermektedir. Ayrıca SALL4 yolk sak tümörlerin %96.3'ünde pozitif saptanırken PLAP'ın yolk sak tümörlerin %63'ünde pozitif saptanması testiküler yolk sak tümör için SALL4'ün, PLAP'tan daha duyarlı bir belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Olgularımızdan seminomların %100'ü, embriyonal karsinomların %98.6'sı OCT3/4 pozitif saptandığından OCT3/4'ün seminom ve embriyonal karsinom ayırımında faydalı olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca germ hücreli dışı tümörlerin hiçbirinde SALL4 ve OCT3/4 ile nükleer pozitivite izlenmediğinden SALL4 ve OCT3/4'ün germ hücreli tümör ile germ hücreli dışı tümör ayırımında yardımcı olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Sonuç olarak, primer testiküler, ekstragonadal ve metastatik germ hücreli tümörlerde histomorfolojik olarak tanı güçlüğü yaşanan olgularda PLAP, SALL4 ve OCT3/4'ün birlikte kullanımı doğru tanıya ulaşma oranını arttırmaktadır.

II- ABSTRACT

Germ cell tumors (GCTs) can be seen gonadal or extragonadal.. More than 90% of testicular tumors are derived from germ cells including various subtypes. Because epidemiology, chromosomal structure, pathogenesis, prognostic and therapeutical difference it is important to identify subtypes of GCTs. GCTs can show monomorphic or mixed histology. It is important to determine germ cell origin of a metastatic tumor. The aim of this study was to compare sensitivities and specificities of SALL4 (a transcription factor for early embryonic development and necessary for embryonic stem cell pluripotency), OCT3/4 (a transcription factor, too) and Placental alkaline phosphatase (PLAP) and diagnostic efficacies of antibodies by immunohistochemistry. One hundred thirty eight orchietomy materials diagnosed as GCT were included in the study. Histologic subtypes were pure seminoma in 40, pure embryonal carcinoma in 14, pure yolk sac tumor in 11, mixed germ cell tumor in 73. Forty carcinomas (10 lung squamous cell carcinoma, 10 laryngeal squamous cell carcinoma, 10 gastric adenocarcinoma ve 10 colon adenocarcinoma) were also included as control group. Positive immunreactivities for all antibodies were recorded as percentages of positive cells and also as staining intensities. To do statistical analysis, cases were subgrouped as 0, negative; +1, 1-30% positive cells; +2, 31-60% positive cells, +3, 61-90% positive cells and +4, >91% positive cells. Statistical comparisons were done by Kruskal wallis test and Friedman test where appropriate. (SPSS 17.0)

In our study, all 51 seminomas (100%), 70 of 71 embryonal carcinomas (98.5%), 34 of 54 yolk sac tumors (62.9%), 10 of 37 teratomas (27%), 4 of 6 choriocarcinomas were immunpositive for PLAP. SALL4 was detected to be positive in 51/51 (100%), seminoma 71/71 (100%) embryonal carcinoma, 52/54 (96.2%) yolk sac tumor, 10/37 (27%) teratoma and 3/6 (50%) choriocarcinoma. We observed positive immunreactivity in 51/51 (100%) seminoma, 70/71 (98.5%) embryonal carcinoma, 7/54 (12.9%) yolk sac tumor, 7/37 (18.9%) teratoma and 1/6 (16.6%) choriocarcinoma for OCT3/4. PLAP, SALL4 and OCT3/4 were positive in all ITGHNU. In control group, PLAP was positive in 4 of 40 carcinomas (10%) (One was a squamous cell carcinoma of the lung whereas the other was a gastric adenocarcinoma and remaining two were colonic adenocarcinomas). No positivity

was detected in any carcinoma for SALL4 and OCT3/4, except one colon adenocarcinoma. PLAP was detected to be +4 membranous/cytoplasmic positive in 34/51 (66.6%) seminomas and 16/71 (22.5%) embryonal carcinomas. Nuclear positivity with a grade of +4 for SALL4 was seen in 39/51 (76.4) seminomas and 57/71 (80.2%) embryonal carcinomas whereas +4 nuclear positivity for OCT3/4 was demonstrated in 39/51 (76.4%) seminoma and 43/71 (60.5%) embryonal carcinoma.

In our study, the expression of SALL4 was determined in 96.3% of yolk sac tumors and 50% of choriocarcinomas. Whereas OCT3/4 was positive only in 3% of yolk sac tumors. Our findings revealed that SALL4 is a better marker for testicular GCTs in general compared to OCT3/4. Furthermore yolk sac tumors have been 96.3% for SALL4 and 63% positive for PLAP. These findings showed that SALL4 is a more sensitive marker than PLAP. Because all seminomas and 98.6% of embryonal carcinomas were positive for OCT3/4, we concluded that OCT3/4 cannot be used to differentiate seminomas from embryonal carcinomas. On the other hand, none of non-germ cell tumors showed nuclear positivity for SALL4 and OCT3/4. We concluded that SALL4 and OCT3/4 were useful markers to differentiate germ cell and non-germ cell tumors. In conclusion, we suggest to use a combined panel of antibodies PLAP, SALL4 and OCT3/4 in the differential diagnosis of primary (testicular or extragonadal) and metastatic GCTs.

III- GİRİŞ

Testis tümörlerinin %90'ından fazlası germ hücre kökenlidir (1, 2, 3). Testisin germ hücreli tümörlerinin çoğu malign olmasına rağmen, modern tedavi yöntemleri ile tedavileri mümkündür. Testisin germ hücreli tümörlerinin (TGHT) farklı histolojik tiplerinin, klinik davranışları ve prognozları farklıdır ve bu nedenle farklı şekillerde tedavi edilirler. Örneğin, seminom genellikle düşük doz radyasyon ile tedavi edilir, oysa seminom dışı germ hücreli tümörler radyoterapi ile tedavi edilmezler (1, 2, 4). Bu nedenle testiküler germ hücreli tümörlerin (TGHT) doğru patolojik tanısı ve düzgün sınıflandırılması uygun tedavinin seçilmesi ve prognozun belirlenmesi için önemlidir. TGHT'lerin tanısı H&E kesitlerle genellikle anlaşılır, fakat bazen zorlayıcı olabilir çünkü yetişkin TGHT'lerinin yaklaşık yarısı bir tümör tipinden daha fazlasını içerir ve TGHT'lerin farklı tipleri çoğunlukla üst üste binen morfolojik özellikler gösterirler ve biri diğerine ve germ hücreli dışı tümörlere benzeyebilir. Bu zor vakalarda, çoğunlukla yardımcı tanısal belirleyicilere ihtiyaç duyulur (1, 2, 3, 4, 5).

Çeşitli tanısal belirleyiciler TGHT'lerin tanısını kolaylaştırmada kullanılmaktadır. Bu belirleyiciler plasental alkalen fosfataz (PLAP), CD30, C-kit ve alfa-fetoprotein'i (AFP) içerir. Bu belirleyiciler TGHT'ler için yararlı belirleyiciler olmasına rağmen, sadece orta derecede sensitivite ve/veya spesifite gösterirler (1, 2, 3, 4, 5). Ayrıca tedavi sonrası ve metastatik odaklarda ekspresyonları kaybolabilir (2). Yakın zamanda, glypican-3 yolk sak tümör için yeni bir belirleyici olarak ortaya atılmıştır, fakat boyanması tipik olarak fokaldır (6, 7, 8). Bu nedenlerle yeni belirleyiciler gereklidir. Son zamanlarda, OCT3/4, NANOG ve SOX2 gibi yeni embriyonik kök hücre belirleyicileri TGHT'ler için daha sensitif ve spesifik belirleyiciler olarak belirmiştir. Örneğin, OCT3/4 ve NANOG seminom ve embriyonal karsinomda (2, 6, 9, 10, 11), SOX2 embriyonal karsinomda eksprese edilir (6, 10, 12). OCT3/4, NANOG ve SOX2 TGHT'ler için sensitif ve spesifik belirleyicilerdir, fakat TGHT'lerden sadece İTGHN, seminom ve embriyonal karsinomda eksprese edilirler: Bunların hiçbiri spermatositik seminom, yolk sak tümör ve koryokarsinom gibi TGHT'lerin diğer tiplerinde eksprese edilmezler, bu nedenle belirli durumlarda tanısal faydaları sınırlıdır (6).

OCT3/4, NANOG ve SOX2'nin fonksiyonu embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesini ve pluripotensini sürdürmektir. Son zamanlardaki çalışmalar embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesinin ve pluripotensinin sürdürülmesinin yalnızca OCT3/4, NANOG ve SOX2'yi değil, ayrıca SALL4'ü de içeren bir grup gen tarafından

düzenlendiğini göstermiştir (6, 13, 14, 15, 16). Bu ağ içinde, SALL4 OCT3/4'ün transkripsiyonunu düzenler, OCT3/4'ün kaynağı rolünü yapar. SALL4 ve OCT3/4, NANOG ve SOX2 arasındaki ilişki SALL4'ün TGHT'ler için belirleyici olabileceğini göstermektedir (6, 17, 18).

Metastatik germ hücreli tümörler ise seyreklerdir. Çoğunluğu testisten, daha az sıklıkla ise overden kaynaklanır. Ayrıca nadiren ekstragonadal germ hücreli tümörler metastaz yapar (19, 20, 21). Metastatik somatik malignitelerin tersine, çoğu metastatik germ hücreli tümör etkili bir şekilde tedavi edilebilir ve hatta modern tedavi ile kür sağlanabilir (19, 22, 23, 24). Bu nedenle, metastatik germ hücreli tümörlerin doğru patolojik tanısı ve metastatik germ hücreli dışı tümörden ayrımı çok önemlidir. Bununla birlikte, GHT'ler sıklıkla farklı morfolojik özellikler gösterirler ve metastatik germ hücreli tümörlerin doğru patolojik tanısı birçok nedenle zor olabilir. İlk olarak, nadir oluşları nedeniyle metastatik germ hücreli tümörler patoloğun başlangıçta ayırıcı tanısında düşünülmemiş olabilir. İkinci olarak, bilindiği gibi primer testiküler germ hücreli tümörler spontan regresyona uğrayabilir, hasta metastatik hastalık ile prezante olabilir (2, 3). Nadiren, metastatik hastalık primer testiküler tümörün bulunmasından önce tanımlanabilir (2). Üçüncü olarak, metastatik germ hücreli tümörlerde küçük biyopsi örneği, yaygın nekroz, ezilme artefaktları, tedavi sonrası değişmiş morfoloji, tümör hücrelerinin inflamatuvar hücreler tarafından örtülmesi tanıyı zorlaştırır. Bu zorlukların üstesinden gelmek ve tanıyı kolaylaştırmak için immünohistokimyasal belirleyiciler sıklıkla gereklidir (19).

Metastatik germ hücreli tümörlerin tanısını kolaylaştırmak için çeşitli immünohistokimyasal belirleyiciler kullanılmaktadır. Bu belirleyiciler, PLAP, CD30, C-kit ve AFP'yi içerir. Bununla birlikte, PLAP metastatik germ hücreli tümörlerin sadece %50-60'ında pozitifdir (19, 25, 26). Germ hücreli dışı tümörlerin de bir kısmında PLAP pozitifliği bildirilmiştir (19, 27, 28). CD30 embriyonal karsinomda pozitifdir, fakat anaplastik lenfoma, Hodgkin lenfoma, karsinom ve melanomda da eksprese edilir (2, 19, 29, 30). Ayrıca kemoterapi sonrası embriyonal karsinomların yaklaşık 2/3'ünde CD30 ekspresyonu kaybolur (2, 19, 31). C-kit seminom ve disgerminomda pozitifdir, fakat diğer çoğu germ hücreli dışı tümör C-kit ekspresyonu gösterir. Bu nedenle metastatik germ hücreli tümörlerde tanısal yararı sınırlıdır (19, 32, 33). AFP bir yolk sak tümör belirleyicisi kabul edilir, fakat sensitivite ve spesifitesi yetersizdir. Yolk sak tümörlerde AFP boyanması sıklıkla yamalıdır. Ayrıca primer tümör AFP pozitif olsa bile, metastazlarda bu AFP pozitivesi kaybolabilir (2). Ayrıca hepatoselüler karsinom ve overin berrak hücreli

karsinomu gibi germ hücreli dışı tümörlerin birçoğu, AFP pozitif olabilir (19, 34). Bütün bu veriler göstermektedir ki bu belirleyiciler metastatik germ hücreli tümörler için yeterli sensitivite ve/veya spesifiteye sahip değildir.

Çalışmamızın amacı erken embriyonik gelişim ve embriyonik kök hücre pluripotensi için gerekli transkripsiyon faktörü ve yeni bir immünohistokimyasal belirleyici olan SALL4'ün, yine bir transkripsiyon faktörü olan OCT3/4 ve bir hücre yüzey glikoproteini olan PLAP ile karşılaştırmalı olarak, spesifite ve sensitivitesinin değerlendirilmesi ve böylece histomorfolojik ayrımın kesin olarak yapılamadığı primer ve özellikle metastatik germ hücreli testis tümörlerinin tanısında kullanılabileceği düşünülen yeni bir immünohistokimyasal belirleyicinin kesin tanıya ulaşmadaki faydasını araştırmaktır.

IV- GENEL BİLGİLER

A- TESTİSİN GERM HÜCRELİ TÜMÖRLERİ

1. Epidemiyoloji

Testis tümörlerinin %90'ından fazlası germ hücre kökenlidir. Dünya da germ hücreli tümör insidansında büyük bir çeşitlilik vardır. En yüksek insidans 8 -10/100.000 civarında olmak üzere Danimarka, Almanya, Norveç, Macaristan, İsviçre gibi Avrupa ülkelerindedir. Avrupa dışında sadece Yeni Zelanda yerlileri yüksek insidansa (7/100.000) sahiptir. Afrika, Karayipler ve Asya'da insidans tipik olarak 2/100.000'in altındadır. Amerika'da beyaz ırkta çok daha sıktır, siyah ırkta nadirdir. GHT'ler sıklıkla üçüncü veya dördüncü dekatta erkeklerde görülür. Daha az sıklıkla çocukluk çağında ve 50 yaş üzerinde görülebilir. Çok sayıda çalışma testiküler germ hücreli tümörlerin yüksek sosyoekonomik düzeye sahip sınıfta, düşük sosyoekonomik düzeye sahip olanlardan daha sık görüldüğünü göstermiştir. Anne karnında yüksek östrojen seviyelerine maruziyet, testiküler travma, çeşitli HLA haplotipleri, ailesel meme kanseri öyküsü, erken puberte, iktiyozis, Marfan sendromu, Li-Fraumeni sendromu ve displastik nevüs sendromu da birtakım çalışmalara göre olası etyolojik nedenlerdir. Testiküler germ hücreli tümörlerin birçok etyolojik neden ile korelasyonu zayıf olmasına rağmen, kriptorşidizm, testiküler tümör öyküsü, ailede testiküler germ hücreli tümör öyküsü ve somatoseksüel belirsizlik sendromları etyolojik neden olarak kanıtlanmış faktörlerdir (1, 2, 3, 4).

2. Patogenez

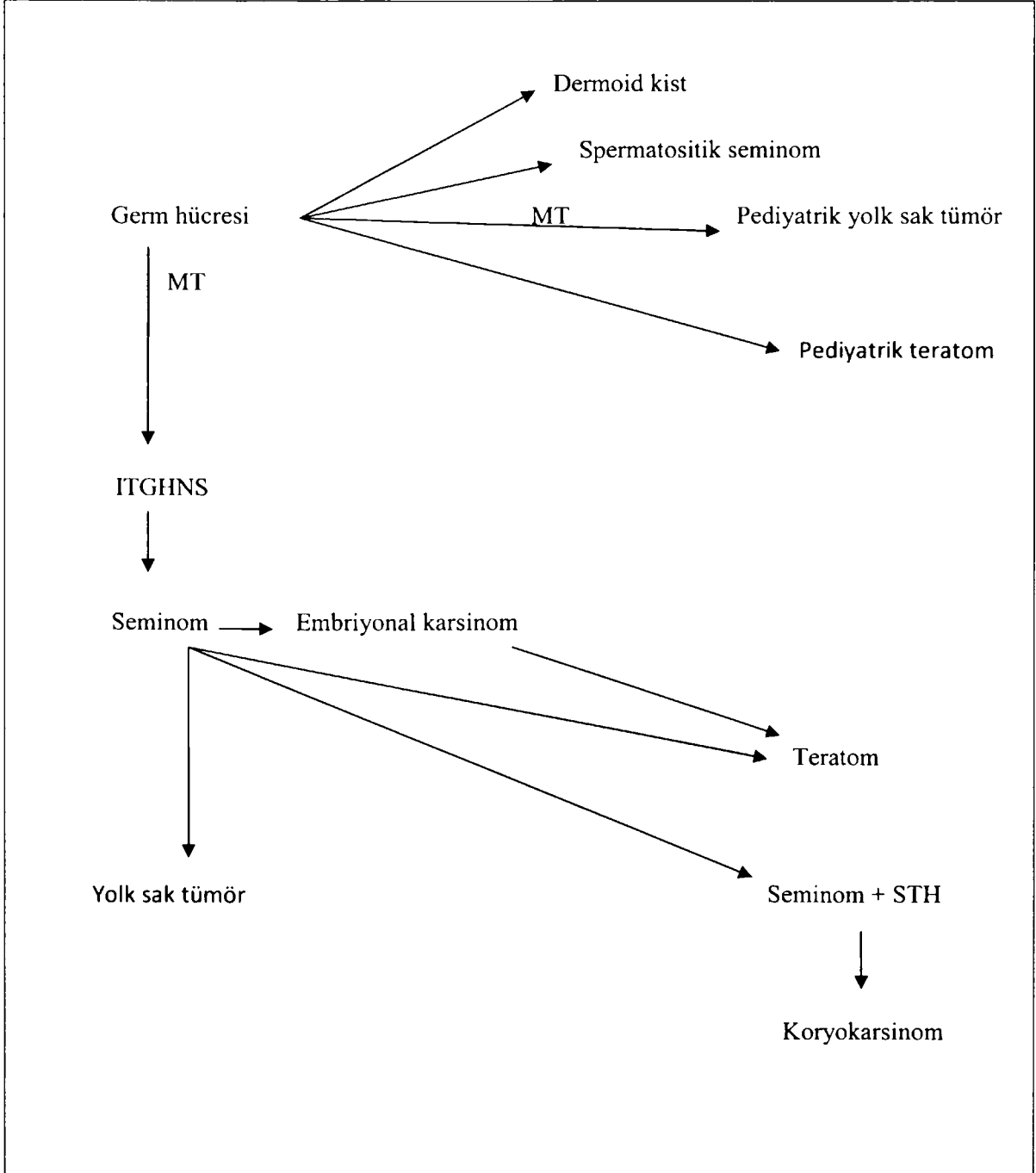
Skakkebaek'in gözlemleri ve intratubuler germ hücreli neoplazi kavramının gelişmesi, testisin germ hücreli tümörlerinin hepsinin spermatositik seminom ve epidermoid ve dermoid kist hariç, ortak neoplastik prekürsör lezyondan (İnatubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmamış) geliştiğini göstermiştir (Tablo-1). İnatubuler germ hücreli neoplazi, sınıflandırılmamış (İTGHNS) ilk başta berrak sitoplazmalı ve bir veya iki belirgin nükleolusa sahip büyük, hiperkromatik nükleuslu seminom benzeri hücrelerin bazal proliferasyonundan oluşur. İTGHNS ışık mikroskopik görünümünden başka ultrastrüktürel özellikleri ve çeşitli antikörlere immünohistokimyasal reaksiyonları içeren birçok özelliği seminom ile paylaşır. Ayrıca saf testiküler seminomdan seminom dışı elemanlar gelişebilir. Orşiektomi materyallerinde saf testiküler seminom izlenen metastatik germ hücreli neoplazi nedeniyle ölen hastaların otopsi çalışmalarında vakaların %30-40'ında seminom dışı elemanlar gösterilmiştir. Işık mikroskopik olarak tipik bazı vakalarda seminomların ultrastrüktürel çalışmaları seminomda epitelyal diferansiyasyon varlığını göstermiştir. Ayrıca seminomun DNA içeriği seminom dışı germ hücreli tümörlerden daha yüksektir, bu da seminom dışı tümörlerin seminomdan gen kaybı sonucu geliştiği fikrini vermektedir. Karyotip analizleri seminom ve seminom dışı GHT'lerde belli kromozomlarda paralel fazlalık veya eksiklik olduğunu göstermiştir. Heterozigosite kaybı çalışmaları da testiste bir arada yer alan seminom ve seminom dışı GHT arasındaki alel dengesizliğinin benzer paternde olduğunu göstermiştir. Bütün bunlar göstermektedir ki seminomlar seminom dışı tümörlere dönüşebilmektedir (Tablo-1) (2, 3, 4, 9, 35, 36).

Genetik değişiklikler İTGHNS'dan invaziv germ hücreli tümör gelişiminden önce olur. Erişkin hastaların invaziv germ hücreli tümörlerinde çoğunlukla 12. kromozomun kısa kolunda izokromozom i (12p) saptanmıştır, fakat ilişkili İTGHNS'da saptanmamıştır. Diğer yandan İTGHNS ile ilişkili invaziv tümörlerin çoğu genetik değişikliği arasında İTGHNS'ın prekürsör rolünü destekler biçimde belirgin benzerlik vardır (2, 3, 4, 9, 35, 36).

İTGHNS'ın seminom dışı GHT'lere (saf embriyonal karsinom, yolk sak tümör veya koryokarsinom) dönüşümü ise invazyon sırasında olur. Ayrıca seminom dışı elemanlarla birlikte seminomun yaygın oluşu invaziv seminomdan transformasyonu destekler. Seminom ve seminom dışı tümörlere komşu İTGHNS invaziv tümör ile belli kromozomal anormallikleri paylaşır. Bu anormallikler komşu tümörün seminom veya seminom dışı olup olmadığına bşğli olarak farklıdır. Bu gözlem tubullerde morfolojik değişikliklerden önce

genetik transformasyonun olduğunu destekler. Ayrıca morfolojik olarak tanınabilir embriyonal karsinom hücresi içermeyen intratubuler malign germ hücreleri CD30 reaktivitesi gösterebilir. Tubullerde İTGHNS hücrelerinin embriyonal karsinom hücrelerine erken fazda diferansiye olduğu fikrini verir (2, 3, 4, 9, 35, 36).

Çocuklarda testiküler germ hücreli tümörlerin histogenezi postpubertal hastalardan farklıdır. Postpubertal tümörlerin aksine çocuklardaki (aslında yolk sak tümör ve teratom olmak üzere iki tip neoplazi ile sınırlıdır.) GHT'lerde İTGHNS ile herhangi bir ilişki yoktur. Ayrıca teratomlar diploid DNA içeriği ve normal karyotipe sahiptir. Postpubertal hastalar ve yolk sak tümörlerde ise 12p anormalliği vardır. Bu nedenle pediyatrik GHT'ler farklı patogeneze sahiptir (2, 3, 4, 9, 35, 36).



Tablo-1: Germ hücreli tümörlerin patogenezi (MT: Malign transformasyon, STH: Sinsisyotrofoblastik hücreler) (2)

3. Sınıflama

Güncel olarak testisin germ hücreli tümörlerinde WHO 2004 sınıflaması kullanılmaktadır (3)

❖ Prekürsör lezyonlar

- İntratubuler germ hücre neoplazisi, sınıflandırılmamış
- Diğer tipler

❖ Bir histolojik tipten oluşan tümörler (Saf formlar)

- Seminom
 - Sinsisyotroblastik hücreler ile birlikte
- Spermatositik seminom
 - Sarkomla birlikte
- Embriyonal karsinom
- Yolk sak tümör
- Trofoblastik tümörler
 - Koryokarsinom
 - Monofazik koryokarsinom
 - Diğer trofoblastik neoplazmlar
 - Plasental site trofoblastik tümör
- Teratom
 - Dermoid kist
 - Monodermal teratom
 - Somatik tip malignitelerle birlikte olan teratom
- Poliembriyoma

❖ Birden fazla histolojik tipten oluşan tümörler (Mikst formlar)

- Mikst embriyonal karsinom ve teratom
- Mikst teratom ve seminom
- Koryokarsinom ve teratom/embriyonal karsinom
- Diğerleri

4. İNTRATUBULER GERM HÜCRE NEOPLAZİSİ, SINIFLANDIRILMAMIŞ (İTGHNS)

a. Tanım

Seminifer tubuller içinde lokalize geniş vakuollü sitoplazmalı, büyük düzensiz nükleuslu ve belirgin nükleollü malign germ hücrelerinden oluşur (1, 2, 3).

b. Epidemiyoloji

İTGHNS'daki atipik germ hücreleri ilk olarak Skakkebaek tarafından infertil erkeklerde saptanmıştır (1, 4, 37, 38) ve bu hücrelerin testiküler karsinomların preinvaziv fazını temsil edebileceği düşünülmüştür (4). İTGHNS kriptorşidizm öyküsü olan erişkinlerin %2-4'ünde, küçük çocukların %0-5'inde (3, 4, 39, 40, 41, 42, 43), interseks sendromluların ise %6-25'inde görülür (3, 4, 44, 45, 46). İnfertil hastalarda sıklığı yaklaşık %1'dir (3, 4, 47, 48, 49). Germ hücreli tümör öyküsü bulunan hastalarda karşı testiste İTGHNS sıklığı yaklaşık %5'dir (3, 4, 50, 51, 52). İnvaziv germ hücreli tümöre komşu seminifer tubullerde İTGHNS sıklığı yüksek olup yaklaşık %82.4'tür (3, 4, 53, 54, 55). Coffin ve ark.'ları (53) çalışmalarında invaziv GHT'lü hastaların %98'inde rezidüel seminifer tubullerde İTGHNS saptamıştır. İTGHNS ile komşu invaziv GHT'de sitogenetik anormallikler de benzerdir. Bütün bunlar İTGHNS'ın invaziv tümörün prekürsörü rolü oynadığını desteklemektedir (4, 56, 57). Klinik olarak primer testiküler tümörü bulunmayan retroperitoneal germ hücreli tümörlü hastaların %42'sinde testiküler

biyopsilerde İTGHNS saptanmıştır, mediastinal GHT'li hastalarda ise nadiren görülmüştür (3, 4, 58, 59, 60). Çok sayıda otopsi çalışması genel popülasyonda İTGHNS insidansı ile germ hücreli tümör insidansının aynı olduğunu göstermiştir (3). İTGHNS spermatositik seminomda bulunmaz (3, 4, 61, 62). Pediyatrik yolk sak tümör ve teratomda ise nadirdir (4, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69).

c. Klinik özellikler

İnvaziv tümör eşlik etmiyorsa İTGHNS asemptomatiktir. Klinik bulgular infertilite, inmemiş testis, tümör varlığı, atrofik testis ve interseks gibi özelliklerle ilgilidir. (1, 3, 4). Ultrasonografi ile mikrolitiyazis veya eşlik eden kitle varsa görülebilir (1).

d. Makroskopik özellikler

Makroskopik olarak testis normal veya atrofik olup spesifik makroskopik bulgu veya lezyon görülmez (1, 2, 3, 4).

e. Mikroskopik özellikler

İTGHNS seminifer tubullerin bazal kısmı boyunca berrak sitoplazmalı büyük hücrelerden oluşur. Nükleuslar, düzensiz nükleolus ile yuvarlak, büyük, düzensiz ve hiperkromatiktir. Malign germ hücreleri normal spermatogonyumlardan büyüktür. Sitoplazmaları glikojenden zengin, geniş berrak veya vakuollü olup PAS pozitifdir. Hücreler genellikle Sertoli hücreleri arasında bazalde lokalizedir. Çok erken vakalar hariç seminifer tubullerde spermatogenez yoktur (2, 3, 4). İTGHNS içeren seminifer tubullerde sıklıkla tubul çapında daralma, peritubuler bazal membranda kalınlaşma görülür. Sertoli hücreleri sıklıkla yer değiştirerek luminal yüzde görülür. İnterstisyumda Leydig hücre hiperplazisi görülebilir. (2, 4). Nadiren spermatogenez ile birlikte tubullerde pagetoid yayılım görülebilir. Tubuler tutulum sıklıkla segmenterdir, fakat diffüz olabilir. İnterstisyum veya lenfatiklerde izole malign germ hücreleri mikroinvaziv hastalığı gösterir. Malign germ hücreleri ayrıca rete testiste hatta epididimal kanallarda görülebilir. Hem intratubuler hem de mikroinvaziv odaklara lenfositik yanıt sıklıkla eşlik eder (3). İnatratubuler mikrolitiyazis görülebilir (1, 4, 70).

f. İmmünohistokimyasal özellikler

İTGHNS vakalarının %83-99'unda PLAP membranöz veya sitoplazmik pozitivite gösterir. Neoplastik olmayan spermatogenik hücreler hemen her zaman PLAP negatiftir.

İTGHNS'da OCT3/4 ve NANOG kuvvetli nükleer reaktivite gösterir. C-kit, M2A, 43-9F ve TRA-1-60 eksprese edilen diğer belirleyicilerdir. Bunlar heterojen olarak eksprese edilir (2, 3, 4). Örneğin TRA-1-60 seminom dışı germ hücreli tümörlere komşu tübüllerde görülürken seminoma komşu tübüllerde görülmez. Eğer her iki tümör tipi mevcut ise ekspresyon daha heterojendir (3).

g. Ayırıcı tanı

İTGHNS'in ayırıcı tanısında spermatogonyum evresinde spermatogenez arresti, intratubuler seminom, intratubuler spermatositik seminom yer alır. Spermatogonyum evresinde spermatogenez arresti, İTGHNS'in nükleer özelliklerinden ve PLAP pozitivitesinden yoksundur. Dev spermatogonyumlar, düzenli bir şekilde dağılmış kromatin ile yuvarlak nükleusa sahiptir. Soliter ve yaygın bir şekilde dağılmışlardır. İntratubuler seminomda seminom hücreleri seminifer tubullerin lümenini tamamen doldurur ve hemen her zaman invaziv seminom ile ilişkidir. İntratubuler spermatositik seminom ise üç karakteristik hücre tipi gösterir (3, 4).

h. Prognoz ve tedavi

Olguların %50'si 5 yıl içinde, %90'ı ise 7 yıl içinde invaziv germ hücreli tümöreliler. Nadiren ilerlemeyebilir (1, 2, 3). Tek taraflı İTGHNS genellikle orşiektomi ile tedavi edilir. Bilateral İTGHNS ise bilateral orşiektomi veya radyoterapi ile tedavi edilebilir. Kemoterapi sıklıkla karşı taraf testis tümöründen metastatik hastalığı olan hastalara uygulanır, fakat kemoterapi tüm vakalarda küratif değildir (1, 4).

5. SEMİNOM

a. Tanım

Genellikle berrak sitoplazmalı, bir veya daha fazla nükleol içeren büyük yuvarlak veya poligonal nükleuslu ve hücre sınırları belirgin primitif germ hücrelerine benzeyen hücrelerden oluşan malign germ hücreli tümördür (1, 2, 3, 4).

b. Epidemiyoloji

Testisin en sık saf GHT'üdür ve tüm testiküler tümörlerin yaklaşık %35-50'sini oluşturur (2, 3). Beyaz ırkta TGHT'lerin insidansındaki artış, seminom ve seminom dışı

tümörleri eşit etkiler. Yaklaşık her 30 yılda bir iki katına çıkar. Beyaz olmayan popülasyonda eğilim uniform değildir. Hem artabilir (Singapurlu Çinliler, Yeni Zelanda yerlisi ve Japonlar) hem de azalabilir (Amerikalı zenciler) (3).

c. Klinik özellikler

Ortalama görülme yaşı yaklaşık 40 yaş civarındadır. Seminom dışı germ hücreli tümörlere göre 5-10 yıl daha geç görülür (1, 2, 4, 71,72, 73). Puberteden önce çok nadirdir (2). Genellikle ağrısız palpable kitle şeklinde prezante olur (1, 2, 3, 4). Olguların %10 kadarında testis normal boyutta veya atrofiktir (2). Yaklaşık %10'unda akut skrotal ağrı görülür ve klinik olarak epididimo-orşit tanısına neden olabilir (4, 74). Seminom sağ testisi daha sık tutar (4, 75). Hastaların yaklaşık %2'sinde ilk semptomlar metastatik tutulumla sekonder olabilir (2, 3, 4, 76, 77). Metastatik seminomun diğer tümörlerden ayrımı önemlidir, çünkü metastatik seminomun radyoterapi ve kemoterapiye yanıtı çok iyidir. Serum hCG, LDH, PLAP ve NSE seviyeleri artabilir (1, 2, 4, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85). Ultrasonografide iyi sınırlı, uniform ve hipoekoik kitle şeklinde görülür (1, 3). Lobüle veya multinodüler olabilir. Bu nodüller sıklıkla birbirleriyle devamlılık gösterir. Parankimi tamamen doldurabilir ve daha heterojen olabilirler (3).

d. Tümör yayılımı

İlk olarak paraaortik lenf nodlarına ve daha sonra diğer lenf nodlarına ve karaciğer, akciğer gibi parankimal organlara metastaz yapar (1, 3).

e. Makroskopik özellikler

Seminomların bir bölümü atrofik testiste meydana gelmesine rağmen testis genellikle büyüktür ve palpabl kitle içerir. Genellikle gri, krem veya soluk pembe, yumuşak, homojen, lobüle iyi sınırlı tek kitle şeklinde olup sert ve fibröz olabilir. Ana kitleden ayrı nodüller görülebilir ve nadiren belirgin sınırlı çok sayıda nodülden oluşur (1, 2, 3, 4). Ortalama 5 cm çapında olup daha büyük boyutlara ulaşabilir (1, 4, 86)

. Düzensiz sarı nekroz odakları olabilir. Kist oluşumu ve hemoraji nadirdir (2, 3, 4). Epididim ve kordona tümör yayılımı nadirdir (3).

f. Mikroskopik özellikler

İnce fibröz trabeküllerle bölünmüş kümeler veya kolonlar şeklinde uniform hücrelerden oluşur. Fibröz trabeküllerde tabakalar veya folikül formasyonu şeklinde yoğun

olabilen lenfositik infiltrasyon bulunur. Ayrıca nadiren plazma hücreleri ve eozinofiller bulunabilir. Seminom hücreleri belirgin sitoplazmik membranlı yuvarlak veya poligonaldır. Sitoplazma glikojen veya lipid içeriğini yansıtan şekilde genellikle berraktır, bazen eozinofilik olabilir. Nükleuslar büyük, sıklıkla veziküler olup bir veya daha fazla belirgin nükleolus içerir. Mitotik aktivite değişkendir. Granülomatöz reaksiyon veya fibrozis sıktır ve bazen çok yaygın olup neoplazmı örtebilir (1, 2, 3, 4). Nadiren neoplastik hücreleri ayıran interselüler ödem gelişebilir ve mikrokistik boşluklar oluşabilir. Seminom genellikle testiküler yapıyı siler. Diğer büyüme paternleri makroskopik kitle oluşturmayan küçük bir tümörde veya büyük bir tümörün kenarında interstisyel invazyon, intratubuler infiltrasyon ve rete boyunca pagetoid yayılımı içerir (2, 3, 4). Nekroz ve mikrolitiazis görülebilir (1, 2, 4).

Seminomun kribriform, psödoglandüler ve tubuler, yüksek mitotik aktiviteli ve sinsisyotrofoblastik hücreli olmak üzere üç varyantı vardır.

Seminomun Kribriform, psödoglandüler ve tubuler varyantları

Seminom hücreleri seyrek lenfosit ile alveoler yuva şeklinde, psödoglandüler, kribriform veya tubuler paternde olabilir (1, 3). Saf seminom için PLAP ve Ckit pozitifliği ile inhibin, AFP ve CD30 negatifliğinin gösterilmesi gereklidir (3).

Yüksek mitotik aktiviteli seminom

Seyrek stromal lenfosit, daha yüksek derecede hücresel pleomorfizm, daha yüksek mitotik aktivite içeren seminomdur. "Atipik seminom" veya "anaplastik seminom" da denir. Klinik gidişi klasik seminoma benzer. Oysa bazı çalışmalarda yüksek mitotik indeksli seminom daha yüksek metastaz insidansına sahip ve klinik prezantasyon da daha yüksek evrede bulunmuştur (3).

Sinsisyotrofoblastik hücreli (STH) seminom

Klasik seminomların yaklaşık %7'sinde Hematoksilen&Eozin boyası ile sinsisyotrofoblastik hücreler (STH) görülür (3, 4, 87, 88). İmmünohistokimyasal olarak ise seminomların yaklaşık %25'inde bazıları mononükleer hücreler olan hCG pozitif hücreler saptanabilir (3, 4, 88, 89). STH'ler değişken görünümündedir. Bazen geniş sitoplazmalı, çok sayıda hiperkromatik nükleuslu ve intrasitoplazmik lakünlere sahip klasik görünümde olup, daha sıklıkla lakün içermeyen multinükleer dev hücre şeklinde görülürler. Bazen ise dar sitoplazma ve nükleusların kalabalık kümelenmeleri ile dut benzeri görünüme sahiptirler.

STH'ler lokalize hemoraji alanları ile sarılı olabilirler, fakat sitotrofoblastik hücreler bulunmaz ve koryokarsinomun özelliklerine sahip değildirler (2, 3, 4). STH'ler hCG ve diğer gebelikle ilişkili proteinler ve sitokeratinler ile boyanırlar. hCG pozitif hücrelerin varlığı sıklıkla yüksek serum hCG düzeyi ile ilişkilidir. Yüksek serum hCG seviyesi tümörün boyutunun büyük olmasına bağlı olabilir ama daha çok koryokarsinomda görülür. STH'li veya yüksek serum hCG'ye sahip seminom aynı hacim ve evredeki klasik seminoma göre daha kötü prognoza sahip değildir. Seminomlarda inflamatuvar stromal yanıt ile ilişkili nonneoplastik Langhans tipi dev hücreler gibi diğer dev hücreler de sıklıkla görülür (3).

g. İmmünohistokimyasal özellikler

Klasik seminomların %85-100'ünde PLAP (Plasental alkalın fosfataz) membranöz veya perinükleer benek paternde diffüz pozitiftir (2, 3, 4, 90, 91, 92, 93) ve nekrotik alanlarda persiste eder. Bununla birlikte diğer germ hücreli tümörlerde ve bazı germ hücreli dışı tümörlerde daha fokal ve sitoplazmik olma eğiliminde PLAP pozitivitesi görülür (4, 94, 95). C-kit PLAP'a benzer insidans ve dağılıma sahiptir. VASA yaygın pozitiftir. CD143 (Anjiyotensin-1 dönüştürücü enzim) PLAP ve C-kit'e benzer dağılıma sahiptir. Pansitokeratin (Cam 5.2 ve AE1/3) ve CD30 daha az sıklıkla pozitiftir ve genellikle fokal dağılıma sahiptir (3). Ayrıca OCT3/4 uniform olarak reaktiftir. STH'ler hCG pozitiftir (2, 2, 4). Ayırıcı tanı bağlamında şunlar yardımcıdır: Seminom ve embriyonal karsinom karşılaştırıldığında, negatif C-kit ve pozitif CD30 kombinasyonu, yaygın membranöz pansitokeratinler, SK8, SK18 veya SK19'un varlığı embriyonal karsinomu destekler; klasik seminom spermatositik seminom ile karşılaştırıldığında yaygın PLAP pozitivitesi klasik seminomu gösterir (3, 4).

h. Ayırıcı tanı

Seminom en sık embriyonal karsinomun solid paterni ile karışır. Aslında iyi fikse olmuş bir preparatta bu ayırım zor değildir. Kötü fiksasyon seminomda sitoplazma kaybına, hücre sınırlarının belirsizleşmesine ve nükleusların üst üste binmesine neden olur ve böylece embriyonal karsinom ile ayırıcı tanısı zorlaşır (4, 96). Morfolojik ayırıcı özellikler şunlardır: Seminomun ayrık uniform hücreleri, embriyonal karsinomun pleomorfik üst üste binmiş hücreleri vardır. Lenfositik veya granüloamatöz yanıt seminom için tipiktir, fakat embriyonal karsinomda nadirdir. Seminomdaki septasyon embriyonal karsinomda görülmez. Gerçek gland ve papillaların varlığı seminomu dışlar. Ayrıca PLAP ve C-kit

dağılımı seminomda embriyonal karsinomdan daha diffüzdür, oysa CD30 ve pansitokeratin embriyonal karsinomda daha belirgindir. AFP embriyonal karsinomda bazen pozitif olabilir ama seminomda negatiftir. Ayrıca M2A (Podoplanin, D2-40) seminomda diffüz pozitif iken, embriyonal karsinomda genellikle negatif veya fokal pozitifdir (2, 3).

Seminomdaki florid lenfositik veya granülomatöz yanıt özellikle frozenda olmak üzere bazen inflamatuvar lezyon yanlış tanısına neden olabilir. Geniş örnekleme ve büyük büyütmede seminom hücrelerini arama (PLAP ve C-kit'in desteklemesi ile) böyle hataları azaltır (3).

Yolk sak tümörün solid paterni de seminoma benzeyebilir. Ama bu paterne sıklıkla yolk sak tümörün diğer daha kolay anlaşılan paternleri eşlik eder. Yolk sak tümörün solid odakları seminomun tipik fibrovasküler septalarına sahip değildir ve yolk sak tümörde sık görülen hyalin globüller seminomda yoktur veya nadirdir (2, 4, 97). AFP yolk sak tümörde genellikle pozitifdir ama seminomda negatiftir (2, 4). Ayrıca OCT3/4 ve C-kit seminomda kuvvetli pozitif iken yolk sak tümörde negatiftir (2).

Ayrıncı tanıdaki diğer tümörler ise, spermatositik seminom (Seminomda PLAP yaygın pozitif iken spermatositik seminomda negatiftir), Leydig hücreli tümör (Özellikle berrak veya vakuollü sitoplazmalıları), Sertoli hücreli tümör (Tubul oluşumu seminomun tübüler varyantına benzeyebilir) ve metastazlardır (Örneğin: melanom). Bu neoplazmlarda İTGHNS'ın yokluğu ve hem tipik seminom immüfenotipinin hem de Leydig, Sertoli veya spesifik metastatik tümörlerin immünhistokimyasal özelliklerinin gösterilmesi tanıya yardımcıdır (2, 3).

1. Prognoz ve tedavi

Tanı anında primer tümör boyutu, nekroz, vasküler ve tunikal invazyon klinik evre ile ilişkilidir (3). Erken evre (Evre-I veya hacimli olmayan evre-II) seminom sıklıkla orşiektomi ve paraaortik, parakaval ve pelvik lenf nodlarına radyoterapi ile tedavi edilir. Evre-I ve evre-II hastaların %95'den fazlasında kür sağlanır. Rekürrenslerin çoğu radyoterapi uygulanan alan dışından kaynaklanır. Kemoterapi yaygın retroperitoneal tutulumu olan hastalarda veya daha ileri evrelerde önerilir (2). 4 yıl nüksüz sağkalım 3 cm'den küçük tümörlerde %94, 3-6 cm arası tümörlerde %82 ve 6 cm ve 6 cm'den büyük tümörlerde %64'tür. Kan ve lenfatik damar invazyonu nüks ile sıklıkla ilişkili bulunmuştur (3).

6. SPERMATOSİTİK SEMİNOM

a. Tanım

Hücrelerin boyutları 6-100 µm arasında olan farklı morfolojide üç tip hücreden oluşan germ hücreli tümördür (3, 4).

b. Epidemiyoloji

Spermatositik seminom ilk olarak Masson tarafından tanımlanmış olup (2, 4, 172), tüm testis tümörlerinin %5'den azını oluşturur (1, 2, 3). Testiküler GHT'lerin ise %1-2'sini oluşturur (2). Diğer germ hücreli tümörlerden farklı ırk eğilimi yoktur (3). Epidemiyolojisi açık değildir. Diğer GHT'lerin aksine kriptorşidizm, İTGHNS veya diğer GHT tipleri eşlik etmez (2, 3, 4, 98, 99, 100).

c. Klinik özellikler

Spermatositik seminomlu çoğu hasta diğer testiküler GHT tipleri görülen hastalara göre daha ileri yaşadadır. Ortalama yaş 52'dir (1, 2, 3, 4). Üçüncü dekatta da olabilir (3, 4). Over veya başka lokalizasyonlarda görülebilen diğer germ hücreli tümörlerin tersine spermatositik seminom sadece testiste meydana gelir. Çoğu tümör tek taraflıdır ve daha çok sağ tarafta görülür. Bilateral tümörler sıklıkla farklı zamanlarda olur. Klasik seminoma göre daha sıklıkla bilateraldir ve multifokal olabilir (1, 2, 3). Genellikle ağrısız testiküler kitle şeklindedir. Serum tümör belirleyicileri (AFP, hCG, LDH) negatiftir (1, 3, 4).

d. Makroskopik özellikler

Ortalama boyut 7 cm olup, 2-20 cm arasında değişir. Gri-ten renkli olup şişkin mukoid, ödematöz veya jelatinöz kesit yüzeyi ile sıklıkla yumuşak, iyi sınırlıdır. Hemoraji ve nekroz odakları ve kistik değişim görülebilir. Bazen multilobüle olabilir (2, 3, 4). Tipik vakalarda paratestiküler doku yayılımı nadirdir, fakat epididim tutulumu bildirilmiştir (2, 3, 4, 101, 102).

e. Mikroskopik özellikler

Tümör hücreleri nonkoheziv olup diffüz dizilimi karakteristiktir. Tümör hücre tabakaları genellikle dar, nadiren belirgin fibröz stroma ile büyük yuvalara ayrılabilir. Stroma belirgin olduğu zaman genellikle ödematözdür. İnterselüler ödem kistik veya

psödoglandüler paterne neden olabilir veya trabeküller, küçük yuvalar, kümeler veya tek hücreler ile sonuçlanabilir. Seminomun tersine spermatositik seminomda lenfositik infiltrasyon ve granümatöz reaksiyon nadirdir. Tipik olarak 3 hücre tipinden oluşur. Küçük hücreler dar eozinofilik-bazofilik sitoplazmaya, yoğun bazofilik nükleusa sahip olup yüzeysel olarak lenfosit benzerler, fakat homojen kromatin paternine ve daha belirgin sitoplazmaya sahiptirler. Orta boyuttaki hücreler en yaygın hücreler olup orta miktarda sitoplazma ve ince granüler kromatin ile yuvarlak nükleusa sahiptir. Üçüncü tip hücreler en büyük ve en az sıklıkta bulunan hücreler olup yuvarlak, oval veya girintili çıkıntılı nükleus ile mono-, nadiren multinükleer dev hücrelerdir. Bunlar sıklıkla tipik yumak benzeri kromatin dağılımına sahiptir (3, 4). Lenfosit benzeri küçük hücreler 6-8 µm, orta boyutlu hücreler 15-20 µm, büyük hücreler ise 50-100 µm çapındadır (2). Anormal formları içeren mitoz sıktır. Glikojen genellikle bulunmaz. Vasküler, tunikal ve epididimal invazyon olabilir. Çoğu vakada tümör periferinde belirgin intratubuler büyüme görülür. Komşu tubullerde tipik olarak İTGHNS yoktur (3, 4).

f. İmmünohistokimyasal özellikler

Diğer GHT'lerde kullanılan belirleyicilerin çoğu spermatositik seminomda genellikle negatiftir. PLAP genellikle negatif olup tümör hücrelerinin izole veya küçük bir grubunda fokal pozitive görülebilir. Sitokeratinler genellikle negatiftir, nadiren SK18 ile perinükleer benek tarzında pozitive görülebilir. AFP, hCG, CEA, NSE, vimentin, aktin, desmin, LCA, CD30, OCT3/4 negatiftir. SCP-1 (synaptonemal complex protein-1), SSX (synovial sarcoma on X chromosome) ve XPA (xeroderma pigmentosum type A1) gibi germ hücre maturasyonu evre spesifik belirleyiciler gösterilmiştir (2, 3). VASA diffüz reaktiftir. C-kit pozitifliği bildirilmiş, NY-ESO-1, kanser spesifik antijen, 16 spermatositik seminomun 8'inde bulunmuş, fakat diğer germ hücreli tümörlerde bulunmamıştır (3).

g. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda malign lenfoma, plazmasitom, seminom ve prostat adenokarsinomu metastazı yer alır. Spermatositik seminom, yanlış tanı aldığı zaman, en sıklıkla tipik seminom veya lenfoma olarak tanı alır. Oysa tipik seminomda genellikle fibröz stroma, lenfositik ve/veya granümatöz stromal reaksiyon ve bol glikojenli hücreler, PLAP ve OCT3/4 pozitivitesi ve İTGHNS bulunur (2, 3). Lenfoma baskın olarak interstisyel büyüme paternine sahiptir ve yumak şeklinde kromatin dağılımı yoktur (1, 3). Plazmasitomda nükleus belirgin sınırlı, ekzantriktir ve periferik kümelenmiş kromatine sahip olabilir.

Prostat adenokarsinomu testise nadiren metastaz yapar. Az diferansiye prostat adenokarsinomu tamamen selüler olabilir ve glandüler diferansiyasyon görülmeyebilir. Prostat adenokarsinomu hikayesinin sorgulanması ve prostat belirleyicileri ayırmda yardımcı olabilir (1). Ayrıca embriyonal karsinom spermatositik seminomun anaplastik varyantının ayırıcı tanısına girer. Bu tür vakalarda spermatositik seminomun klasik trifazik görünümü en azından küçük odaklarda görülebilir, nükleuslar embriyonal karsinomun düzensiz şekilli nükleuslarının aksine yuvarlaktır. Ayrıca embriyonal karsinomda pozitif olan sitokeratinler, OCT3/4 ve CD30 spermatositik seminomda negatiftir (2).

h. Prognoz ve tedavi

Saf spermatositik seminom metastazı sadece bir vakada bildirilmiştir (3). Radikal orşiektomi küratiftir (1, 2).

7. SARKOM İÇEREN SPERMATOSİTİK SEMİNOM

a. Tanım

İndiferansiye veya daha az sıklıkla diferansiye sarkom ile ilişkili spermatositik seminomdur (3).

b. Klinik özellikler

Yaklaşık bir düzine vaka bildirilmiştir. Yaş aralığı 34-68 yaşdır. Ailesel geçiş yoktur ve etyolojik ajan Tanımlanmamış. Hastaların %50'si tanı anında metastaza sahiptir. Serum AFP ve hCG düzeyleri normaldir (3).

c. Makroskopik özellikler

Tipik tümör büyüktür (25 cm'ye varan). Hemoraji, nekroz ve fokal miksoid değişim alanları gösterir (2, 3).

d. Mikroskopik özellikler

Spermatositik seminom komponenti sıklıkla belirgin pleomorfizm odaklarına sahiptir ve sarkom komponentine bitişiktir. Sarkom komponenti rabdomyosarkom, işsi hücreli sarkom ve kondrosarkom gibi çeşitli paternler gösterebilir (2, 3).

e. Ayırıcı tanı

Primer ayırıcı tanı bir testiküler GHT'ün sarkomatöz transformasyonudur. Teratomun olmaması ve bu ihtimalin dışlanması ile spermatositik seminom kabul edilir. Sadece sarkom komponenti örneklendiğinde ayırıcı tanı primer testiküler sarkom, paratestiküler sarkom ve metastatik sarkom veya sarkomatoid karsinomu içerir (3).

f. Prognoz ve tedavi

Sarkomatöz komponent yaygın olarak metastaz yapar. Çoğu hasta metastatik hastalıktan ölür. Ortalama yaşam bir yıldır. Sadece iki hasta hastalısız bir yıldan fazla yaşamıştır (WHO,CHA). Sarkomatöz değişimin görüldüğü metastatik spermatositik seminomda sistemik kemoterapi etkisizdir (1, 3).

8. EMBRİYONAL KARSİNOM

a. Tanım

Epitelyal görünümlü geniş berrak veya granüler sitoplazmalı indifferansiye hücrelerden ve çeşitli büyüme paternlerinden oluşur (3).

b. Epidemiyoloji

Saf formda ve mikst germ hücreli tümörün (MGHT) bir komponenti olarak bulunabilir. %2-10'u saf formda, % 80'den fazlası MGHT'ün komponenti şeklindedir (3, 5).

c. Klinik özellikler

İlk olarak pubertede görülür ve klasik seminomun pik insidansından yaklaşık 10 yıl önce 30 yaş civarında pik yapar. Prepubertal çocuklarda çok nadirdir. Ağrısız testis büyümesi en sık semptomdur. Seminomdan daha hızlı büyüme eğiliminden dolayı torsiyona benzer testiküler ağrı ile prezante olmaya daha eğilimlidir. Bazı hastalar metastaz ve/veya jinekomasti ile başvurabilir (2, 3, 5). Vakaların yaklaşık %60'ında sinsisyotrofoblastik hücrelerin varlığı nedeniyle serum hCG seviyesinde artış görülür. Ayrıca PLAP, LDH ve CA19-9 seviyeleri artabilir (2).

d. Makroskopik özellikler

Sıklıkla testiküler kontur distorsiyonu ile birlikte testiste büyümeye neden olur. Ortalama çap 4 cm'dir. Rete testis ve epididime lokal yayılım nadir değildir. Tümör dokusu

yumuşak ve granüler gri, gri-beyaz veya ten renklidir. Hemoraji ve nekroz odakları sıktır. Kesit yüzeyinden sıklıkla çıkıntı yapar ve iyi sınırlı değildir. Bazen fibröz septa, kist ve yarıklar içerebilir (2, 3, 5).

e. Mikroskopik özellikler

Solid, asiner, papiller ve tubuler paternler görülebilir. Tümör hücreleri genellikle yarı saydam görünüm ile veziküler veya hiperkromatik olabilen büyük düzensiz nükleus ile büyük, poligonal veya bazen kolumnardır. Bir veya daha fazla büyük düzensiz nükleolus görülür. Nükleer membranlar belirgindir. Sitoplazma geniş, genellikle ince granülerdir. Bazofilik, amfofilik veya eozinofilik boyanabilir. Hücre sınırları belirsizdir. Hücreler sıklıkla bitişik veya üst üste binmiş nükleuslar ile kalabalık olma eğilimindedir. Anormal formları içeren mitozlar sıktır. Sinsisyotrofoblastik hücreler tek tek veya küçük hücre grupları şeklinde dağılabilir. Solid tümör oluşumunun periferindeki hücreler dejenere veya apoptotik görülebilir, koryokarsinoma benzer bifazik patern ile sonuçlanır. Komşu testiküler dokuda intratubuler embriyonal karsinom sıklıkla bulunur. Vasküler ve lenfatik invazyon sıktır (2, 3, 5).

f. İmmünohistokimyasal özellikler

Embriyonik histogenezi yansıtan immünohistokimyasal belirleyiciler pozitifdir. Vakaların %84'ünde CD30 pozitifdir. EMA, CEA, vimentin genellikle negatif iken çeşitli sitokeratinler pozitifdir. Embriyonal karsinomda en çok görülen sitokeratinler sitokeratin 8, 18 ve 19'dur. PLAP vakaların %86-97'sinde membranöz veya sitoplazmik pozitifdir, fakat genellikle fokaldır ve seminomdan daha zayıftır. Seminomun tersine embriyonal karsinomda C-kit negatif veya fokal pozitifdir. 43-9F pozitif olabilir. OCT3/4 embriyonal karsinom, seminom ve İTGHNS için oldukça sensitif ve spesifiktir. Diğer GHT tiplerinde ve diğer testis tümörlerinde negatif olup, çok seyrek olarak akciğer ve böbrek hücreli karsinomda pozitifdir (2). Çoğu embriyonal karsinomda tümör hücrelerinin %50 kadarında TP53 kuvvetli pozitifdir. Seyrek hücrede AFP pozitif olabilir. Bazen HPL (Human plasental laktojen), alfa-1 antitripsin, Leu-7, vimentin, LDH, ve ferritin pozitifdir (2, 3). hCG ve SP1 (gebelik spesifik beta-1 glikoprotein) STH'lerde pozitifdir (3).

g. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda germ hücreli tümörler arasında seminom, solid tip yolk sak tümör, koryokarsinom, diğer tümörler arasında ise anaplastik büyük hücreli lenfoma, malign

Sertoli hücreli tümör ve metastazlar bulunur. Hastanın yaşı, bütün büyüme paternlerini içeren tümörden alınan örneklerde mikroskopik değerlendirme ve immünohistokimyasal belirleyiciler çoğu vakada doğru tanıyı sağlar (2, 3). Yolk sak tümör sıklıkla hyalin globüller ve interselüler bazal membran içerirken, embriyonal karsinom genellikle içermez ve AFP pozitifliği embriyonal karsinoma göre çok daha sıktır. Embriyonal karsinomda CD30 pozitif iken yolk sak tümörde genellikle negatiftir ve OCT3/4 embriyonal karsinomda pozitif iken yolk sak tümörde negatiftir. Embriyonal karsinomdaki dejenere hücreler sinsisyotrofoblastik hücrelere benzeyebilir fakat bu dejenere hücreler hCG negatiftir ve koryokarsinomdan farklı olarak hemoraji eşlik etmez. Büyük hücreli lenfomada ise interstisyel büyüme paterni görülür, İTGHNS görülmez ve LCA pozitif iken sitokeratinler, PLAP ve OCT3/4 negatiftir (2).

h. Prognoz ve tedavi

En önemli prognostik faktör klinik tümör evresidir. Anjiyolenfatik invazyon ve lenf nodlarında canlı tümör hücresi varlığı kötü prognostik faktörlerdir. Genelde tümör yayılımı lenfatiktir, ilk olarak retroperitoneal lenf nodları daha sonra mediastinal lenf nodları tutulur. Akciğerlere hematogen yayılım olabilir (2, 3). Embriyonal karsinom ve diğer seminom dışı GHT'lerde tedavi klinik evreye bağlıdır ve primer orşiektomi ve/veya retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu ve/veya kemoterapiyi içerir (1, 2).

9. YOLK SAK TÜMÖR (ENDODERMAL SİNÜS TÜMÖRÜ)

a. Tanım

Embriyonik yolk sak, allantois ve ekstraembriyonik mezankime benzeyen çok sayıda morfolojik patern ile karakterizedir (1, 3, 4).

b. Epidemiyoloji

Saf yolk sak tümör çocuklarda görülen en sık testiküler neoplazmdır ve bütün ırklarda görülür. Çocukluk çağı yolk sak tümörlerinin kriptorşidizm ile ilişkisi yoktur ve bütün ırklarda insidansı aynıdır. Testiste yolk sak tümör iki farklı yaş grubunda görülür. Çoğu infant ve 6 ay-4 yaş arası çocuklarda görülür. Postpubertal erkeklerde nadirdir (1, 2, 3, 4). Erişkinlerde genellikle mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak bulunur. Erişkinlerde beyazlarda diğer ırklara göre çok daha sıktır. Yaş aralığı testiküler malign mikst germ hücreli tümör yaş aralığına eşittir (2, 3).

c. Klinik özellikler

Çocuklarda ortalama yaş 16-17 aydır. Sağ testiste daha sıktır. Vakaların %90'ı ağrısız testiküler kitle ile prezante olur. Vakaların %7'sinde travma öyküsü veya akut başlangıçlı ağrı vardır. %1'inde hidrosel mevcuttur. Vakaların %90'ında AFP seviyesi yükselmiştir. USG solid intratestiküler kitleyi testisten farklı eko yapısı ile gösterir (2, 3, 4).

d. Tümör yayılımı

Çocukların %10-20'si prezantasyon anında metastaza sahiptir. Nodal yayılım retroperitonealdir. Çocuklarda hematojen yayılım eğilimi vardır. Vakaların %20-26'sında ilk klinik tutulum yeri akciğerlerdir (3).

e. Makroskopik özellikler

Makroskopik olarak saf yolk sak tümörler solid, yumuşak, soluk gri veya gri-beyaz ve kısmen jelatinöz ve mukoiddir. Kistik değişiklikler görülebilir. Özellikle postpubertal hastalarda olmak üzere hemoraji ve nekroz odakları içerebilir (1, 3, 4, 5).

f. Mikroskopik özellikler

Sıklıkla birbirinin içine giren çeşitli paternler karışık halde bulunur. Paternler eşit miktarlarda görülebileceği gibi bir patern baskın olabilir. Tamamen tek histolojik paternden oluşması nadirdir (1, 2, 3, 4).

Histolojik paternleri

- Mikrokistik veya retiküler patern
- Makrokistik patern
- Solid patern
- Glandüler-alveoler patern
- Endodermal sinüs paterni
- Papiller patern
- Miksomatöz patern
- Poliveziküler vitellin patern

- Hepatoid patern

- Enterik patern

Mikrokistik veya retiküler patern

En sık patern olup, mikrokistlerden oluşur. İnce duvarlı küçük kistler dar sitoplazmalı yassı hücreler ile döşelidir. Hücreler intraselüler vakuollere sahip olup nükleuslar kenara itilmiş olup lipoblastlara benzeyebilir. Bazı hücreler çok yassı olup endotelial hücrelere benzeyebilir. Nükleuslar genellikle küçük olup değişken boyutlarda olabilir. Hyalin globüller sıklıkla mevcuttur (1, 3, 4, 5).

Makrokistik patern

Genellikle mikrokistik patern ile ilişkilidir ve mikrokistlerin birleşmesinden oluşur. Farklı boyutlarda ince duvarlı boşluklar görülür. Birbirlerine komşu olabilirler veya diğer histolojik paternler ile ayrılabilirler (3, 4, 5).

Solid patern

Berrak sitoplazmalı, belirgin nükleuslu, orta boyutlu poligonal tümör hücrelerinin nodüler kümelerinden oluşur. Bazen hücreler daha fazla pleomorfizm ve dev hücreler gösterebilir. Sıklıkla periferde tipik seminom ve embriyonal karsinomdan ayırma yardımcı olan mikrokistik patern ile ilişkilidir. Ayrıca klasik seminomda görülen lenfositler içeren fibrovasküler septalar bulunmaz (2, 3, 4, 5).

Glandüler-alveoler patern

Yassı, küboidal veya poligonal hücrelerle döşeli tubuler yapılardan, gland benzeri boşluklardan ve düzensiz alveollerden oluşur (2, 3, 4, 5).

Endodermal sinüs paterni

Nadirdir. Bu paternde kistik boşluk içerisinde berrak sitoplazmalı belirgin nükleuslu küboidal-kolumnar tümör hücreleri ve bu hücrelerin santralinde fibrovasküler kor görülür. Bu yapılar Schiller-Duval cisimcikleri adını alır ve yolk sak tümörün belirteci olarak kabul edilir (1, 2, 3, 4, 5).

Papiller patern

Genellikle belirgin nükleuslu hücrelerin döşediği, santralde fibrovasküler kor içeren çok sayıda ince papilladan oluşur. Fibrovasküler kor, gevşek ve ödematöz yapıdan, fibröz ve hyalinize görünümüne kadar değişir (1, 2, 3, 4, 5).

Miksomatöz patern

Miksoid stroma ve neoplastik hücre adaları ve kordonlarından oluşur, sıklıkla çok vaskülerdir (1, 2, 3, 4, 5).

Poliveziküler vitellin patern

Bu patern nadirdir. Selüler, ödematöz veya fibröz stroma ile farklı boyut ve şekilde vezikül veya kistlerden oluşur. Veziküller kolumnar-yassı hücrelerle döşelidir. Bazen veziküller küçük ve birbirine bitişiktir (1, 2, 3, 4, 5).

Hepatoid patern

Bu patern solid paternin bir varyantı olarak kabul edilir. Yolk sak tümörlerin yaklaşık %20'sinde görülür. Postpubertal tümörlerde daha sıklıkla görülür. Hücreler geniş eozinofilik sitoplazmalıdır. Hyalin globüller sıklıkla görülür. Bu patern genellikle küçük olmakla birlikte çok sayıda ve büyük boyutta da olabilir (1, 2, 3, 4, 5).

Enterik patern

Genellikle allantois, enterik veya endometrioid glandlara benzer. Tümör hücreleri subnükleer vakuollü yüksek kolumnardır. Teratomlardaki bazı glandlara benzerler, diğer yolk sak tümör paternleri ile ilişkisi ve müküler komponent yokluğu ayrımlarında yardımcıdır (1, 2, 3, 4, 5).

g. İmmünohistokimyasal özellikler

AFP yolk sak tümörlerin çoğunda sitoplazmik pozitivite gösterir, sıklığı %50-100 arasındadır. Yoğun boyanma genellikle hepatoid odaklarda görülür. AFP'nin negatif olması yolk sak tümörü dışlamaz. Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin kuvvetli pozitifdir. Yolk sak tümördeki enterik glandlar CEA ile boyanabilir. Glypican-3 pozitif olup diğer GHT'lerin çoğunda çok nadir eksprese edilir. Vimentin miksomatöz ve sarkomatöz paternlerin iğsi hücrelerinde pozitifdir. PLAP değişkendir. Ayrıca alfa-1 antitripsin, albumin, ferritin, NSE, Leu-7 eksprese edilen diğer belirleyicilerdir (2, 3, 5).

h. Ayırıcı tanı

Seminom yolk sak tümörün solid varyantının ayırıcı tanısına girer. Embriyonal karsinom ve juvenil granüloza hücreli tümör de ayırıcı tanıda yer alır (1, 2, 3, 4, 5). Yolk sak tümörün embriyonal karsinom ile ayırıcı tanısında CD30, OCT3/4, AFP ve glypican-3 yardımcıdır. CD30 ve OCT3/4 embriyonal karsinomda pozitif, yolk sak tümörde negatiftir. AFP ve glypican-3 ise yolk sak tümörde pozitif ve embriyonal karsinomda genellikle negatiftir (2). Juvenil granüloza hücreli tümör 5 aylıktan küçük çocuklarda görülür, oysa yolk sak tümör ortalama 17-18 aylık çocuklarda görülür. AFP ve PLAP juvenil granüloza hücreli tümörde negatif iken, pediyatrik yolk sak tümörde pozitif olabilir. İnhibin- α ve CD99 juvenil granüloza hücreli tümörde pozitif olup, yolk sak tümörde negatiftir (1, 2, 4).

ı. Prognoz ve tedavi

Klinik evre ve AFP yüksekliğinin derecesi prognostik olarak önemlidir. Lenfovasküler invazyon hariç kanıtlanmış morfolojik prognostik kriter yoktur (WHO). Tedavi tümör evresine bağlıdır. Hem infant hem de çocuklar klinik evre-I tümörlerde radikal orşiektomi ile tedavi edilir, nüks eden vakalara kemoterapi uygulanır. Erişkinlerde yolk sak tümör içeren mikst GHT ile yolk sak tümör içermeyen mikst GHT'ün tedavisi ve prognozu aynıdır ve tümör evresine bağlıdır. Çocuklarda saf yolk sak tümörde kemoterapi genellikle ileri evre ve rekkürren tümörlere uygulanır (1, 2)

10. KORYOKARSİNOM

a. Tanı

Sinsisyotrofoblastik, sitotrofoblastik ve intermediyer trofoblastik hücrelerden oluşan malign trofoblastik tümördür (1, 3, 5).

b. Epidemiyoloji

Saf koryokarsinom nadirdir ve testis tümörlerinin %0.1-0.3'ünü oluşturur (1, 2, 4, 5). Testiküler germ hücreli tümörlerin (TGHT) %1'den azını oluşturur. Testiküler GHT'lerin %8'inde koryokarsinom diğer germ hücre elemanları ile birlikte (3, 5).

c. Klinik özellikler

Saf koryokarsinom genellikle 25-30 yaşlarında görülür. Puberteden önce görülmez. Vasküler invazyon eğilimi nedeniyle oldukça malign bir testis tümörüdür. Genellikle hemoptizi, dispne, santral sinir sistemi disfonksiyonu, hematemez, melena, hipotansiyon ve anemi gibi metastaza bağlı semptomlarla prezante olur. Dolaşımında hCG çok yüksektir. hCG'nin LH ile çapraz reaksiyonu ile bazı hastalarda Leydig hücre hiperplazisi nedeniyle jinekomasti, TSH ile çapraz reaksiyonu ile bazı hastalarda hipertiroidizm görülür. Testiküler kitle palpabl olmayabilir. Primer alan çok küçük olabilir veya yaygın metastatik tutulum olmasına rağmen total olarak regrese olabilir (1, 2, 3, 4).

d. Makroskopik özellikler

Testis genellikle normal boyutta olup hemoraji yaygın ise büyük boyutlara ulaşabilir. Tümör sıklıkla küçük ve hemorajiktir. Bazen beyaz-ten renkli tümör hemorajik alanı saran rim şeklinde görülebilir. Bazı vakalarda belirgin regresyon olur ve sadece gri-beyaz renkli skar alanı görülür (1, 2, 3, 4, 5).

e. Mikroskopik özellikler

Sinsisyotroblastik, sitotroblastik ve intermediyer trofoblastik hücreler çeşitli oranlarda görülür. Bu hücresel komponentler, genellikle yaygın hemorajik ve nekrotik zeminde çeşitli paternlerde bulunurlar. Bazı örneklerde sinsisyotroblastlar immatür plasental villuslarda görülen yapıya benzer paternde sitotroblast yuvalarına başlık oluşturur. En sık olarak hemoraji ve nekrozdan oluşan santral zona sahip nodülün periferinde rastgele şekilde karışık bulunurlar. Bazı vakalarda, sinsisyotroblastik hücreler belirsiz olup göreceli olarak dar sitoplazmaya ve dejenere görünüme sahiptir. Bütün paternlerde kan damarı invazyonu sıklıkla tanımlanır. Sinsisyotroblastik hücreler genellikle eosinofilik-amfofilik sitoplazma ile multinükleerdir. Tipik olarak birkaç, büyük, düzensiz şekilli, hiperkromatik nükleuslara sahiptirler. Sıklıkla pembe sekresyon veya eritrositler içeren sitoplazmik lakünlere sahiptirler. Sitotroblastik hücreler bir veya iki belirgin nükleoluslu tek, düzensiz şekilli nükleus ile soluk-berrak sitoplazmaya sahiptir. İntermediyer trofoblastik hücreler eozinofilik-berrak sitoplazmaya ve tek nükleusa sahiptir. Sitotroblastik hücrelerden daha büyüktürler, fakat immünohistokimyasal boyalar kullanılmadan kolayca görülemezler (1, 2, 3, 4).

f. İmmünohistokimyasal özellikler

hCG pozitifitesi en kuvvetli sinsisyotrofoblastik hücreler ve sinsisyotrofoblastik hücreler ile sitotrofoblastik hücreler arasında tranzisyonel formu temsil eden büyük mononükleer trofoblastik hücrelerde görülür (2, 3). Sitotrofoblastik hücreler hCG ile zayıf boyanır veya hiç boyanmaz. Sinsisyotrofoblastik ve intermediyer trofoblastik hücrelerde HPL (Human plasental laktojen) ve gebelik spesifik β 1 glikoprotein pozitifliği görülebilirken sitotrofoblastlarda görülmez (2, 3, 5). İnhibin- α sinsisyotrofoblastik hücrelerde pozitifdir. EMA pozitifitesi genellikle sinsisyotrofoblastlarda olmak üzere koryokarsinomların yaklaşık yarısında görülür. Vakaların yaklaşık yarısında PLAP yamalı reaktivite gösterir ve vakaların yaklaşık %25'inde CEA hem sito- hem de sinsisyotrofoblastik hücrelerde pozitifdir. Bütün hücre tipleri sitokeratin eksprese eder (2, 3). Eğer gestasyonel örneklerden çok farklı değilse Mel-CAM ve HLA-G ile boyanma beklenir (3).

g. Ayırıcı tanı

Diğer GHT tipleri trofoblastik hücreler içerebilir fakat bunlar tek hücreler veya küçük yuvalar şeklinde bulunurlar ve koryokarsinomun bifazik paterni bulunmaz. Embriyonal karsinom koryokarsinoma benzeyen dejenere hücreler gösterebilir. Bu vakalarda hemoraji ve hCG reaktivitesinin olmaması ve OCT3/4 reaktivitesinin bulunması koryokarsinomdan ayırıcıdır. Koryokarsinomun monofazik varyantının ayırıcı tanısına seminom ve yolk sak tümörün solid varyantı girer. AFP ve OCT3/4 reaktivitesinin olmaması ve diffüz hCG reaktivitesinin bulunması koryokarsinom tanısında yardımcıdır. Plasental site trofoblastik tümör ise bifazik paternin olmaması ve HPL'in kuvvetli ve diffüz reaktivite göstermesi ile koryokarsinomdan ayrılabilir (2).

h. Prognoz ve tedavi

Hastaların çoğu ileri evrede saptanır. Sıklıkla tanıdan önce metastaz yapar. Testiküler GHT'lerin diğer çoğu formundan daha kötü prognozludur. Mikst GHT'de de koryokarsinom miktarı artıça prognoz kötüleşir. Yüksek serum hCG seviyesi büyük tümör yükünü yansıtır ve kötü prognozla koreledir (1, 2, 3). İster saf formda olsun ister MGHT'ün komponenti olsun kemoterapi ile tedavi edilir (1).

11. KORYOKARSİNOM DIŞI TROFOBLASTİK NEOPLAZMLAR

Testiste plasental site trofoblastik tümörlü seyrek vaka tanımlanmıştır. Bunlar aynı isimdeki uterin tümörlerle benzer olup intermediyer trofoblastlardan oluşur. Sito- veya

sinsisyotrofoblastlar eşlik etmez. Monofazik koryokarsinom ise baskın olarak mononükleer sitotrofoblastlardan oluşur. Seyrek sinsisyotrofoblastik hücre bulunabilir. Bu tümörler çok nadir görülür. Plasental site trofoblastik tümör HPL ile diffüz ve hCG ile fokal olarak immünreaktif eozinofilik mononükleer anjioinvaziv hücrelerden oluşur (1, 2, 3, 4, 103, 104).

Kemoterapi sonrası 8 hastada retroperitoneal metastazda gözlenen lezyon kistik trofoblastik tümör olarak tanımlanmıştır. Benzer görünümde küçük odaklar nadiren kemoterapi almamış testiküler GHT'de görülebilir. Lezyon baskın olarak geniş eozinofilik sitoplazmalı mononükleer trofoblastik hücrelerle dōşeli küçük kistlerden oluşur. Nükleuslar sıklıkla benekli kromatine sahiptir, mitoz nadirdir. hCG ile fokal reaktivite bulunur (1, 3).

12. TERATOM

a. Tanım

Farklı germinal tabakaları temsil eden çeşitli doku tiplerinden oluşur. Sadece iyi diferansiye matür dokulardan oluşabileceği gibi immatür fetal benzeri dokular da içerebilir (3).

b. Epidemiyoloji

Teratom iki farklı yaş grubunda görülür. Erişkinlerde, saf teratomun sıklığı %2.7-7 iken, testiküler MGCT'ün komponenti olarak sıklığı %47-50'dir. Çocuklarda ise insidansı %24-36 arasındadır. Çocuklarda ikinci en sık testiküler GHT'dür (1, 2, 3, 4).

c. Klinik özellikler

Çocuklardaki teratomlar ve dermoid kist benignidir. Çocuklarda teratomların %65'i yaşamın ilk veya ikinci yılında (ortalama 20 aylıkken) meydana gelir. Çocuklarda 4 yaş sonrası nadirdir. Postpubertal hastaların çoğu genç erişkinlerdir. Çocuklarda sıklıkla saf formda bulunurken erişkinlerde genellikle MGHT'ün komponenti olarak bulunur ve tüm MGHT'lerin yaklaşık yarısından fazlasına eşlik eder. Postpubertal hastalarda yolk sak tümör veya sinsisyotrofoblastik hücreler mevcut ise serum AFP ve hCG seviyeleri yüksek olabilir. Genellikle sert, düzensiz veya nodüler, transillüminasyon vermeyen kitle şeklindedir. Serum AFP düzeyi teratomun yolk sak tümörden ayrımında yardımcıdır (2, 3).

d. Makroskopik özellikler

Makroskopik olarak değişken görünümüne sahiptir. Matür teratom sıklıkla seröz veya mukoid sıvı içeren, çapları genelde 1 cm'den küçük çok sayıda kist içerir. Gri-beyaz kıkırdak nodülleri görülebilir. Kıkırdak ve kistik yapılar arasında fibromüsküler stroma bulunabilir. Kesit yüzeyi kistik ve solid alanlar ile heterojen görünümündedir (1, 2, 3, 4).

e. Tümör yayılımı

Prepubertal çocuklarda teratomların metastatik yayılımı bildirilmemiştir. Oysa postpubertal hastalarda saf matür teratomda dahi metastaz riski vardır (2, 3).

f. Mikroskopik özellikler

İyi diferansiye ve matür doku tipleri keratinize ve nonkeratinize skuamöz epitel, nöral ve glandüler dokuları içerir. Organoid yapılar nadir değildir. Özellikle çocuklarda deri, respiratuar, gastrointestinal ve genitoüriner trakt yapıları izlenir. Böbrek, karaciğer, pankreas, tiroid, meniksler, koroid pleksus veya prostat dokusu nadiren bulunur. Mezodermal komponentlerden en yaygını müsküler dokudur. Diğer herhangi bir doku tipi görülebilir. Fetal tip doku ektodermal, endodermal veya mezankimal dokulardan oluşabilir. Primitif renal veya pulmoner dokuya benzer organoid düzene sahip olabilirler. Fetal tip dokuları somatik tip maligniteli teratomdan ayırma zor olabilir. Bazıları boyutu ne olursa olsun malign olan primitif nöroektodermal tümörden ayırtedilemeyen odaklar olarak sınıflandırılır, oysa diğerleri primitif nöroektodermal tümör gibi bir mikroskopik alana eşit veya daha büyük nodül kabul edilir. Teratomlar sinsisyotrofoblastik dev hücreler içerebilir. Teratomda paratestiküler doku invazyonu ve intra ve ekstratestiküler vasküler invazyon görülebilir (1, 2, 3, 4, 105).

g. İmmünohistokimyasal özellikler

Teratom için spesifik belirleyici yoktur. AFP üretimi hepatoid doku, intestinal veya respiratuar tip glandlarda olmak üzere teratomların yaklaşık %19-36'sında görülür. Teratömatöz epitelde alfa-1 antitripsin, CEA ve ferritin üretimi olabilir. hCG sinsisyotrofoblastik hücrelerde görülebilir. Ayrıca PLAP glandüler yapılarda gösterilebilir (1, 2, 3).

h. Ayırıcı tanı

İmmatür teratom ile sekonder malign komponentin, teratom ile epidermoid ve dermoid kistin ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Epidermoid ve dermoid kist makroskopik olarak

kistiktir ve solid komponent içermez. Dermoid kiste mikroskopik olarak sadece deri ekleri içeren keratinize skuamöz epitel görülür. İntestinal mukoza, kıkırdak gibi diğer farklı doku tipleri görülmez. Epidermoid kiste ise deri ekleri de yoktur. Ayrıca dermoid ve epidermoid kiste immatür elemanlar yoktur ve İTGHNS eşlik etmez (1, 2, 4).

1. Prognoz ve tedavi

Teratomun davranışı iki farklı yaş grubunda farklıdır. Prepubertal hastalarda, teratom hemen her zaman orşiektomi ile tedavi edilir, kaynaklarda sadece 3 ay önce rezeksiyon yapılan intraabdominal testiste 11 cm çapında teratoma sahip 6 aylık bir infantta metastaz bildirilmiştir. Erişkinlerde ise seminom dışı GHT gibi tedavi edilir. Postpubertal testiste, teratom %22-37 vakada metastaz gösterir. Genellikle eş zamanlı metastaz gösterir, vakaların %13'ünde ise farklı zamanlardadır. Skar (burned out komponent) ile ilişkili olursa metastaz sıklığı %66'dır. Metastazların hücresel kompozisyonu primer tümörden farklı olabilir (2, 3).

13. DERMOİD KİST

a. Tanım

Keratinize skuamöz epitel ile döşeli bir veya daha fazla kistten oluşan deri eklerini içeren bir matür teratom formudur. Diğer teratömatöz elemanların küçük alanlarını içerebilir. Epidermoid kiste ise deri ekleri yoktur (2, 3).

b. Klinik özellikler

Testiküler dermoid kist, sık görülen overdeki analogu kistik teratomun özelleşmiş benign formudur. Nadir görülür. Bildirilen vaka sayısı 20'den azdır. Çoğu testiküler kitlesi olan genç erkeklerde görülür, nadiren çocuklarda olabilir (2, 3).

c. Makroskopik özellikler

Makroskopik incelemede genellikle tek kist görülür, saç ve peynirimsi keratinöz materyal içerebilir. Periferde solid odaklar görülebilir (2, 3).

d. Mikroskopik özellikler

Mikroskopik olarak da keratin dolu kist normalde deride görülen pilosebasöz unit ile ilişkili stratifiye skuamöz epitel ile döşelidir. Ayrıca çevreleyen fibröz duvar, ter bezlerini, silyaya sahip glandları veya goblet hücreleri içeren epitel, düz kas demetleri, kemik,

kıkırdak, tiroid, yağ, intestinal doku, gastrik epitel, tükrük bezi ve pankreatik doku içerebilir, hepsi sakin sitolojik özelliklere sahiptir. Seminifer tubullerde genellikle normal spermatogenez görülür ve İTGHN bulunmaz. Çoğunda kiste komşu parankimde belirgin lipomatöz reaksiyon görülür. Bu reaksiyon muhtemelen kist içeriğinin sızması nedeniyle (2, 3).

e. Prognoz

Testisin saf dermoid kistinin metastazı bildirilmemiştir (2, 3, 4).

14. MONODERMAL TERATOM

Üç germ yaprağının sadece birinden yani sadece endoderm, mezoderm veya ektodermden oluşur. Saf kartilaginöz teratom, struma testis, primer testiküler karsinoid gibi monodermal teratomlar tanımlanmıştır. PNET hem saf formda hem de mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak bildirilmiştir. Histopatolojik özellikler diğer bölgelerde görülene benzerdir. PNET metastazda olursa kötü prognoz ile ilişkilidir. Epidermoid kist tümör benzeri lezyon olarak kabul edilir (1, 2, 3). Monodermal teratomlardan primer karsinoid tümör ile sekonder karsinoid tümör ayrımı yapılmalıdır. Ayrıca Sertoli hücreli tümör ve metastatik prostatik adenokarsinom karsinoid tümörün ayırıcı tanısına girer. Sertoli hücreli tümörde inhibin pozitifdir. Kromogranin pozitivitesi hem Sertoli hücreli tümörde hem de karsinoid tümörde bildirilmiştir. Prostatik adenokarsinomda PSA pozitifliği görülür. PSAP pozitivitesi (Prostat spesifik asit fosfataz) hem karsinoid tümörde hem de prostatik adenokarsinomda görülür (1, 2, 4).

15. SOMATİK TİP MALİGNİTELER İLE TERATOM

a. Tanım

Tipik olarak diğer organ ve dokularda karşılaşılan malign tümör komponentleri içeren teratom tipidir. Örneğin: sarkomlar ve karsinomlar (2, 3).

b. Klinik özellikler

Germ hücreli dışı malign tümörler, primer veya metastatik germ hücreli tümörde gelişebilir ve en sık teratomlardan gelişirler. Metastatik GHT'lü hastaların %3-6'sında görülür (2, 3).

c. Mikroskopik özellikler

Germ hücreli dışı malign tümörler, çevrelerindeki GHT'ü saran yüksek derecede atipik somatik hücrelerin invazyonu veya solid proliferasyonu ile karakterizedir. Ayrıca sekonder malignite gelişimi ile, kemoterapi ile indüklenmiş atipinin karıştırılmaması konusunda dikkatli olmak gerekir. Testiküler GHT'lü hastalarda görülen somatik tip malignitenin en sık görüleni sarkomdur. Yaklaşık yarısı indifferansiye sarkomdur, geriye kalanların çoğu çizgili veya düz kas diferansiyasyonu gösterir. GHT'lerde kondrosarkom, osteosarkom, malign fibröz histiyositom ve malign sinir kılıfı tümörünü içeren herhangi bir tip sarkom gelişebilir. Primitif nöroektodermal tümörler (PNET) gittikçe artarak kabul görmüştür; nöroblastom, medulloepitelyom, periferik nöroepitelyom veya ependimoblastoma benzeyebilirler. Çoğu sitokeratin pozitifdir ve sinaptofizin ve LEU7 ile boyanır. 1/3'ü kromogranin pozitifdir. Ayrıca S100 protein, GFAP ve HBA.71 pozitif olabilirler. Testiste nefroblastom benzeri teratomlar nadir görülür fakat metastazlarda daha sıktır. Karsinomlar GHT'lerde daha az sıklıkta izlenir. Adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, nöroendokrin karsinom bildirilmiştir. Bu tümörler sitokeratin, EMA ve bazen CEA pozitifdir. PLAP, AFP ve hCG negatifdir (2, 3).

d. Ayırıcı tanı

Teratoma sekonder malign komponent ile metastatik karsinom veya sarkomun ayrımı yapılmalıdır (1).

e. Prognoz ve tedavi

Malign tümör testisle sınırlı ise prognoz etkilenmez. Metastik bölgelerde somatik tip maligniteler kötü prognoza sahiptir. GHT kemoterapisine cevap vermezler. Tedavi seçeneği cerrahi rezeksiyondur (1, 2, 3, 4).

16. POLİEMBRIYOMA

a. Tanım

Küçük embriyoid cisimler içeren farklı bir MGHT formudur (2, 3, 5).

b. Klinik özellikler

Saf formu çok nadirdir. Genellikle diğer germ hücreli tümörler ile ilişkilidir. Diğer MGHT ile aynı malign biyolojik potansiyele ve klinik gidişe sahiptir (5).

c. Makroskopik özellikler

Makroskopik olarak sıklıkla yumuşak, solid biraz ödematözdür . Hemoraji ve nekroz görülebilir (5).

d. Mikroskopik özellikler

Mikroskopik olarak embrioid cisimler görülür. Embrioid cisimler üç komponentten oluşur. Santralde embriyonal karsinom hücrelerine benzeyen hücrelerden oluşan embriyonik disk, çevresinde bir tarafta amniyotik kavite benzeri kavite ve diğer tarafta yolk sak yapısı bulunur. Embrioid cisimleri primitif ekstraembriyonik mezankim ve gevşek miksomatöz doku çevreler (2, 5).

e. İmmünohistokimyasal özellikler

AFP genellikle yolk sak yapısında pozitiftir. Sitokeratin tüm embrioid cisimde pozitiftir. Vimentin çevreleyen mezankim ve miksomatöz stromada pozitiftir. PLAP pozitif olabilir (5).

f. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda metastatik karsinom, embriyonal karsinom, yolk sak tümör, teratom ve diffüz embriyoma vardır (5).

g. Prognoz ve tedavi

Mikst germ hücreli tümör ile aynıdır (5).

17. MİKST GERM HÜCRELİ TÜMÖR

a. Tanım

İki veya daha fazla GHT komponenti içerir. Sinsisyotrofoblastik hücreli seminom bu kategoride kabul edilmez (1, 2, 3, 4, 5)

b. İnsidans

Tüm primer testiküler germ hücreli tümörlerin %32-54'ünü oluşturur (2, 3, 4, 5).

c. Klinik özellikler

Yaş aralığı seminom içerip içermediğine bağlıdır olup, ortalama 30 yaşdır. Seminom içeriyorsa yaş aralığı, seminom ile seminom dışı tümör arasında olup ortalama 33 yaşdır. Seminom içermiyor ise yaş aralığı ortalama 28 yaşdır. Prepubertal çocuklarda nadirdir.

Hastalarda ağrılı veya ağrısız testiküler şişlik mevcuttur. Abdominal ağrı, gastrointestinal sistem bozukluğu veya pulmoner rahatsızlık metastaz işaretleridir. Hastaların yaklaşık %55-60'ında serum AFP ve hCG seviyeleri yüksektir (1, 2, 3, 4).

d. Makroskopik özellikler

Büyümüş testis kistik ve solid alanlar, hemoraji ve nekroz ile heterojen kesit yüzeyi gösterir (1, 2, 3, 5).

e. Tümör yayılımı

Retroperitoneal lenf nodlarından visceral organlara doğru yayılır. Koryokarsinom odakları veya sinsisyotrofoblastik hücreler içerenler karaciğer ve/veya beyni tutma eğilimindedirler (3)

f. Mikroskopik özellikler

Herhangi bir kombinasyonda GHT'lerin çeşitli tiplerinden oluşur. Görünümleri saf formlar ile aynıdır (1, 2, 3, 4, 5). Tanı mevcut olan bütün komponentleri içermeli ve her birinin miktarı hesaplanmalıdır. Saf formlarda temel germ hücre tümör tipleri nadir iken, mikst tümörlerde çok sıktır. Embriyonal karsinom ve teratom vakaların %47'sinde, yolk sak tümör vakaların %41'inde mevcuttur. MGHT'lerin %40'ı sinsisyotrofoblastik hücre içerir. Bir seride en sık kombinasyon teratom ve embriyonal karsinom iken bir diğerinde embriyonal karsinom, yolk sak tümör, teratom ve sinsisyotrofoblastik hücreler bulunmuştur (3).

g. İmmünohistokimyasal özellikler

Çoğu tümörün yolk sak elemanları, teratomatöz glandları ve hepatoid hücreleri AFP ile immünreaktiftir. Yolk sak tümörün varlığı ile artmış serum AFP seviyesi arasında kuvvetli korelasyon vardır. Sinsisyotrofoblastik hücreler hCG ve diğer plasental glikoproteinler ile (PLAP, HPL, gebelik spesifik B1 glikoprotein) pozitifdir (3). İmmünohistokimyasal bulgular saf GHT'lerdeki gibidir (1).

h. Prognoz ve tedavi

Geniş seminom odakları içerenler, seminom içermeyen veya küçük bir odakta seminom içerenlere göre tedaviye daha iyi yanıt verirler. Primer tümörde lenfatik veya vasküler invazyon nodal metastaz ve nüks için belirleyicidir. Primer tümörde embriyonal

karsinomun varlığı ve yüzdesi evre II hastalık için belirleyicidir. Teratom ve yolk sak tümörün varlığı klinik evre I hastalıkta (orşiektomi ile) düşük metastaz insidansı ile ilişkilidir (2, 3). Seminom dışı GHT'ler gibi tedavi edilir ve tedavi tümör evresine, embriyonal karsinom yüzdesine ve anjiyolenfatik invazyon olup olmadığına bağlıdır (1, 2, 4).

B- ARAŞTIRMADA KULLANILAN BELİRLEYİCİLER İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

1. SALL4

SALL4, embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesi ve pluripotensini sürdürmesinde gerekli bir transkripsiyon faktörü, yeni bir kök hücre belirleyicisidir (13, 17, 18, 19, 106, 107, 108). Embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesinin ve pluripotensinin sürdürülmesi, yalnızca OCT3/4, NANOG ve SOX2'yi, değil ayrıca SALL4'ü de içeren bir grup gen tarafından düzenlenmektedir (6, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 106, 109). Bu ağ içinde SALL4, OCT3/4'ün transkripsiyonunu regüle eder. Bu da göstermektedir ki embriyonik kök hücrelerde SALL4, OCT3/4'ün sistem girişi (kaynağı) rolü yapar (6, 106). SALL4, Drosophila spalt (sal) geni ile homoloji gösteren bir zinc finger transkripsiyon faktörüdür (6, 19, 106, 107). Drosophila'da sal, embriyonik gelişim sırasında baş ve kuyruk spesifikasyonunda önemli bir rol ile, bir bölge spesifik homeotik gen olarak rol yapar (6, 19, 110). Farelerde, SALL4 erken embriyogenez için gereklidir ve homozigot mutant fareler erken embriyonik letalite gösterir (6, 19, 111, 112). İnsanlarda SALL4, kromozom 20q13.3-13.2'de lokalizedir (6, 19, 113). Diğer türlerde olduğu gibi, SALL4 insan gelişimi için de gereklidir ve SALL4 mutasyonları Akro-renal-oküler ve Okihiro sendromlarına neden olur (6, 19, 106, 111, 113).

Kaynaklarda, diğer tümör tiplerinden sadece prekürsör B hücreli lenfoblastik lenfoma ve akut myeloid lösemide SALL4 pozitifliği bildirilmiş, hemapoetik tümörlerin diğer tipleri SALL4 ile negatif bulunmuştur (6, 19, 106, 114). Ayrıca SALL4'ün akut lösemide olduğu gibi testiküler germ hücreli tümörlerde tümör büyümesini devam ettiren apoptozu önleyen apoptotik yol ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (6).

SALL4 özellikle primitif germ hücreli tümörlerde olmak üzere testis ve overin germ hücreli tümörleri için yeni bir tanısal belirleyicidir (106).

SALL4, TGHT'ler içinde özellikle İTGHN, klasik ve spermatositik seminom, embriyonal karsinom ve yolk sak tümör için oldukça yüksek spesifite ile birlikte yeni bir sensitif tanısal belirleyicidir (6, 108). Teratom ve koryokarsinomların boyanması değişkendir. Somatik metastatik karsinomlarda ise negatiftir veya vakaların düşük bir yüzdesi zayıf boyanmaya sahiptir (108). SALL4, yolk sak tümör için alfa-fetoprotein ve glypican3'ten daha sensitif bir belirleyicidir (6, 19, 115, 116, 117). Bir nükleer belirleyici olan SALL4, çoğu primer ve metastatik germ hücreli tümörde nükleer ekspresyon gösterir, fakat bazen diğer malignitelerde eksprese edilebilir ve testis dışı bölgelerde bu tümörlerin somatik karsinomlardan ayrımında yardımcı olabilir (108).

TGHT tanılı hastalar üzerinde daha önce yapılan bir çalışmada, Cao ve ark.'ları (6) SALL4 uygulanan kesitlerde non-neoplastik seminifer tubuller mevcut olan 50 vakada (9 pediyatrik testis ve 41 postpubertal testisi içeren), 50 testisin hepsinde spermatogonyumlarda SALL4'ün pozitif olduğunu saptamışlar. Spermatogonyumların çoğunda boyanma yoğunluğunu zayıf-orta bulmuşlar, fakat spermatogonyumlarda seyrek olarak orta-kuvvetli SALL4 boyanması gözlenmiştir. Ama bu boyanma neoplastik hücrelerden yine de daha zayıf olarak belirlenmiştir. Ayrıca, az sayıda (<%5) primer spermatosit zayıf benek tarzı SALL4 boyanması göstermiştir. Sekonder spermatosit, spermatid, spermatoza ve Sertoli hücrelerinde SALL4 negatif bulunmuştur. Leydig hücreleri, rete testis, epididim, spermatik kord, fibroblastlar, kan damarları ve hematopoietik hücreler SALL4 ile boyanmamıştır.

2. OCT3/4 (Organic cation transporter 3/4)

OCT3/4, embriyonik kök hücreleri ve germ hücrelerinde eksprese edilen bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (9, 119, 120, 121, 122) ve pluripotensin sürdürülmesi ve regülasyonu ile ilişkilidir (9, 25, 136,176).

OCT3/4, 1,5 kilobaz alternatif PDGF- α (platelet derived growth faktör α) reseptör ekspresyonunu regüle eder ve bu göstermektedir ki OCT3/4 embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesi ve erken fare gelişimi için gereklidir (118, 123, 124). OCT3/4 geninin hedeflenerek işleyişinin durdurulması erken fare embriyoları için öldürücüdür (118, 123). OCT3/4, özellikle testiküler seminom ve embriyonal karsinom olmak üzere pluripotent germ hücrelerinde saptanmıştır (118, 136).

OCT3/4 (ayrıca POU5F1, OCT3, veya OTF3 olarak bilinir), insan embriyonik kök ve germ hücrelerini içeren indiferansiye, pluripotent hücrelerden eksprese edilen, POU5F1

geni tarafından kodlanan bir POU-domain class-5, oktamer-bağlayıcı nükleer transkripsiyon faktörüdür (9, 118, 119, 120, 121, 122, 124, 125, 126, 128).

OCT3/4 geni, insan kromozomu 6p21.3'te lokalizedir (9, 118, 119, 120, 127, 128, 130) ve akış yönündeki hedef genlerinin regülasyonu yoluyla normal gelişim ile ilişkili bir proteini kodlar (9, 118, 131). Farede anormal OCT3/4 ekspresyonu, kritik gelişimsel genlerin anormal ekspresyonu ile ilişkili olabilir (9, 132). İnsan embriyolarında benzer bulgular, insanlarda da OCT3/4'ün hücrel diferansiyasyonun regülasyonu ile ilgili olduğu kanısını destekler (9, 122, 133, 134, 135). Malign transformasyon sürecinde OCT3/4 ekspresyon ve translasyonunun reaktivasyonu yaygın olay değilken (9, 136) bununla birlikte, protein normal olarak insan embriyonik germ hücrelerinde ve onlardan gelişen indifferansiye tümörlerde bulunur (9, 136, 137).

Erişkin testiküler germ hücreli tümörlerin birçok tipi vardır ve herbirinin diferansiyasyon aşaması farklıdır (4, 9, 138). Seminom ve embriyonal karsinomu içeren testiküler germ hücreli tümörlerin spesifik tiplerinin in vitro çalışmalarında OCT3/4'ün 1.5-kb alternatif PDGF- α reseptörünü düzenlediği gösterilmiştir (9, 137, 139). Seminomlar erken germ hücrelerinin fenotipini gösterir ve pluripotent potansiyele sahiptir. Ayrıca embriyonal karsinomlar aslında pluripotenttir. Bu nedenle, bu iki germ hücreli tümör komponentinin OCT3/4 eksprese etmesi beklenir (136, 139). Yolk sak tümör, matür teratom, immatür teratom ve koryokarsinomları içeren diğer germ hücreli tümör tipleri daha diferansiyedir ve bu nedenle bu transkripsiyon faktörünü eksprese etmeleri beklenmez (9, 129).

Yaklaşık 18 kd, Pit-Oct-Unc ailesi transkripsiyon faktörü OCT3/4 geninin, embriyonik kök hücrelerde ve tümör hücrelerinde (fakat diferansiye dokuların hücrelerinde değil) spesifik olarak eksprese olduğu gözlenmiştir (9, 130, 140).

OCT3/4 proteini, intratubuler germ hücreli neoplazi (25, 141, 142) seminom, embriyonal karsinom (9, 25, 118, 136) ve over disgerminomu için spesifik ve sensitif bir belirleyici kabul edilir. Bazı metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında ve genellikle germinom olarak adlandırılan santral sinir sistemi seminomlarında OCT3/4'ün yüksek derecede sensitif ve spesifik olduğu bulunmuştur (9, 25, 118, 130, 143, 144, 145, 146).

Fare modellerindeki çalışmalar daha diferansiye dokularda bu transkripsiyon faktörünün ekspresyonunun azaldığını göstermiştir. Bu nedenle OCT3/4'ün embriyonik kök ve germ hücrelerinde pluripotent potansiyeli sürdürmede fonksiyonu olduğu düşünülmüştür

ve embriyonik kök hücre formasyonu ve kendi kendini yenilemesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (9).

TGHT tanılı hastalar üzerinde daha önce yapılan bir çalışmada, Cao ve ark.'ları (6) OCT3/4 uygulanan kesitlerde non-neoplastik seminifer tubuller mevcut olan 50 vakada (9 pediyatrik testisi ve 41 postpubertal testisi içeren), 50 testisin hepsinde non-neoplastik testiküler dokunun bütün komponentlerinde OCT3/4 negatif bulunmuştur.

3. PLAP (Placental alkaline phosphatase)

Plasenta, immünolojik olarak ve ısı stabilitesi ve çeşitli nonkompetitif inhibitörlere duyarlılığı ile, intestinal ve karaciğer izoenzimlerinden ayrılabilen bir alkalın fosfataz formu üretir (154). PLAP, yaklaşık 67.000 dalton moleküler ağırlığında 2 subunitten oluşan bir hücre yüzey glikoproteinidir (147,148).

Plasental alkalın fosfatazın poliklonal antiserum kullanılarak testis, over, akciğer, mide ve pankreas içeren neoplazmların geniş bir aralığında ektopik olarak görüldüğü bildirilmiştir (147, 149, 150, 151). Bununla birlikte, PLAP'a karşı poliklonal antiserum, çeşitli formlar arasındaki ayrımı açıkça yapamaz ve özellikle intestinal form olmak üzere diğer alkalın fosfataz izoenzimleri ile çapraz reaksiyona girebilir. PLAP'a karşı monoklonal antikorların bulunması daha yüksek duyarlılık ile enzim dağılımını incelemeyi mümkün kılar (147).

PLAP, germ hücre diferansiyasyonu için yüksek derecede sensitif, fakat nonspesifik bir belirleyicidir (118). PLAP immünreaktivitesi germ hücreli dışı tümörlerde de gözlenmiştir (27, 28, 118, 147, 152, 153, 154, 155, 156, 157).

İTGHN ve seminom için kullanılan en yaygın belirleyici olan PLAP, biyolojik fonksiyonu bilinmeyen bir moleküldür (108, 158). PLAP, seminomların %98'inde, embriyonal karsinomların %97'sinde, yolk sak tümörlerin %85'inde ve İTGHNS vakalarının %98'ine varan kısmında pozitifdir (108, 159). Bununla birlikte bazı çalışmalarda sensitivite çok düşüktür (108, 160). Karakteristik olarak İTGHN ve seminomda sitoplazmik membran paterninde reaktivite gösterir, fakat diğer tümörlerde yüksek derecede sitoplazmik reaktivite gösterir. Ayrıca nadir vakalarda nonneoplastik spermatogenik hücreler, nadiren PLAP ile boyanabilir, bu yüzden PLAP İTGHN için tamamen spesifik değildir (108, 159).

V- GEREÇ VE YÖNTEM

A- Araştırma olgularının belirlenmesi ve hazırlanması

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda bilgisayar ortamındaki arşiv kayıtlarından 1995-2010 yılları arasında orşiektomi materyallerinde seminom, embriyonal karsinom, endodermal sinüs tümörü ve mikst germ hücreli tümör tanısı alan olguların kayıtlarına ulaşıldı. Kontrol grubu olarak gastrektomi ve kolektomi materyallerinde adenokarsinom, akciğer lobektomi ve larenjektomi materyallerinde skuamöz hücreli karsinom tanısı alan olguların kayıtlarına ulaşıldı.

Belirlenen olgulara ait arşiv materyalini oluşturan tüm Hematoksilen&Eozin boyalı preparatlar tekrar incelendi. Bu incelemeler sonucunda araştırmamızda yer alabilecek 40 saf seminom, 14 saf embriyonal karsinom, 11 saf endodermal sinüs tümörü, 73 mikst germ hücreli tümör, 10 mide adenokarsinomu, 10 kolon adenokarsinomu, 10 akciğer skuamöz hücreli karsinomu ve 10 larenks skuamöz hücreli karsinomu tanılı toplam 178 adet olgu belirlendi.

Hematoksilen&Eozin boyalı preparatlardan immünhistokimyasal inceleme için uygun dokular belirlenerek bu dokulara ait arşivde mevcut parafin bloklara ulaşıldı.

İmmünhistokimyasal değerlendirmenin sağlıklı yapılabilmesi için öncelikle kontrol blokları belirlendi. PLAP, SALL4 ve OCT3/4 için birimizde değerlendirilmiş seminom olgularına ait parafin bloklar kontrol bloğu olarak seçildi. Bu kontrol blokları kullanılarak antikorların çalışıp çalışmadığı, en iyi hangi dilüsyonda çalıştıkları saptandı.

Belirlenen parafin bloklardan birer adet Hematoksilen&Eozin için, üç adet immünhistokimyasal yöntem için toplam 4 adet lama 3 µm kalınlığında kesitler hazırlandı.

Kesitler immünhistokimyasal yöntemde kullanılacak olan hazır temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar 56 °C etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin yapışması sağlandı.

Preparatlar immünhistokimyasal yöntemin uygulanacağı güne kadar üstü kapalı olarak oda sıcaklığında bekletildi.

İmmünohistokimyasal yöntemle geçmeden önce lamalar 30 dakika ksilende bekletilerek deparafinizasyon işlemine başlandı. Sonra 15 dakika (3x5 dakika) %99,8'lik absöü alkolde bekletildi, ardından 15 dakika (3x5 dakika) %96'lık alkollerden geçirilerek distile suya kadar getirilen kesitler hidrate edildi.

Daha sonra immünohistokimyasal incelemede önemli problem olan antijen miktarının azlığı veya maskelenmesi sorununun giderilmesi amacıyla antijenleri açığa çıkarmak üzere antijen retrieval işlemine geçildi.

Antijen retrieval işlemi edilen daimin tetraasetik asit (EDTA) solüsyonu (EDTA – Saline Buffer 10x solution, Scy Tek Logan, UTAH, USA, Ref No: ETA 999, Lot no:18689) içinde mikrodalga fırında kaynatma yöntemi ile yapıldı.

10 ml EDTA solüsyonuna 90 ml distile su eklenerek EDTA çalışma solüsyonu elde edildi.

Lamlar bu solüsyonu içeren kaplara alındı ve mikrodalga fırında maksimum güçte 4 kez 5'er dakika olmak üzere ışınlandı.

Lamlar oda sıcaklığında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Daha sonra soğuyan lamlar distile suya alındı. Bu işlem ile antijenler açığa çıkarıldı.

Antijen retrieval işlemi sonrası distile suya alınan kesitlerin çevresi hidrofobik kalem ile doku sınırından çizildi ve bu lamlar PBS (fosfat tamponlu serum fizyolojik, pH:7,4) ile yıkandı.

Primer antikorlardan PLAP 1/40, SALL4 ve OCT3/4 1/100 oranında sulandırılarak kullanıma hazır hale getirildi. Araştırmamızda kullanılan primer antikorlar, sulandırma oranları ve inkübasyon süreleri Tablo-2'de gösterilmiştir.

Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitler üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı ve 20 dakika süre boyunca beklendi.

Hidrojen peroksit uygulamasını takiben kesitler PBS ile 5 dakika yıkandı.

Nonspesifik bağlanmaları önlemeye yönelik olarak 15 dakika protein blokaj (Scy Tek Super Blok Logan, UTAH USA Ref No: AAA 125, Lot no: 19273) uygulandı.

Lamlar yıkanmadan üzerindeki blokaj silkelendi.

Primer antikorlar PLAP, SALL4 ve OCT3/4 için 120 dakika inkübasyon yapıldı.

Lamlar PBS ile yıkandı ve PBS ile dolu şalede 5 dakika bekletildi.

Yıkanan kesitler üzerine antijen-antikor kompleksi işaretlemesi için 25 dakika Biotin ile işaretli sekonder link antikor solüsyonu (Scy Tek SensİTEK anti-Polyvalent, Biotinylated Antibody Logan, UTAH, USA, Ref No: ABF 125, Lot No:19476) uygulandı.

Lamlar PBS ile 5 dakika yıkandı.

Yıkanan kesitler üzerine antijen-antikor-link kompleksinin etiketlenme (label) işlemi için 25 dakika Horse radish peroxidase (HRP) ile işaretli streptavidin molekülü içeren enzim solüsyonu (Scy Tek SensİTEK HRP, Logan, UTAH, USA, Ref No: ABG 125, Lot No:19477) uygulandı.

Lamlar PBS ile 5 dakika yıkandı.

Aminoethyl carbazole (AEC) kromojen solüsyonu (Bulk Pack AEC kromojen/Substrat System, Scy Tek, , Logan, UTAH, USA, Ref No: AE 125, Lot No:19277) kullanılarak iki önceki basamakta işaretlenen komplekslerin renklendirme işlemi gerçekleştirildi.

20 mikrolitre AEC kromojen, 1 ml AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra kesitlere 15 dakika süre ile uygulandı.

Daha sonra kesitler distile su ile yıkanıp, distile su ile dolu şaleye alındı.Yıkanan kesitlere Mayer Hematoksilen ile 1 dakika zıt boyama uygulandı. Sonrasında suyla yıkandı ve amonyaklı suya birkaç kez daldırılıp çıkarıldı ve distile suya alındı.

Lamlar, su bazlı kapama maddesi (Aqueous-Mount, Scy Tek, Logan, UTAH, USA, Ref No: AML 030, Lot No: 18745) kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Antikor ve klon	Üretici	Sulandırma oranı	İnkübasyon süresi ve sıcaklığı
Monoklonal Mouse SALL4 Antibody Klon c-10	Biocare Medical, Concord, USA	1/100	120 dakika, oda sıcaklığı
Monoklonal Mouse OCT3/4 Antibody Klon 6E3	Santa Cruz Biotechnology, Inc.	1/100	120 dakika, oda sıcaklığı
Monoklonal Mouse PLAP Antibody Klon 8A9	Novocastra, Leica Biosystems Newcastle Ltd, United Kingdom	1/100	120 dakika, oda sıcaklığı

Tablo-2: Kullanılan antikorlara ait bilgiler

B- İMMÜNİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

1. SALL4

SALL4 için sadece nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma şiddetine göre zayıf, orta ve kuvvetli olarak skorlandı. SALL4 ile boyanan tümör hücreleri yüzdelere göre 0, 1+, 2+, 3+, 4+ olarak skorlandı. SALL4 ile hiçbir tümör hücresi boyanmamış ise 0, tümör hücrelerinin $\leq 30\%$ 'u boyanmış ise 1+, tümör hücrelerinin $31-60\%$ 'i boyanmış ise 2+, tümör hücrelerinin $61-90\%$ 'i boyanmış ise 3+ ve tümör hücrelerinin $>90\%$ 'i boyanmış ise 4+ kabul edildi.

2. OCT3/4

OCT3/4 için sadece nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma şiddetine göre zayıf, orta ve kuvvetli olarak skorlandı. OCT3/4 ile boyanan tümör hücrelerinin yüzdesine göre 0, 1+, 2+, 3+, 4+ olarak skorlandı. OCT3/4 ile hiçbir tümör hücresi boyanmamış ise 0, tümör hücrelerinin $\leq 30\%$ 'u boyanmış ise 1+, tümör hücrelerinin $31-61\%$ 'i boyanmış ise 2+, tümör hücrelerinin $61-90\%$ 'i boyanmış ise 3+ ve tümör hücrelerinin $>90\%$ 'i boyanmış ise 4+ kabul edildi.

3. PLAP

PLAP için sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma şiddetine göre zayıf, orta ve kuvvetli olarak skorlandı. PLAP ile boyanan tümör hücrelerinin yüzdesine göre 0, 1+, 2+, 3+, 4+ olarak skorlandı. PLAP ile hiçbir tümör hücresi boyanmamış ise 0, tümör hücrelerinin $\leq 30\%$ 'u boyanmış ise 1+, tümör hücrelerinin $31-61\%$ 'i boyanmış ise 2+, tümör hücrelerinin $61-90\%$ 'i boyanmış ise 3+ ve tümör hücrelerinin $>90\%$ 'i boyanmış ise 4+ kabul edildi.

D- Biyoistatiksel analiz

Çalışmamızda Kruskal-Wallis testi ile tümör gruplarında PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdeleri arasında anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi kullanılarak ($0.05:15=0.003$) anlamlılık sınırı $p=0.003$ alınarak Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Kruskal-Wallis testi ile ayrıca seminom, embriyonal karsinom, yolk sak tümör ve teratom gruplarında boyanan tümör hücrelerinin PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanma şiddetleri arasında anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı. Kruskal-Wallis testinde anlamlılık sınırı $p=0.05$ alındı. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi kullanılarak ($0.05:6=0.0083$) anlamlılık sınırı $p=0.0083$ alınarak Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Friedman varyans analizi ile herbir tümör grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan tümör hücre yüzdesi arasında anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı. Friedman testinde anlamlılık sınırı $p=0.05$ alınmıştır. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi kullanılarak ($0.05:3=0.0166$) anlamlılık sınırı $p=0.0166$ alınarak Wilcoxon testi kullanılmıştır.

Biyoistatiksel çözümlenmelerde SPSS (Sürüm: 17.0) paket programı kullanılmıştır.

VI- BULGULAR

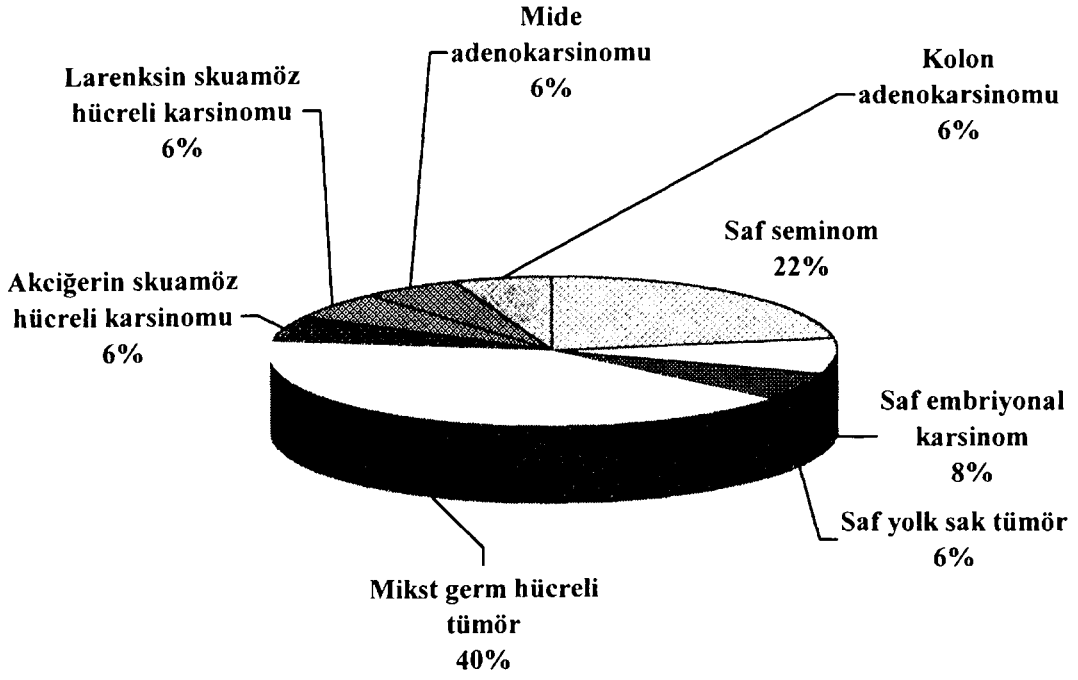
Çalışmamız toplam 178 vaka üzerinde yapılmıştır. Bu vakaların 138'i orşiektomi materyalinde germ hücreli testis tümörü bulunan vakalardır. Olguların 40'ı saf seminom, 14'ü saf embriyonal karsinom, 11'i saf yolk sak tümör, 73'ü mikst germ hücreli tümördür. Kontrol grubu olarak ise diğer organlarda epitelyal tümörü bulunan 40 vaka çalışma kapsamına alınmıştır (Grafik-1). Bunların 10'u akciğer lobektomi materyalinde skuamöz

hücreli karsinom, 10'u larenjektomi materyalinde skuamöz hücreli karsinom, 10'u gastrektomi materyalinde adenokarsinom ve 10'u kolektomi materyalinde adenokarsinom tanısı almıştır.

73 mikst germ hücreli tümörün 57'si embriyonal karsinom komponenti, 43'ü yolk sak tümör komponenti, 37'si teratom komponenti, 11'i seminom komponenti, 6'sı koryokarsinom komponenti içermektedir. Saf form ve mikst germ hücreli tümör komponenti olarak değerlendirilen toplam seminom sayısı 51, toplam embriyonal karsinom sayısı 71, toplam yolk sak tümör sayısı 54'tür. Teratom ve koryokarsinom sadece mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak çalışmamızda yer almakta olup, toplam teratom sayısı 37 ve toplam koryokarsinom sayısı 6'dır (Grafik-2). Sonuç olarak incelenen toplam germ hücreli tümör sayısı (saf ve komponent) 219'dur ve 40 kontrol grubu tümörünü de eklediğimizde incelenen toplam tümör sayısı 259'dur.

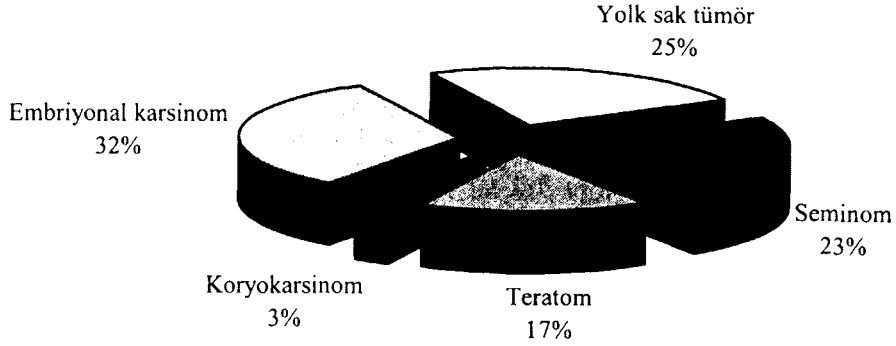
Ayrıca 138 GHT'ün 76'sında İTGHNS saptandı. Ek olarak vakalardan 2'sinde intratubuler seminom ve 2'sinde intratubuler embriyonal karsinom görüldü.

Çalışmamızda vakalar immünohistokimyasal olarak PLAP, SALL4 ve OCT3/4 antikorları ile incelendi. Her tümör tipinde PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ve boyanan hücrelerde boyanmanın şiddeti araştırıldı.



□ Saf seminom	□ Saf embriyonal karsinom
■ Saf yolk sak tümör	■ Mikst germ hücreli tümör
■ Akciğerin skuamöz hücreli karsinomu	■ Larenksin skuamöz hücreli karsinomu
■ Mide adenokarsinomu	■ Kolon adenokarsinomu

Grafik-1: Vakaların tümör tipine göre dağılımları



Grafik-2: Germ hücreli tümör tiplerinin (Saf form ve MGHT komponenti) dağılımları

A- İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA SONUÇLARI

1. PLAP

51 seminomun (saf ve komponent) tümünde PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile seminomların 34'ünde (%66,7) 4+, 14'ünde (%27,5) 3+, 2'sinde (%3,9) 2+, 1'inde (%2) 1+ boyanma izlendi (Tablo-3, Grafik-3). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 51 seminomun 33'ünde (%64,7) kuvvetli, 13'ünde (%25,5) orta şiddette, 5'inde (%9,8) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile seminomların 26'sında 4+ kuvvetli, 5'inde 4+ orta şiddette, 2'sinde 4+ zayıf, 6'sında 3+ kuvvetli, 8'inde 3+ orta şiddette, 1'inde 3+ zayıf, 1'inde 2+ kuvvetli, 1'inde 2+ zayıf, 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı (Tablo-10, Tablo-13).

71 embriyonel karsinomun (saf ve komponent), 70'inde PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile embriyonel karsinomların 16'sında (%22,5) 4+, 18'inde (%25,4) 3+, 31'inde (%43,7) 2+, 5'inde (%7) 1+ boyanma izlendi. 1'inde ise (%1,4) PLAP ile boyanma izlenmedi (Tablo-3, Grafik-4). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 71 embriyonel karsinomun 39'unda (%54,9) kuvvetli, 26'sında (%36,6) orta şiddette, 5'inde (%7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile embriyonel karsinomların 15'inde 4+

kuvvetli, 1'inde 4+ orta şiddette, 14'ünde 3+ kuvvetli, 5'inde 3+ orta şiddette, 10'unda 2+ kuvvetli, 18'inde 2+ orta şiddette, 2'sinde 2+ zayıf, 3'ünde 1+ orta şiddette, 2'sinde 1+ zayıf boyanma saptandı. 1'inde ise PLAP ile boyanma görülmedi (Tablo-11, Tablo-13).

54 yolk sak tümörün (saf ve komponent), 34'ünde PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile yolk sak tümörlerin 3'ünde (%5,6) 3+, 5'inde (%9,3) 2+, 26'sında (%48,1) 1+ boyanma izlendi. 20'sinde (%37) ise PLAP ile boyanma izlenmedi (Tablo-3, Grafik-5). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 54 yolk sak tümörün 3'ünde (%5,6) kuvvetli, 11'inde (%20,4) orta şiddette, 20'sinde (%37) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile yolk sak tümörlerin 1'inde 3+ kuvvetli, 2'sinde 3+ orta, 2'sinde 2+ kuvvetli, 4'ünde 2+ orta şiddette, 2'sinde 1+ kuvvetli, 8'inde 1+ orta, 15'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 20'sinde ise PLAP ile boyanma görülmedi (Tablo-12, Tablo-13).

37 teratomun (sadece MGHT komponenti), 10'unda PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile teratomların 1'inde (%2,7) 2+, 9'unda (%24,3) 1+ boyanma izlendi. 27'sinde (%73) ise PLAP ile boyanma izlenmedi (Tablo-3, Grafik-6). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 37 teratomun 2'sinde (%5,4) kuvvetli, 2'sinde (%5,4) orta şiddette, 6'sında (%16,2) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile teratomların 1'inde 2+ kuvvetli, 1'inde 1+ kuvvetli, 4'ünde 1+ orta şiddette, 4'ünde 1+ zayıf boyanma saptandı. 27'sinde ise PLAP ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti), 4'ünde PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile koryokarsinomların 2'sinde (%33,3) 2+, 2'sinde (%33,3) 1+ boyanma izlendi. 2'sinde (%33,3) ise PLAP ile boyanma izlenmedi (Tablo-3, Grafik-7). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 6 koryokarsinomun 2'sinde (%33,3) orta şiddette, 2'sinde (%33,3) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile koryokarsinomların 1'inde 2+ orta şiddette, 1'inde 1+ orta şiddette, 1'inde 2+ zayıf, 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 2'sinde ise PLAP ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

Kontrol grubunda ise 40 vakanın 4'ünde (%10) PLAP ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede PLAP ile 1'inde (%2,5) 3+, 3'ünde (%7,5) 1+ boyanma izlendi. 36'sında (%90) ise PLAP ile boyanma izlenmedi (Grafik-8). PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 40

PLAP BOYANMASI

Tümör Tipi (Saf ve komponent)	0	1+	2+	3+	4+
Seminom (Klasik) (n=51)	0	1 (%2)	2 (%3.9)	14 (%27.5)	34 (%66.7)
Embriyonal karsinom (n=71)	1 (%1.4)	5 (%7)	31 (%43.7)	18 (%25.4)	16 (%22.5)
Yolk sak tümör (n=54)	20 (%37)	26 (%48.1)	5 (%9.3)	3 (%5.6)	0
Teratom (n=37)	27 (%73)	9 (%24.3)	1 (%2.7)	0	0
Koryokarsinom (n=6)	2 (%33.3)	2 (%33.3)	2 (%33.3)	0	0

Tablo 3: Testiküler germ hücreli tümörlerde PLAP immünohistokimyasal boyanması

vakanın 2'sinde (%5) orta şiddette, 2'sinde (%5) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak PLAP ile kontrol grubundaki vakaların 1'inde 3+ orta, 1'inde 1+ orta şiddette, 2'sinde 1+ zayıf boyanma saptandı. 36 vakada ise PLAP ile boyanma görülmedi. Kontrol grubundaki tümörlerde 10 akciğer skuamöz hücreli karsinomunun 1'inde 1+ orta şiddette, 10 mide adenokarsinomunun 1'inde 1+ zayıf, 10 kolon adenokarsinomunun 1'inde 3+ orta şiddette, 1'inde 1+ zayıf boyanma izlendi. 10 larenks skuamöz hücreli karsinomunun ise hiçbirinde boyanma görülmedi.

Toplam 138 GHT'ün 76'sında İTGHNS saptanmış olup PLAP ile tümünde boyanma görüldü. Bir vakada ek olarak intratubuler embriyonal karsinom mevcut olup PLAP ile boyanma görüldü (Tablo-10-Tablo-13).

2. SALL4

51 seminomun (saf ve komponent) tümünde SALL4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile seminomların 39'unda (%76,5) 4+, 11'inde (%21,6) 3+, 1'inde (%2) 2+ boyanma izlendi (Tablo-4, Grafik-3). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 51 seminomun 30'unda (%58,8) kuvvetli, 14'ünde (%27,5) orta şiddette, 7'sinde (%13,7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile seminomların 29'unda 4+ kuvvetli, 9'unda 4+ orta şiddette, 1'inde 4+ zayıf, 1'inde 3+ kuvvetli, 4'ünde 3+ orta şiddette, 6'sında 3+ zayıf, 1'inde 2+ orta şiddette boyanma saptandı (Tablo-10, Tablo-13).

71 embriyonal karsinomun (saf ve komponent), tümünde SALL4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile embriyonal karsinomların 57'sinde (%80,3) 4+, 11'inde (%15,5) 3+, 2'sinde (%2,8) 2+, 1'inde (%1,4) 1+ boyanma izlendi (Tablo-4, Grafik-4). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 71 embriyonal karsinomun 56'sında (%78,9) kuvvetli, 10'unda (%14,1) orta şiddette, 5'inde (%7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile embriyonal karsinomların 52'sinde 4+ kuvvetli, 4'ünde 4+ orta şiddette, 3'ünde 3+ kuvvetli, 5'inde 3+ orta şiddette, 4'ünde 3+ zayıf, 2'sinde 2+ orta, 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı (Tablo-11, Tablo-13).

54 yolk sak tümörün (saf ve komponent), 52'sinde SALL4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile yolk sak tümörlerin 12'sinde (%22,2) 4+, 18'inde (%33,3) 3+, 12'sinde (%22,2) 2+, 10'unda (%18,5) 1+ boyanma izlendi. 2'sinde (%3,7) SALL4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-4, Grafik-5). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 54 yolk sak tümörün 22'sinde (%40,7) kuvvetli, 18'inde (%33,3) orta şiddette, 12'sinde (%22,2) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile yolk sak tümörlerin 10'unda 4+ kuvvetli, 11'inde 3+ kuvvetli, 8'inde 3+ orta şiddette, 8'inde 2+ orta şiddette, 2'sinde 1+ orta şiddette, 4'ünde 2+ zayıf, 8'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 3'ünde ise SALL4 ile boyanma görülmedi (Tablo-12, Tablo-13).

37 teratomun (saf ve komponent), 10'unda SALL4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile teratomların 1'inde (%2,7) 2+, 9'unda (%24,3) 1+ boyanma izlendi. 27'sinde (%73) SALL4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-4, Grafik-6). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 37 teratomun 2'sinde (%5,4) kuvvetli, 2'sinde (%5,4) orta şiddette, 6'sında (%16,2) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile teratomların 1'inde 2+ kuvvetli, 2'sinde 1+ kuvvetli, 2'sinde 1+ orta şiddette, 1'inde 2+ zayıf, 4'ünde 1+ zayıf boyanma saptandı. 27'sinde ise SALL4 ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti), 3'ünde SALL4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile koryokarsinomların 1'inde (%16,7) 4+, 1'inde (%16,7) 2+, 1'inde (%16,7) 1+ boyanma izlendi. 3'ünde (%50) SALL4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-4, Grafik-7). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 6 koryokarsinomun 2'sinde (%33,3) kuvvetli, 1'inde (%16,7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile koryokarsinomların 1'inde 4+ kuvvetli, 1'inde 1+ kuvvetli, 1'inde 2+ zayıf boyanma saptandı. 3'ünde ise SALL4 ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

SALL4 BOYANMASI

Tümör Tipi (Saf ve komponent)	0	1+	2+	3+	4+
Seminom (Klasik) (n=51)	0	0	1 (%2)	11 (%21.6)	39 (%76.5)
Embriyonal karsinom (n=71)	0	1 (%1.4)	2 (%2.8)	11 (%15.5)	57 (%80.3)
Yolk sak tümör (n=54)	2 (%3.7)	10 (%18.5)	12 (%22.2)	18 (%33.3)	12 (%22.2)
Teratom (n=37)	27 (%73)	7 (%18.9)	3 (%8.1)	0	0
Koryokarsinom (n=6)	3 (%50)	1 (%16.7)	1 (%16.7)	0	1 (%16.7)

Tablo-4: Testiküler germ hücreli tümörlerde SALL4 immünohistokimyasal boyanması

Kontrol grubunda ise 40 vakanın 1'inde (%2,5) SALL4 ile sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede SALL4 ile 1'inde (%2,5) 3+ boyanma izlendi. 39'unda (%97,5) ise SALL4 ile boyanma izlenmedi (Grafik-8). SALL4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 40 vakanın 1'inde (%2,5) orta şiddette boyanma görüldü. Sonuç olarak SALL4 ile kontrol grubundaki vakaların 1'inde 3+ orta şiddette sitoplazmik boyanma saptandı. 39 vakada ise SALL4 ile boyanma görülmedi. Kontrol grubundaki tümör tiplerine göre dağılım ise şöyleydi: 10 kolon adenokarsinomunun 1'inde 3+ orta şiddette sitoplazmik boyanma izlendi. 10 akciğer skuamöz hücreli karsinomunun, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomunun ve 10 mide adenokarsinomunun ise hiçbirinde boyanma görülmedi.

Toplam 138 GHT'ün 75'inde İTGHNS saptanmış olup SALL4 ile tümünde boyanma görüldü. 1 vakada ek olarak intratubuler seminom ve 2 vakada ek olarak intratubuler embriyonal karsinom mevcut olup SALL4 ile boyanma görüldü (Tablo-10-Tablo-13).

3. OCT3/4

51 seminomun (saf ve komponent) tümünde OCT3/4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede OCT3/4 ile seminomların 39'unda (%76,5) 4+, 9'unda (%17,6) 3+, 3'ünde (%5,9) 2+ boyanma izlendi (Tablo-5, Grafik-3). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 51 seminomun 30'unda (%58,8) kuvvetli, 14'ünde (%27,5) orta şiddette, 7'sinde (%13,7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile seminomların 30'unda 4+ kuvvetli, 9'unda 4+ orta şiddette, 1'inde 4+ zayıf, 3'ünde 3+ orta şiddette, 5'inde 3+ zayıf, 1'inde 2+ kuvvetli, 1'inde 2+ orta şiddette, 1'inde 2+ zayıf boyanma saptandı (Tablo-10, Tablo-13).

71 embriyonal karsinomun (saf ve komponent), 70'inde OCT3/4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede OCT3/4 ile embriyonal karsinomların 43'ünde (%60,6) 4+, 21'inde (%29,6) 3+, 5'inde (%7) 2+, 1'inde (%1,4) 1+ boyanma izlendi (Tablo-5, Grafik-4). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 71 embriyonal karsinomun 32'sinde (%45,1) kuvvetli, 31'inde (%43,7) orta şiddette, 7'sinde (%13,7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile embriyonal karsinomların 28'inde 4+ kuvvetli, 13'ünde 4+ orta şiddette, 1'inde 4+ zayıf, 5'inde 3+ kuvvetli, 14'ünde 3+ orta şiddette, 2'sinde 3+ zayıf, 3'ünde 2+ orta, 3'ünde 2+ zayıf, 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 1'inde ise OCT3/4 ile boyanma görülmedi (Tablo-11, Tablo-13).

54 yolk sak tümörün (saf ve komponent), 7'sinde OCT3/4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede OCT3/4 ile yolk sak tümörlerin 2'sinde (%3,7) 4+, 2'sinde (%3,7) 3+, 2'sinde (%3,7) 2+, 1'inde (%1,9) 1+ boyanma izlendi. 47'sinde (%87) OCT3/4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-5, Grafik-5). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 54 yolk sak tümörün 3'ünde (%5,6) kuvvetli, 1'inde (%1,9) orta şiddette, 3'ünde (%5,6) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile yolk sak tümörlerin 1'inde 4+ kuvvetli, 2'sinde 3+ kuvvetli, 3'ünde 2+ zayıf, 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 47'sinde ise OCT3/4 ile boyanma görülmedi (Tablo-12, Tablo-13).

37 teratomun (saf ve komponent), 7'sinde OCT3/4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede OCT3/4 ile teratomların 7'sinde (%18,9) 1+ boyanma izlendi. 30'unda (%81,1) OCT3/4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-5, Grafik-6). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 37 teratomun 3'ünde (%8,1) orta şiddette, 4'ünde (%10,8) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile teratomların 3'ünde 1+ orta şiddette, 4'ünde 1+ zayıf boyanma saptandı. 30'unda ise OCT3/4 ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

6 koryokarsinomun (sadece MGHT komponenti), 1'inde (%16,7) OCT3/4 ile nükleer boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirmede OCT3/4 ile koryokarsinomların 1'inde (%16,7) 1+ boyanma izlendi. 5'inde (%83,3) OCT3/4 ile boyanma saptanmadı (Tablo-5, Grafik-7). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 6 koryokarsinomun 1'inde (%16,7) zayıf boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile koryokarsinomların 1'inde 1+ zayıf boyanma saptandı. 5'inde ise OCT3/4 ile boyanma görülmedi (Tablo-13).

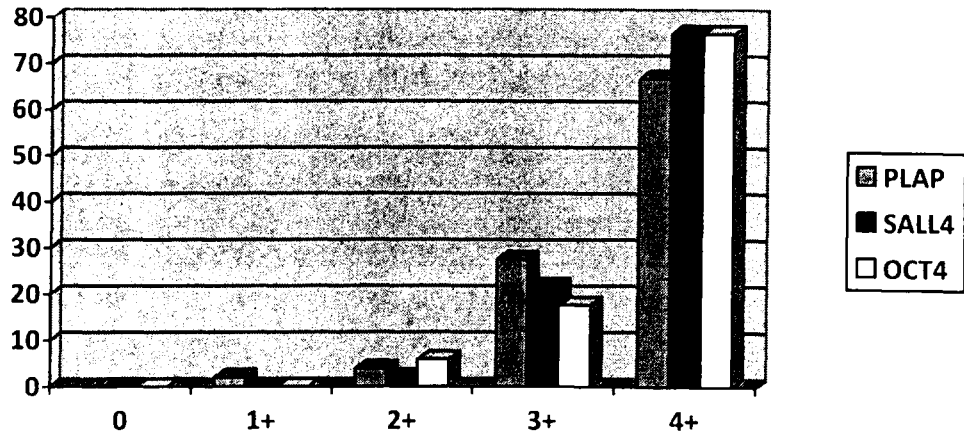
OCT3/4 BOYANMASI

Tümör Tipi (Saf ve komponent)	0	1+	2+	3+	4+
Seminom (Klasik) (n=51)	0	0	3 (%5.9)	9 (%17.6)	39 (%76.5)
Embriyonal karsinom (n=71)	1 (%1.4)	1 (%1.4)	5 (%7)	21 (%29.6)	43 (%60.6)
Yolk sak tümör (n=54)	47 (%87)	1 (%1.9)	2 (%3.7)	2 (%3.7)	2 (%3.7)
Teratom (n=37)	30 (%81.1)	7 (%18.9)	0	0	0
Koryokarsinom (n=6)	5 (%83.3)	1 (%16.7)	0	0	0

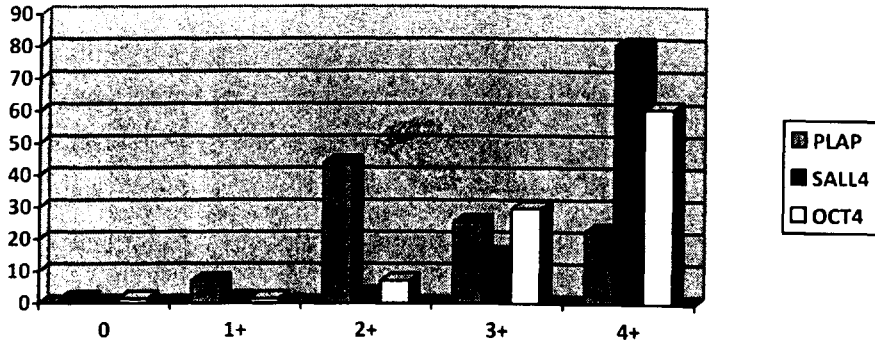
Tablo-5 : Testiküler germ hücreli tümörlerde OCT3/4 immünohistokimyasal boyanması

Kontrol grubunda ise 40 vakanın 1'inde (%2,5) OCT3/4 ile sitoplazmik boyanma saptandı. Boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirilmede OCT3/4 ile 1'inde (%2,5) 3+ boyanma izlendi. 39'unda (%97,5) ise OCT3/4 ile boyanma izlenmedi (Grafik-8). OCT3/4 ile boyanma şiddetine göre değerlendirilmede 40 vakanın 1'inde (%2,5) orta şiddette boyanma görüldü. Sonuç olarak OCT3/4 ile kontrol grubundaki vakaların 1'inde 3+ orta şiddette sitoplazmik boyanma saptandı. 39 vakada ise OCT3/4 ile boyanma görülmedi. Kontrol grubundaki tümör tiplerine göre dağılım ise şöyleydi: 10 kolon adenokarsinomunun 1'inde 3+ orta şiddette sitoplazmik boyanma izlendi. 10 akciğer skuamöz hücreli karsinomunun, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomunun ve 10 mide adenokarsinomunun ise hiçbirinde boyanma görülmedi.

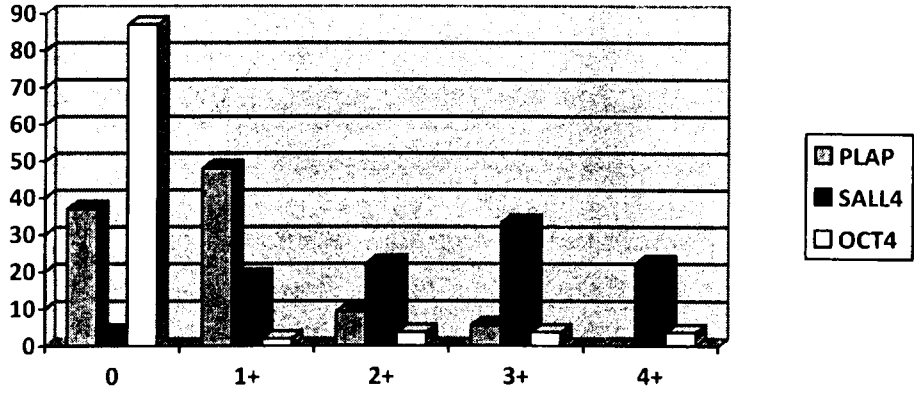
Toplam 138 GHT'ün 75'inde İTGHNS saptanmış olup OCT3/4 ile tümünde boyanma görüldü. 2 vakada ek olarak intratubuler seminom ve 2 vakada ek olarak intratubuler embriyonal karsinom mevcut olup OCT3/4 ile boyanma görüldü (Tablo-10-Tablo-13).



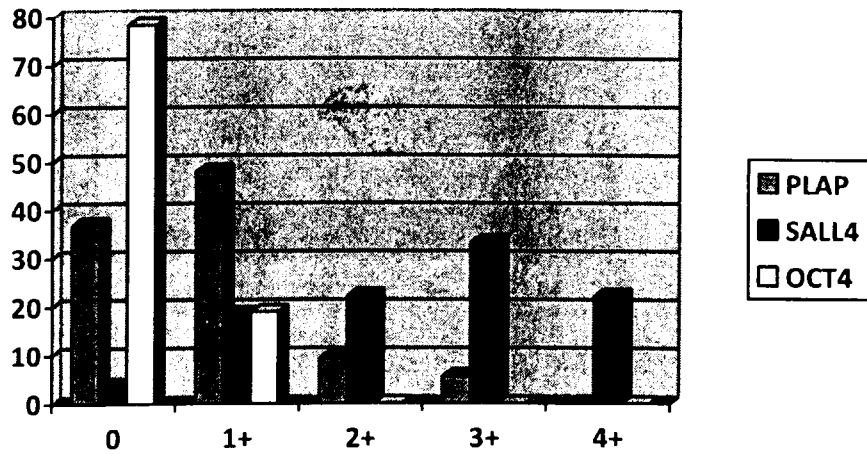
Grafik-3: Seminom grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları



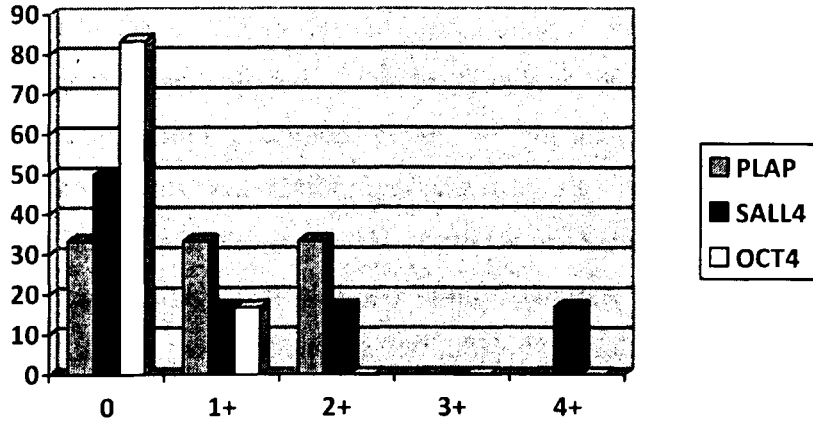
Grafik-4: Embriyonel karsinom grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları



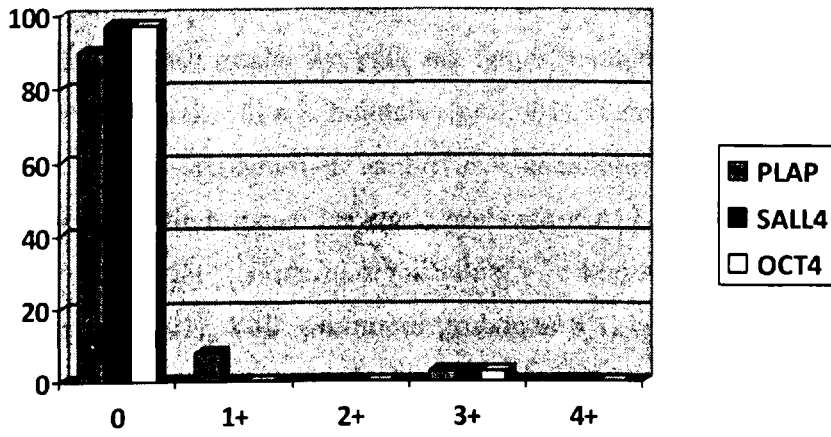
Grafik-5: Yolc sak tümör grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları



Grafik-6: Teratom grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları



Grafik-7: Koryokarsinom grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları



Grafik-8: Kontrol grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 dağılımları

4. PLAP, SALL4 VE OCT3/4'ÜN KARŞILAŞTIRILMASI

Kruskal-Wallis testi ile histolojik tiplerdeki PLAP ($\chi^2=193.906$, $p<0.001$), SALL4 ($\chi^2=197.943$, $p<0.001$) ve OCT3/4 ($\chi^2=207.866$, $p<0.001$) ile boyanan hücre yüzdeleri arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu. Grupların ikili kıyaslamalarında (Mann-Whitney U testi), seminom grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması embriyonal karsinom, yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Embriyonal karsinom grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Yolk sak tümör grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması teratom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.001$ ve $p<0.001$). Koryokarsinom grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.001$). Yolk sak tümör grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile koryokarsinom grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.574$). Teratom grubunun PLAP ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile koryokarsinom ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.027$ ve $p=0.062$) (Tablo-7).

Grupların ikili kıyaslamalarında (Mann-Whitney U testi), seminom grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Seminom grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile embriyonal karsinom grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.675$). Embriyonal karsinom grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Yolk sak tümör grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması teratom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Yolk sak tümör grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile koryokarsinom grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.029$). Teratom grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile koryokarsinom ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.159$ ve $p=0.0031$). Koryokarsinom grubunun SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo-8).

Grupların ikili kıyaslamalarında (Mann-Whitney U testi), seminom grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile embriyonal karsinom grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.067$). Seminom grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak

yüksek bulundu ($p<0.001$). Embriyonal karsinom grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması yolk sak tümör, teratom, koryokarsinom ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Yolk sak tümör grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile teratom, koryokarsinom ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.583$, $p=0.900$ ve $p=0.075$). Teratom grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile koryokarsinom ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.874$ ve $p=0.020$). Koryokarsinom grubunun OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.014$) (Tablo-9).

Kruskal-Wallis testi ile seminom, embriyonal karsinom, yolk sak tümör ve teratom gruplarında PLAP ($\chi^2=47.579$, $p<0.001$), SALL4 ($\chi^2=22.754$, $p<0.001$) ve OCT3/4 ($\chi^2=12.327$, $p=0.006$) ile boyanan tümör hücrelerinin boyanma şiddetleri arasında anlamlı fark saptandı. Grupların ikili kıyaslamalarında (Mann-Whitney U testi) seminomun PLAP ile boyanma şiddeti ortalaması yolk sak tümörden yüksek bulundu ($p<0.001$). Seminomun PLAP ve OCT3/4 ile boyanma şiddeti ortalaması teratomdan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.001$). Embriyonal karsinomun PLAP ($p<0.001$) ve SALL4 ($p<0.001$) ile boyanma şiddeti ortalaması yolk sak tümörden anlamlı olarak yüksek bulundu. Embriyonal karsinomun PLAP ($p=0.001$), SALL4 ($p<0.001$) ve OCT3/4 ($p=0.002$) ile boyanma şiddeti ortalaması teratomdan anlamlı olarak yüksek bulundu.

Friedman varyans analizi ile embriyonal karsinom ve yolk sak tümör grubunda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan tümör hücresi yüzdeleri arasında anlamlı fark saptandı ($p=0.001$). Antikorların ikili kıyaslamalarında (Wilcoxon testi) embriyonal karsinom grubunda SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması PLAP'tan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$), OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ise PLAP ($p<0.001$) ve SALL4'ten ($p=0.009$) anlamlı olarak yüksek bulundu. Yolk sak tümör grubunda SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması PLAP'tan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$ ve $p=0.001$), SALL4 ile boyanan hücre yüzdesi ortalaması ise OCT3/4'den anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo-6).

		Seminom	Embriyonal karsinom	Yolk sak tümör	Teratom	Koryokarsinom	Kontrol grubu
PLAP	Ortalama	3.59	2.61	0.83	0.30	1.00	0.15
	Medyan	4.00	2.00	1.00	0.00	1.00	0.00
	Minimum	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Maksimum	4.00	4.00	3.00	2.00	2.00	3.00
	Standart sapma	+/- 0.67	+/- 0.96	+/- 0.82	+/- 0.52	+/- 0.89	+/- 0.53
	N	51	71	54	37	6	40
SALL4	Ortalama	3.75	3.75	2.52	0.35	1.17	0.08
	Medyan	4.00	4.00	3.00	0.00	0.50	0.00
	Minimum	2.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Maksimum	4.00	4.00	4.00	2.00	4.00	3.00
	Standart sapma	+/- 0.48	+/- 0.58	+/- 1.14	+/- 0.63	+/- 1.60	+/- 0.47
	N	51	71	54	37	6	40
OCT3/4	Ortalama	3.71	3.46	0.35	0.19	0.17	0.08
	Medyan	4.00	4.00	4.00	1.00	1.00	3.00
	Minimum	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Maksimum	4.00	4.00	4.00	1.00	1.00	3.00
	Standart sapma	+/- 0.58	+/- 0.81	+/- 0.99	+/- 0.40	+/- 0.41	+/- 0.47
	N	71	51	54	37	6	40

Tablo-6: Tümör gruplarının PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdelere göre özellikleri

GHT GRUPLARININ İKİLİ KIYASLAMALARINDA PLAP İÇİN p DEĞERLERİ					
	Seminom	Embriyonal karsinom	Yolk sak tümör	Teratom	Koryokarsinom
Seminom	-----	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Embriyonal karsinom	p<0.001	-----	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Yolk sak tümör	p<0.001	p<0.001	-----	p=0.001	p=0.574
Teratom	p<0.001	p<0.001	p=0.001	-----	p=0.027
Koryokarsinom	p<0.001	p<0.001	p=0.574	p=0.027	-----

Tablo-7: GHT'lerin PLAP ile boyanan hücre yüzdelerinin karşılaştırılmasında p değerleri (Mann-Whitney U testi)

GHT GRUPLARININ İKİLİ KIYASLAMALARINDA SALL4 İÇİN p DEĞERLERİ					
	Seminom	Embriyonal karsinom	Yolk sak tümör	Teratom	Koryokarsinom
Seminom	-----	p=0.675	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Embriyonal karsinom	p=0.675	-----	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Yolk sak tümör	p<0.001	p<0.001	-----	p<0.001	p=0.029
Teratom	p<0.001	p<0.001	p<0.001	-----	p=0.159
Koryokarsinom	p<0.001	p<0.001	p=0.029	p=0.159	-----

Tablo-8: GHT'lerin SALL4 ile boyanan hücre yüzdelerinin karşılaştırılmasında p değerleri (Mann-Whitney U testi)

GHT GRUPLARININ İKİLİ KIYASLAMALARINDA OCT3/4 İÇİN p DEĞERLERİ					
	Seminom	Embriyonal karsinom	Yolk sak tümör	Teratom	Koryokarsinom
Seminom	-----	p=0.067	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Embriyonal karsinom	p=0.067	-----	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Yolk sak tümör	p<0.001	p<0.001	-----	p=0.583	p=0.900
Teratom	p<0.001	p<0.001	p=0.583	-----	p=0.874
Koryokarsinom	p<0.001	p<0.001	p=0.900	p=0.874	-----

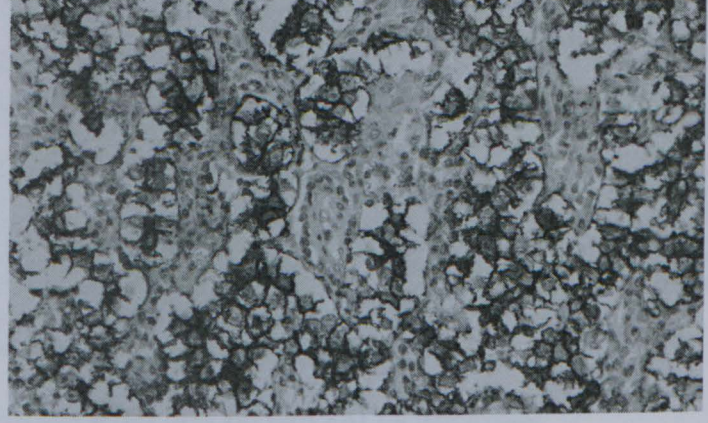
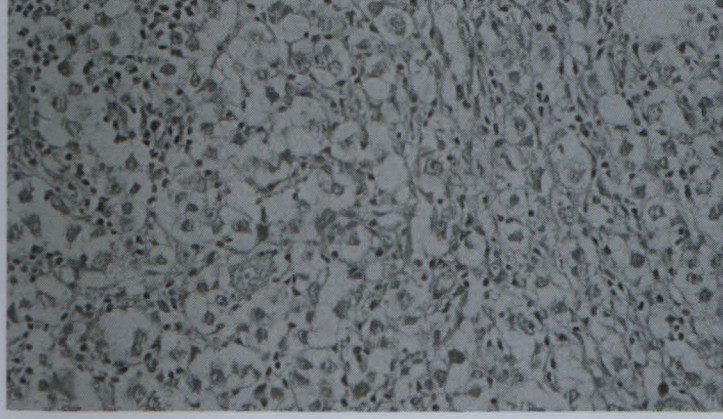
Tablo-9: GHT'lerin OCT3/4 ile boyanan hücre yüzdelerinin karşılaştırılmasında p değerleri (Mann-Whitney U testi)

PROTOKOL NO	TANI	PLAP									SALL4									OCT4											
		Oran					Şiddet				ITGHNS	Oran					Şiddet				ITGHNS	Oran					Şiddet				ITGHNS
		0	1	2	3	4	Zayıf	Orta	Kuvvetli	0		1	2	3	4	Zayıf	Orta	Kuvvetli	0	1		2	3	4	Zayıf	Orta	Kuvvetli				
20153-07	Embriyonal karsinom				+				+	Yok					+			+	Var.+					+			+	Var.+			
16324-09	Embriyonal karsinom				+		+			Var.+					+			+	Var.+					+	+			Var.+			
29549-05	Embriyonal karsinom					+			+	Var.+				+		+			-					+			+	-			
2038-03	Embriyonal karsinom					+			+	Var.+				+		+			Var.+					+	+			Var.+			
23721-02	Embriyonal karsinom				+		+			Yok					+			+	Yok					+			+	Yok			
1165-03	Embriyonal karsinom					+			+	Var.+					+			+	Var.+					+			+	Var.-			
14818-00	Embriyonal karsinom				+				+	Yok					+			+	Yok					+			+	-			
5237-01	Embriyonal karsinom				+				+	Yok					+			+	Var.+					+	+			Var.+			
2633-00	Embriyonal karsinom			+				+		Var.+				+		+			-					+			+	-			
16995-09	Embriyonal karsinom			+			+			Var.+					+			+	-					+			+	Var.+			
19223-96	Embriyonal karsinom			+			+			-					+	+			-					+	+			-			
13993-97	Embriyonal karsinom			+			+			Yok				+		+			Yok					+			+	Yok			
11240-95	Embriyonal karsinom		+				+			Yok					+			+	Var.+					+			+	Var.+			
17052-95	Embriyonal karsinom		+				+			Yok				+		+			-					+	+			Var.+			

Tablo-11: Saf embriyonal karsinom olguları ve eşlik eden İTGHNS ve intratubuler embriyonal karsinomda (İTEK) PLAP, SALL4 ve OCT4 antikorlarının immünohistokimyasal boyanma özellikleri

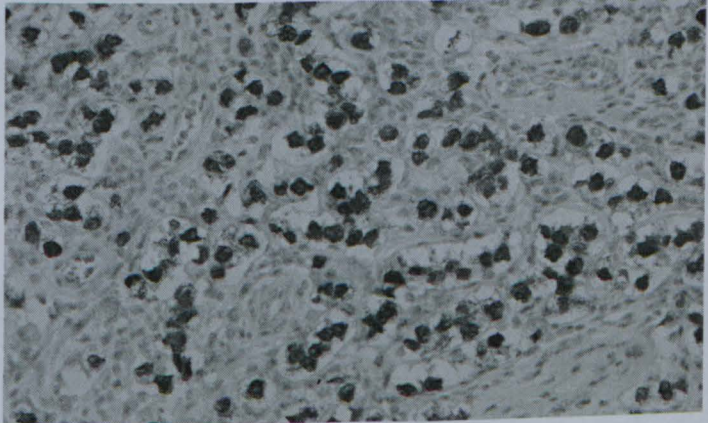
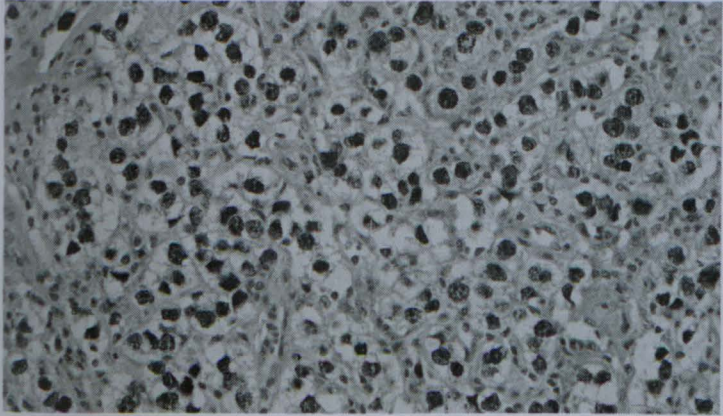
	Yolk sac tümör	+							Yok				+				+	Yok	+							Yok
	Teratom		+					+									+		+							Yok
26433-06	Embriyonal karsinom			+				+					+				+	Yok						+		Yok
	Yolk sac tümör		+					+					+				+	Var,+	+						+	Var,+
	Teratom	+										+				+		Var,+	+							Var,+
18144-06	Embriyonal karsinom				+			+					+				+	Var,+						+		Var,+
	Teratom	+																Var,+	+							Var,+
24470-06	Embriyonal karsinom				+			+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Teratom	+																Var,+	+							Var,+
8258-06	Embriyonal karsinom			+				+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Teratom	+																Var,+	+							Var,+
15499-06	Yolk sac tümör	+											+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Embriyonal karsinom				+			+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Teratom			+													+	Var,+	+							Var,+
34612-05	Yolk sac tümör	+											+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Embriyonal karsinom	+											+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Teratom	+																Var,+	+							Var,+
34827-05	Seminom				+			+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
25340-05	Yolk sac tümör	+											+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Embriyonal karsinom			+				+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
23980-05	Yolk sac tümör		+					+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Embriyonal karsinom		+					+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Seminom				+			+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Teratom	+																Var,+	+							Var,+
15238-05	Yolk sac tümör		+					+					+				+	Yok					+		+	Yok
	Koryokarsinom		+					+										Yok					+		+	Yok
6964-05	Embriyonal karsinom			+				+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
34797-04	Teratom		+					+					+				+	Var,+					+		+	Var,+
	Yolk sac tümör		+					+					+				+	Var,+					+		+	Var,+

1749-04	Embriyonal karsinom			+			+		Var,+				+		+	Var,+			+		+		+	Var, +
27716-03	Seminom			+			+		Var,+			+		+		Var,+			+			+		Var, +
	Yolk sac tümör	+							Var,+	+				+		Var,+	+							Var, +
3938-03	Yolk sac tümör		+				+		Var,+			+			+	Var,+	+							Var, +
	Seminom				+		+		Var,+			+			+	Var,+			+		+			Var, +
	Teratom	+							Var,+	+			+			Var,+		+				+		Var, +
32685-02	Yolk sac tümör		+				+		-			+			+	-		+		+				-
	Embriyonal karsinom				+			+	-			+			+	-			+					-
	Teratom	+							-	+						-	+			+				-
31047-02	Embriyonal karsinom			+			+		Var,+			+			+	Var,+				+		+		Var, +
	Seminom				+		+		Var,+			+	+			Var,+				+		+		Var, +
30233-02	Seminom				+		+		Var,+			+			+	Var,+				+		+		Var, +
	Teratom	+							Var,+	+						Var,+	+							Var, +
17074-02	Teratom	+							-	+						-	+							-
24811-02	Embriyonal karsinom				+		+		Var,+			+			+	Var,+				+		+		Var, +
	Yolk sac tümör		+				+		Var,+			+		+		Var,+	+							Var, +
	Teratom		+				+		Var,+	+						Var,+	+							Var, +
31081-01	Embriyonal karsinom			+			+		Var,+			+			+	Var,+				+		+		Var, +
	Yolk sac tümör				+		+		Var,+			+			+	Var,+		+			+			Var, +
9156-01	Embriyonal karsinom			+			+		-			+		+		-			+		+			-
	Teratom	+							-	+						-	+							-
	Yolk sac tümör			+			+		-	+			+			-	+							-
6275-01	Seminom			+			+		Var,+			+		+		Var,+			+		+			Var, +
	Embriyonal karsinom			+			+		Var,+			+		+		Var,+			+		+			Var, + İTEK K Var, +



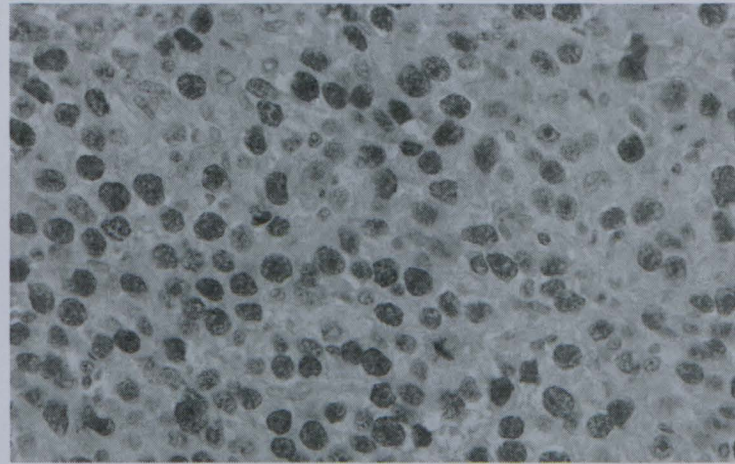
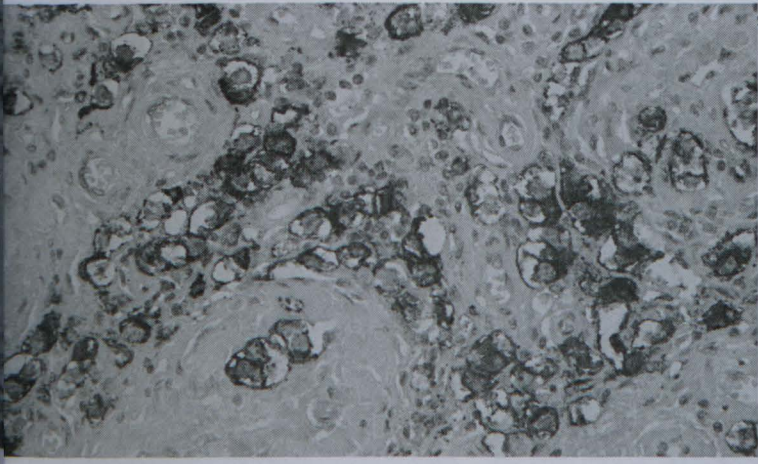
Resim1: Klasik tipte seminom olgusu (Prot. no: 38020-09, HE x40)

Resim2: Klasik tipte seminom olgusunda diffüz (4+) kuvvetli PLAP pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, PLAP x40)



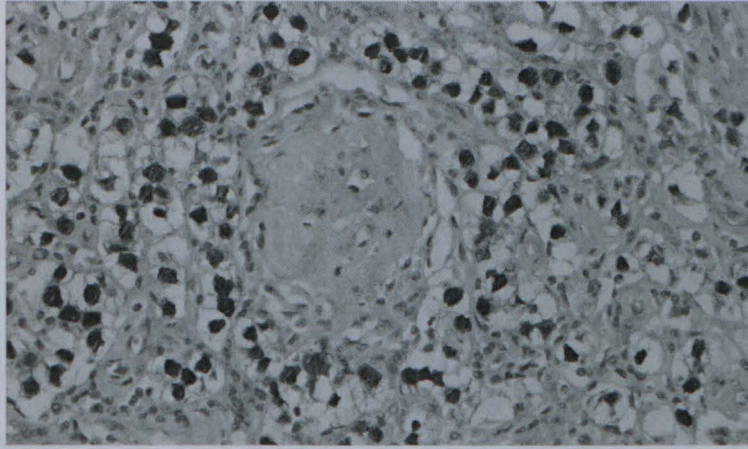
Resim3: Klasik tipte seminom olgusunda diffüz dağılım gösteren (4+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, SALL4 x40)

Resim4: Klasik tipte seminom olgusunda diffüz dağılım gösteren (4+) kuvvetli OCT3/4 pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, OCT3/4 x40)

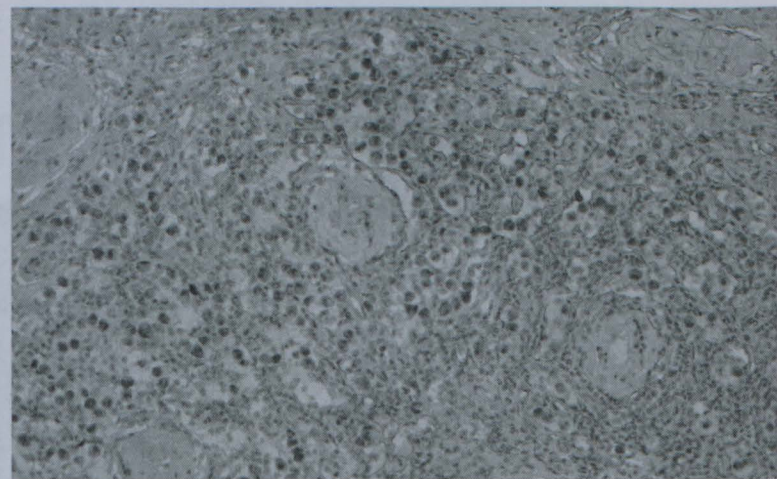
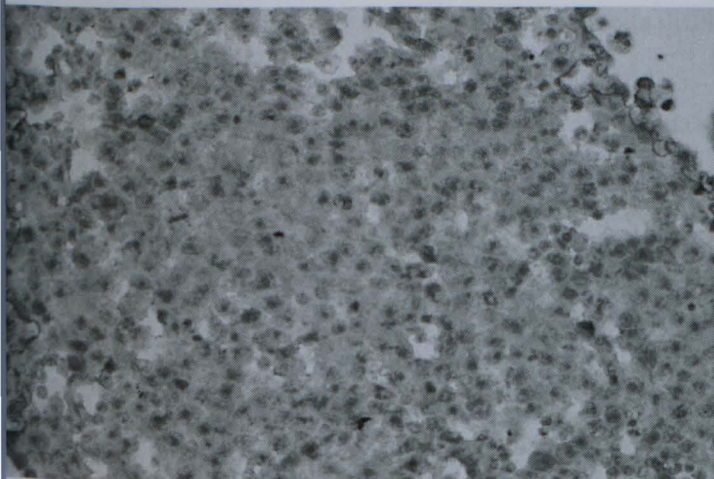


Resim5: İnterstisyel yayılım gösteren seminom olgusunda diffüz (4+) kuvvetli PLAP pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, PLAP x40)

Resim6: İnterstisyel yayılım gösteren seminom olgusunda diffüz (4+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, SALL4 x40)

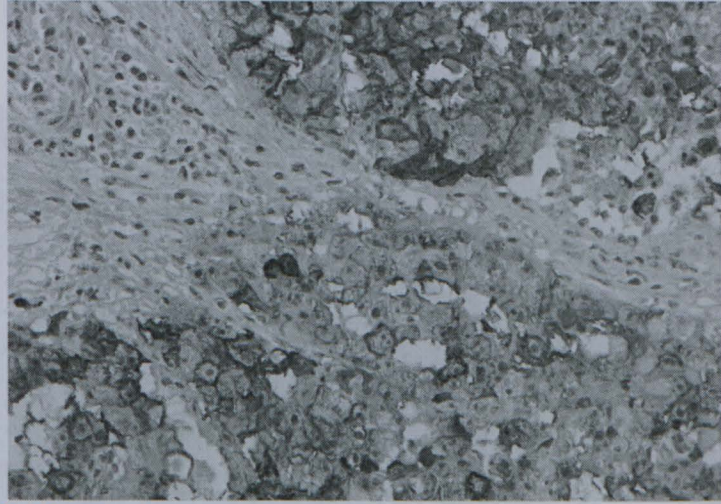
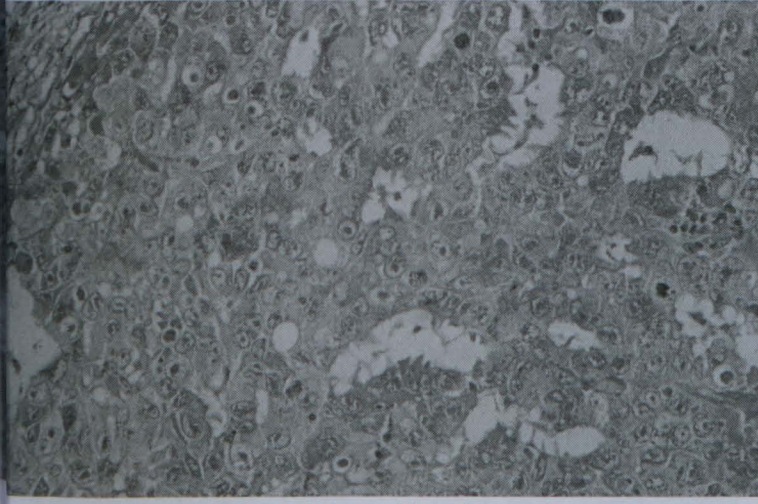


Resim7: İnterstisyel yayılım gösteren seminom olgusunda diffüz (4+) kuvvetli OCT3/4 pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, OCT3/4 x40)



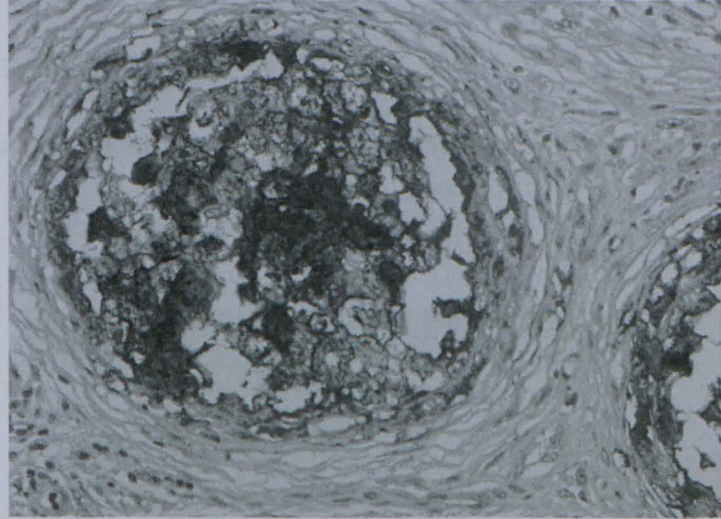
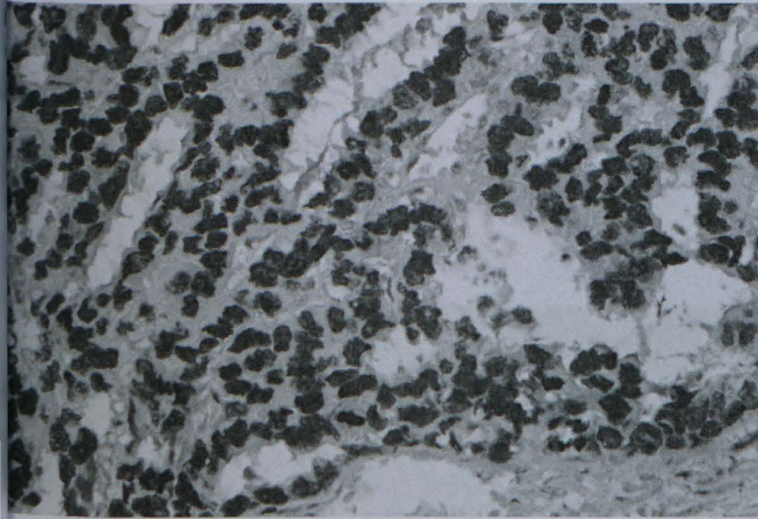
Resim8: Klasik tipte seminom olgusunda fokal (2+) zayıf PLAP pozitivitesi (Prot.no: 32173-06, PLAP x40)

Resim9: İnterstisyel yayılım gösteren seminom olgusunda fokal (3+) orta şiddette SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 38020-09, SALL4 x20)



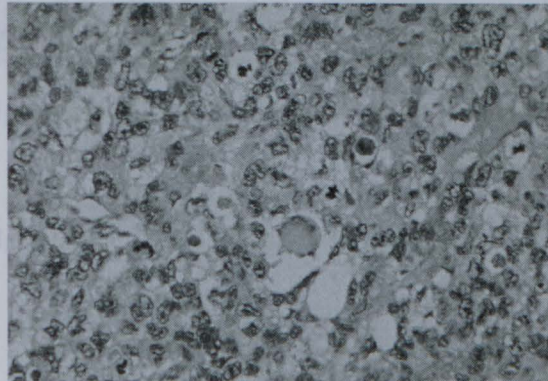
Resim10: Embriyonel karsinom olgusu (Prot.no: 20153-07 HE x40)

Resim11: Embriyonel karsinom olgusunda fokal (3+) kuvvetli PLAP pozitivitesi (Prot.no: 20153-07 PLAP x40)

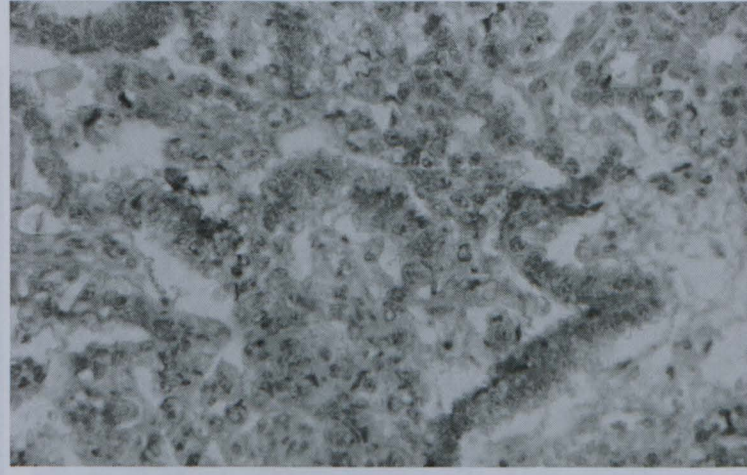
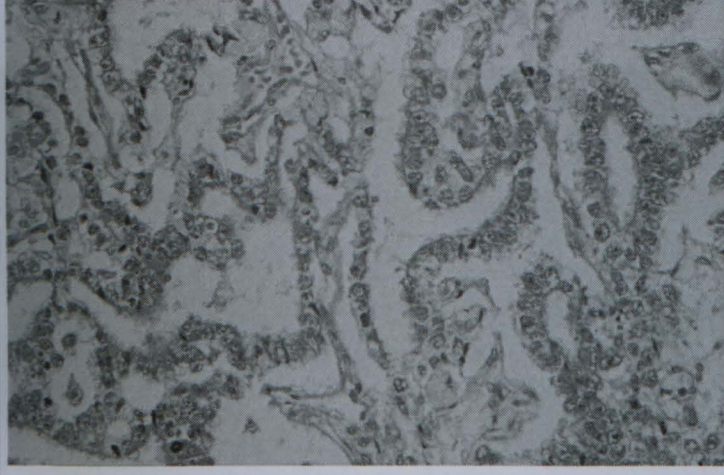


Resim12: Embriyonel karsinom olgusunda diffüz (4+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 20153-07 SALL4 x40)

Resim13: İntratubuler embriyonel karsinomda diffüz (4+) kuvvetli PLAP pozitivitesi (Prot.no: 29549-05 PLAP x40, kuvvetli 4+)

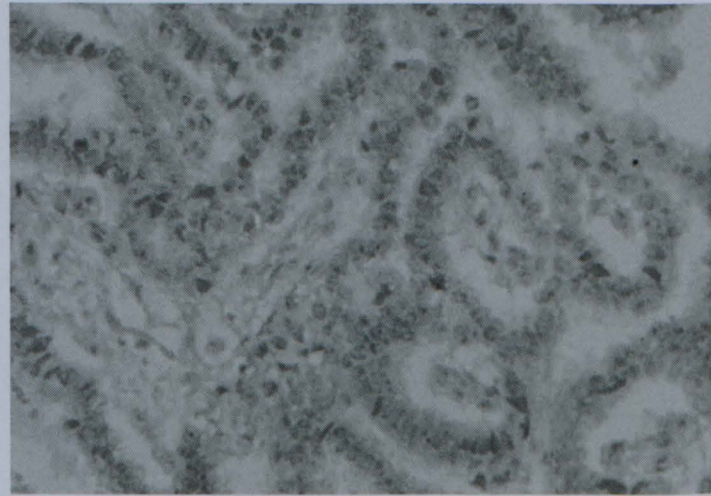
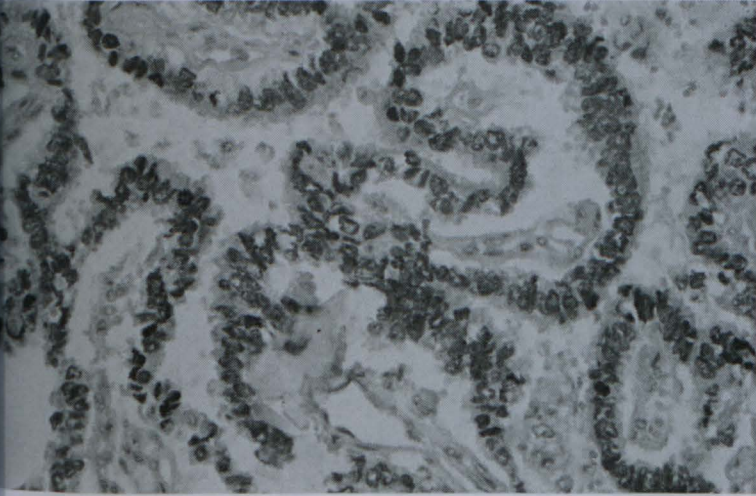


Resim14: Embriyonel karsinom olgusunda fokal (3+) orta şiddette SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 29549-05 SALL4 x40)



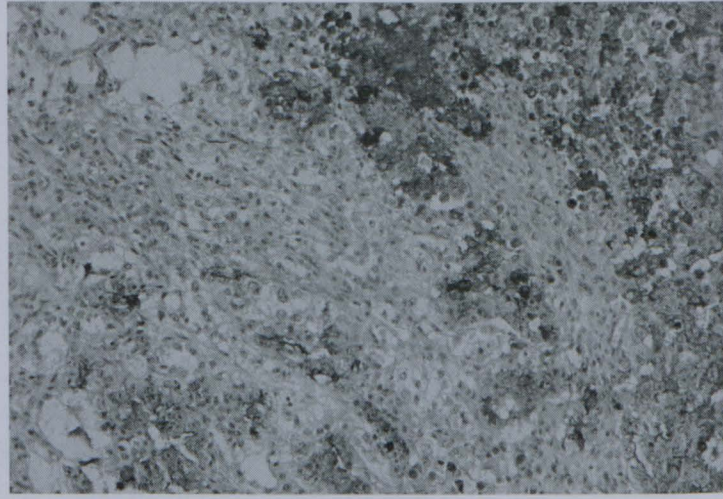
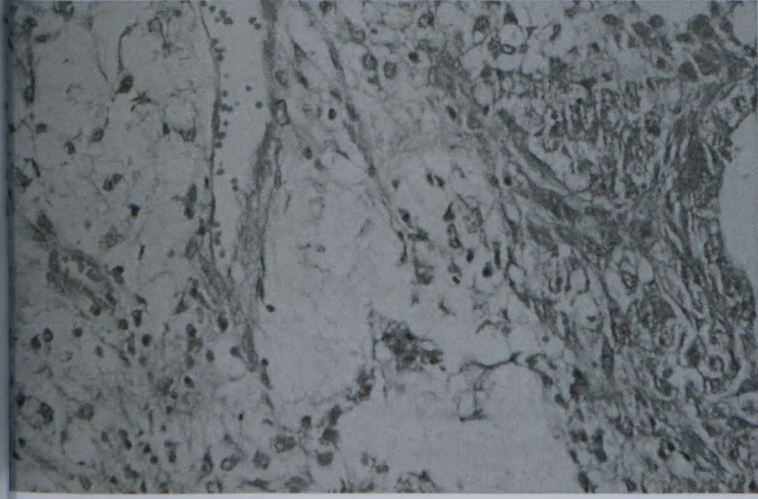
Resim15: Yolk sak tümör olgusu (Prot.no: 858-09 HE x40)

Resim16: Yolk sak tümör olgusunda fokal (1+) orta şiddette PLAP pozitivitesi (Prot.no: 858-09 PLAP x40)



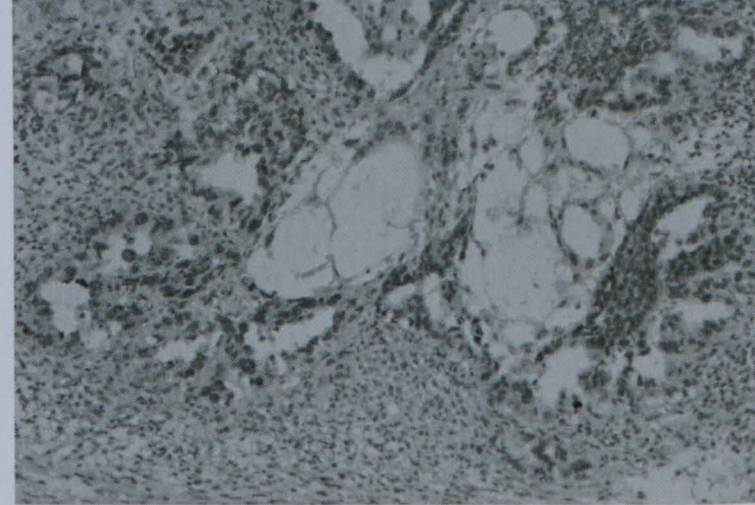
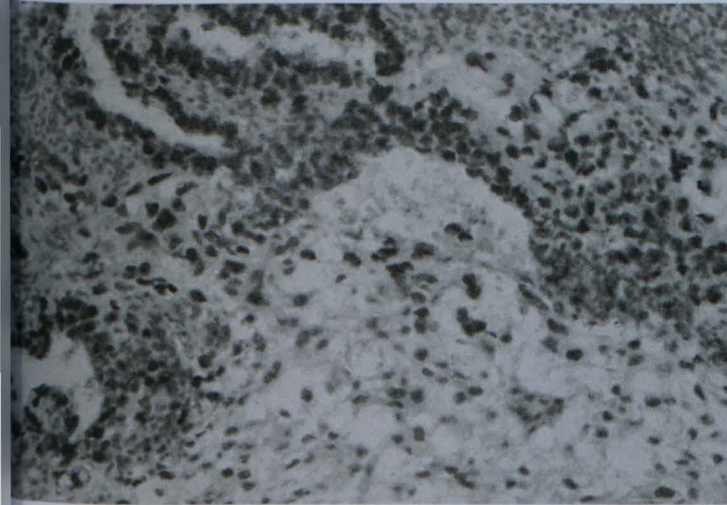
Resim17: Yolk sak tümör olgusunda fokal (3+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 858-09 SALL4 x40)

Resim18: Yolk sak tümör olgusunda OCT3/4 negativitesi (Prot.no: 858-09 OCT3/4 x40)



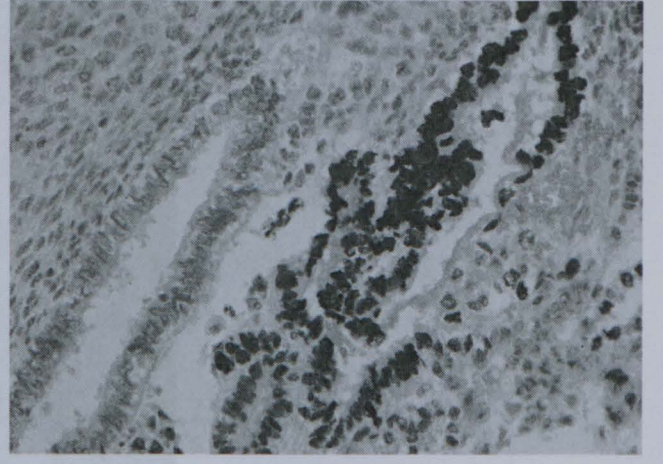
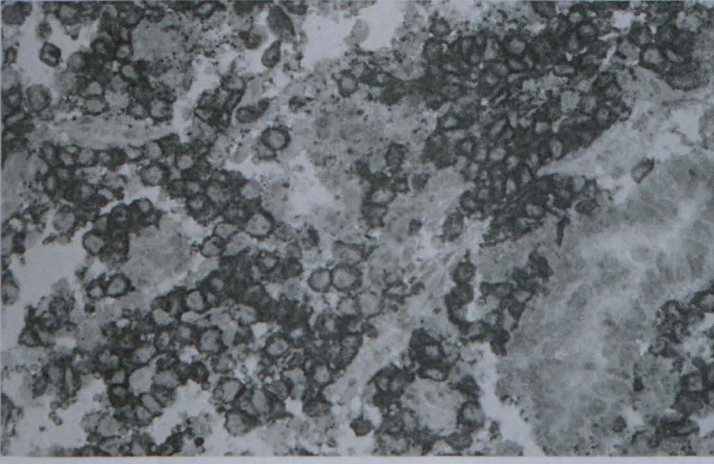
Resim19: MGHT olgusunda embriyonal karsinom ve yolk sak tümör komponenti (Prot.no: 9843-10 HE x40)

Resim20: MGHT embriyonal karsinom komponentinde diffüz (4+) kuvvetli PLAP pozitivitesi, yolk sak tümör komponentinde PLAP negativitesi (Prot.no: 12863-10 PLAP x20)



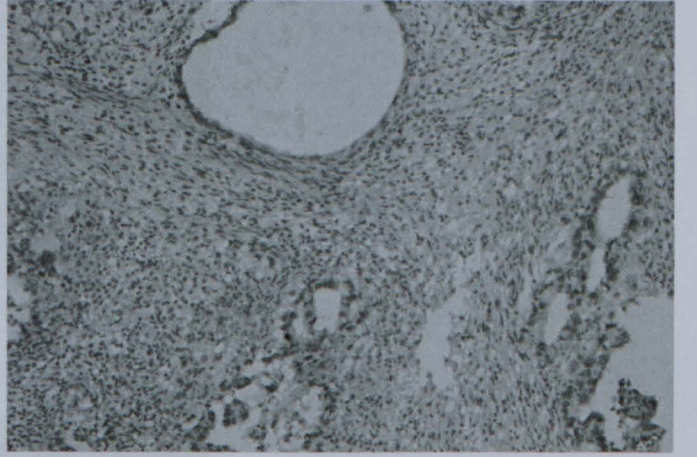
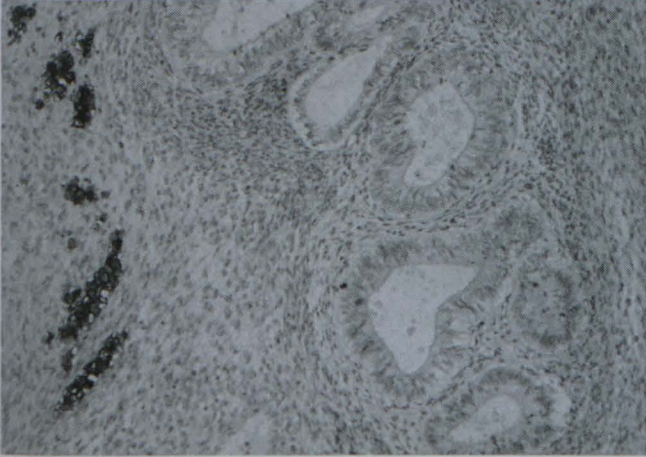
Resim21: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde diffüz (4+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi, yolk sak tümör komponentinde fokal (1+) SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 9843-10 SALL4 x20)

Resim22: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde fokal (3+) orta SALL4 pozitivitesi, yolk sak tümör komponentinde SALL4 negativitesi (Prot.no: 9843-10 OCT4 x20)



Resim23: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde fokal (3+) kuvvetli PLAP pozitivitesi ve teratom komponentinde fokal (1+) PLAP pozitivitesi (Prot.no: 12863-10 PLAP x20)

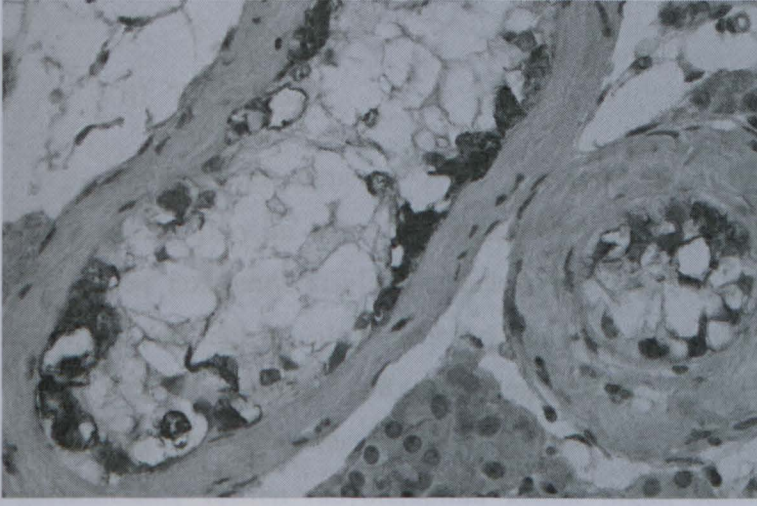
Resim24: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde fokal (3+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi, teratom komponentinde SALL4 negativitesi) (Prot.no: 12863-10 SALL4 x40)



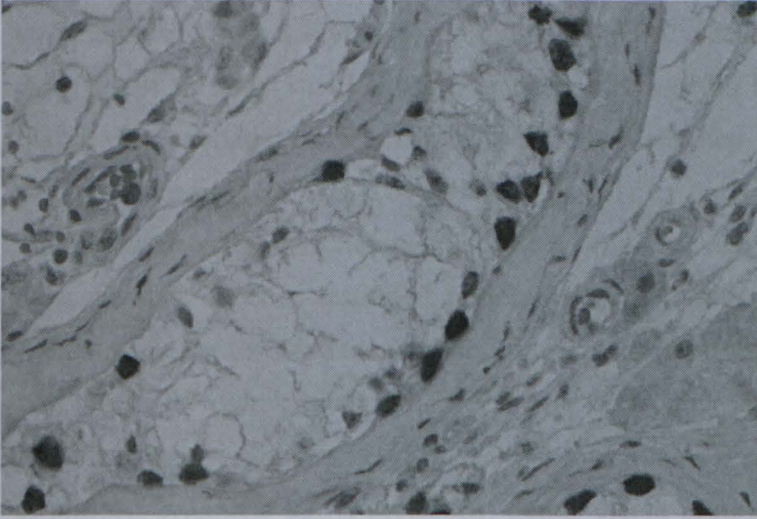
Resim25: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde fokal (3+) kuvvetli SALL4 pozitivitesi, teratom komponentinde SALL4 negativitesi) (Prot.no: 9843-10 SALL4)

Resim 26: MGHT olgusunda embriyonal karsinom komponentinde fokal (3+) orta şiddette OCT3/4 pozitivitesi, teratom komponentinde OCT3/4 negativitesi) (Prot.no: 9843-10 OCT4 x20)

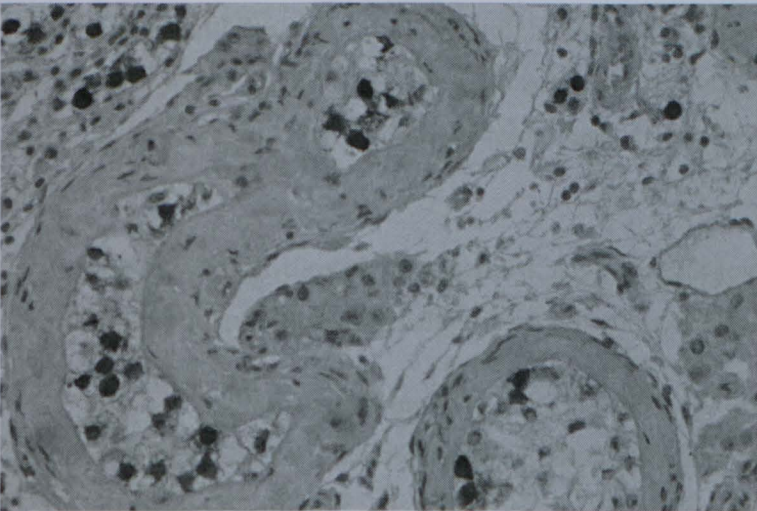
Resim29: İnterstitiyel yayılım gösteren kistlerde ve eşlik eden TTUHNS'de OCT3/4 pozitivitesi (Prot.no: 12173-06, OCT3/4 x40)



Resim27: Seminom olgusunda eşlik eden İTGHNS'da PLAP pozitivitesi (Prot.no: 32173-06, PLAP x40)



Resim28: Seminom olgusunda eşlik eden İTGHNS'da SALL4 pozitivitesi (Prot.no: 32173-06, SALL4 x40)



Resim29: İnterstisyel yayılım gösteren seminomda ve eşlik eden İTGHNS'da OCT3/4 pozitivitesi (Prot.no: 32173-06, OCT3/4 x40)

VIII- TARTIŞMA

Germ hücreli tümörler 15-35 yaş arası erkeklerde en yaygın malignitelerdir ve prevalansları 10 yılın aşkın bir süredir sabit olarak artmaktadır (3, 125, 161). GHT'lerin %80'inden fazlasında sisplatin-tabanlı kemoterapi ile kür sağlanabilir (1, 2, 25, 162) . GHT'ler içerisinde en sık rastlanan seminomdur ve seminomun tedavisi diğer GHT'lerden farklı olarak radyoterapidir. Radyoterapi, seminom dışı GHT'lerin tedavisinde etkisizdir (1, 2). Yanlış seminom tanısı gereksiz ve etkisiz radyoterapi yapılmasına, doğru tedavinin gecikmesine, verilen radyoterapinin kemik iliğini baskılaması nedeni ile uygulanacak kemoterapide sıkıntılara, yeterli dozun verilememesine neden olacaktır. Bununla birlikte seminomun tanınmayıp başka seminom dışı germ hücreli tümör tanısı konması, kemoterapi uygulanmasına ve dolayısıyla morbiditeye neden olacak, iyi tolere edilen düşük doz radyoterapi ile tedavi edilebilirliği engelleyecektir. Tüm GHT'lerin yaklaşık %5'i primer olarak ekstragonadal bölgelerden kaynaklanır. Mediasten, pineal bölge ve retroperiton en yaygın yerlerdir (125, 163, 164). Metastatik GHT'ler oldukça nadirdir, bu nedenle ilk başta patolog tarafından ayırıcı tanıda düşünülmemeyebilir. Ayrıca metastatik germ hücreli tümörlü bazı hastalar, önceden testiküler tümör öyküsüne (burned out germ hücreli tümör) sahip değildir ve eğer testiste rezidüel canlı tümör varsa metastazlar sıklıkla farklıdır (2, 3, 125, 165, 166). Ek olarak metastatik GHT'lerde küçük biyopsi örneği, yaygın nekroz, ezilme artefaktı, tedavi sonrası değişmiş morfoloji, tümör hücrelerinin inflamatuvar hücreler tarafından örtülmesi tanıyı zorlaştırır. Sonuç olarak primer, metastatik veya ekstragonadal germ hücreli tümörlerde tümör tipinin belirlenmesi ve takiben doğru tedavi için histopatolojik tanının doğru olması gereklidir. Testiküler germ hücreli tümörler H&E boyalı kesitlerde sıklıkla rahatça ayırte diledir iken, metastatik veya ekstragonadal germ hücreli tümörleri sadece histoloji ile tanımak zor olabilir. Bu zorlukların üstesinden gelmek ve tanıyı kolaylaştırmak için immünohistokimyasal belirleyiciler sıklıkla gereklidir (19, 116, 117, 118, 167).

Germ hücreli tümörlerin tanısını kolaylaştırmak için PLAP, CD30, C-kit, AFP gibi çeşitli immünohistokimyasal belirleyiciler kullanılmaktadır. (1, 2, 3, 4, 5).

PLAP testiküler seminomların %85-100'ünde eksprese edilirken, spermatositik seminomda PLAP genellikle negatif olup tümör hücrelerinin izole veya küçük bir grubunda fokal pozitivite görülebilir. PLAP embriyonal karsinomların %86-97'sinde pozitifdir, fakat genellikle fokaldır ve seminomdan daha zayıftır. Yolk sak tümörde değişkendir. Koryokarsinomların yaklaşık yarısında PLAP yamalı reaktivite gösterir. Teratomlarda ise

glandüler yapılarda PLAP ekspresyonu görülebilir (3). Bununla birlikte, PLAP metastatik GHT'lerin sadece %50-60'ında pozitifdir (19, 26, 25). Ayrıca germ hücreli dışı birçok tümörde PLAP pozitifliği bildirilmiştir (19, 27, 28).

CD30 embriyonal karsinomların %84'ünde pozitifdir (1, 2, 3, 4), fakat anaplastik lenfoma, Hodgkin lenfoma, karsinom ve melanomda da eksprese edilir (19, 29, 168). Ayrıca CD30 ekspresyonu, embriyonal karsinomların yaklaşık 2/3'ünde kemoterapi sonrasında kaybolur (19, 169).

C-kit seminom ve disgerminomda eksprese edilir (1, 2, 3, 4), fakat ayrıca çoğu germ hücreli dışı tümörde de c-kit ekspresyonu görülür ve metastatik GHT'lerde tanısal faydası sınırlıdır (19, 170, 171).

AFP bir yolk sak tümör belirleyicisi olarak kabul edilir (1, 2, 3, 4, 5) fakat sensitivite ve spesifitesi düşüktür (19, 34, 172, 173). Yolk sak tümörlerde AFP boyanması sıklıkla yamalıdır (2, 3, 92, 173, 174). Ayrıca primer tümör AFP pozitif olsa bile metastazlarında bu AFP pozitifliği kaybolabilir (19, 175). Ek olarak hepatoselüler karsinom ve overin berrak hücreli karsinomu gibi birçok germ hücreli dışı tümör AFP pozitif olabilir (19, 34).

Bütün bunlar göstermektedir ki bu belirleyiciler, primer, metastatik veya ekstragonadal GHT'ler için yeterli sensitivite ve/veya spesifiteye sahip değildir. Bu nedenle çalışmamızda, primer, metastatik ve ekstragonadal germ hücreli tümörlerde zorlayıcı vakalarda doğru tanıya ulaşmada faydalı olacağını düşündüğümüz yeni bir immünohistokimyasal belirleyici olan SALL4'ün, OCT3/4 ve PLAP ile karşılaştırmalı olarak spesifite ve sensitivitesini araştırdık.

SALL4, embriyonik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesi ve pluripotensini sürdürmesinde gerekli bir transkripsiyon faktörü, yeni bir kök hücre belirleyicisidir (13, 17, 18, 19, 106, 107, 108).

OCT3/4, embriyonik kök hücreler ve germ hücrelerinde eksprese edilen bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (9, 118, 119, 120, 121, 122) ve pluripotensin sürdürülmesi ve regülasyonu ile ilişkilidir (9, 25, 136, 176).

PLAP, yaklaşık 67.000 dalton moleküler ağırlığında 2 subünitten oluşan bir hücre yüzey glikoproteinidir (147, 148).

Çalışmamızda saf veya komponent 51 seminomun hepsinde PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ekspresyonu saptandı. Cao ve ark.'larının testiküler GHT'lerde SALL4 ekspresyonunu OCT3/4 ekspresyonu ile karşılaştırdıkları çalışmada 62 seminomun tümünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 ve OCT3/4 boyanması saptanmıştır (6). Cao ve ark.'ları başka bir çalışmalarında metastatik GHT'lerde SALL4 sensitivite ve spesifitesini araştırmışlardır. 22 seminomun hepsinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 boyanması elde etmişlerdir (19). Cheng metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında OCT3/4'ün yararını araştırmak için testiküler GHT öyküsü olan 62 hastanın retroperitoneal lenf nodu örneklerine OCT3/4 uygulamıştır. 18 seminomun hepsinde OCT3/4 ile kuvvetli diffüz boyanma görülmüştür (118). Jones ve ark.'ları OCT3/4'ün tanısal bir araç olarak primer testiküler germ hücreli ve germ hücreli dışı tümörlerde spesifite ve sensitivitesini değerlendirmek amacıyla 64'ü MGHT olan 91 primer testiküler neoplazmı incelemişlerdir. Çok az zemin boyanması ile veya zemin boyanması olmaksızın tüm seminom komponentlerinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında OCT3/4 ile nükleer boyanma gözlenmiştir (9). Jung ve ark.'ları mediastende primer GHT'lerin ve timomaların OCT3/4 ekspresyonunu araştırmışlardır. Saf veya komponent 11 seminomun tümünde OCT3/4 pozitif saptanmıştır (140). Santagata ve ark.'ları primer ve metastatik GHT'lerde birkaç embriyonik kök hücre transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu araştırmışlardır. Çalışmalarında 41 primer testiküler ve 43 metastatik retroperitoneal GHT yer almıştır. Primer testiküler GHT'lerden saf ya da komponent 20 seminomun tümünde ve metastatik GHT'lerden 8 seminom odağının tümünde OCT3/4 ekspresyonu elde etmişlerdir (10). Bizim çalışmamızda 51 seminomun 29'unda tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) SALL4 ile kuvvetli boyanma elde edildi ve 51 seminomun 30'unda tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) OCT3/4 ile kuvvetli boyanma görüldü. Tümör hücrelerinin boyanma şiddetini gözardı ettiğimizde seminomların %76.5'inde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) SALL4 ve OCT3/4 ekspresyonu saptandı. PLAP ile ise 51 seminomun 34'ünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) boyanma izlendi. PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 51 seminomun 33'ünde (%64,7) kuvvetli pozitivite elde edildi

Çalışmamızda saf ya da komponent 71 embriyonal karsinomun, tümünde SALL4 ekspresyonu ve 70'inde PLAP ve OCT3/4 ekspresyonu saptadık. Cao ve ark.'ları testisin GHT'lerde SALL4 ve OCT3/4 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmalarında 39 embriyonal karsinomun tümünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 ve OCT3/4 boyanması elde etmişlerdir (6). Cao ve ark.'ları metastatik GHT'lerde SALL4

sensitivite ve spesifitesini araştırdıkları bir çalışmalarında 22 embriyonal karsinomun hepsinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 boyanması saptamışlardır (19). Cheng metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında OCT3/4'n yararını araştırdığı çalışmasında OCT3/4' testiküler GHT yks olan 62 hastanın retroperitoneal lenf nodu örneklerine uygulamıştır. 29 embriyonal karsinomun tümünde OCT3/4 ile kuvvetli diffüz boyanma elde etmiştir (118). Jones ve ark.'ları OCT3/4'n primer testis tümörlerinde spesifite ve sensitivitesini değerlendirdikleri çalışmalarında tümör hücrelerinin %61-90'ının OCT3/4 ile boyandığı bir embriyonal karsinom hariç SALL4 ve OCT3/4 ile embriyonal karsinomların tümünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında kuvvetli boyanma saptamıştır (9). Santagata ve ark.'larının primer ve metastatik GHT'lerde birkaç embriyonik kök hücre transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada 41 primer testiküler ve 43 metastatik retroperitoneal GHT yer almıştır. Primer testiküler GHT'lerden saf veya komponent 18 embriyonal karsinomu ve metastatik GHT'lerden 21 embriyonal karsinomu içeren 39 embriyonal karsinomun biri hariç tümünde tümör hücrelerinin %75'inden fazlasında OCT3/4 ile boyanma görülmüştür. Geriye kalan birinde ise %51-75 arası OCT3/4 boyanması gözlenmiştir (10). Çalışmamızda ise 71 embriyonal karsinomun 52'sinde SALL4 ile tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında kuvvetli boyanma saptandı. OCT3/4 ile 71 embriyonal karsinomun 28'inde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında kuvvetli boyanma saptandı. Fakat boyanma şiddetlerine bakılmaksızın boyanan tümör hücreleri yüzdesine göre değerlendirmede embriyonal karsinomların %80.3'ünde SALL4 ve %60.6'sında OCT3/4 ile tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında boyanma saptandı. PLAP ile ise 71 embriyonal karsinomun 16'sında tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) boyanma izlendi. PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 71 embriyonal karsinomun 39'unda (%54,9) kuvvetli boyanma görüldü.

Çalışmamızda saf ya da komponent 54 yolk sak tümörün 52'sinde SALL4, 34'nde PLAP ekspresyonu ve 7'sinde OCT3/4 ekspresyonu saptandı. Cao ve ark.'ları testiküler GHT'lerde SALL4 ekspresyonunu OCT3/4 ekspresyonu ile karşılaştırdıkları çalışmalarında 31 yolk sak tümörün tümünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 boyanması elde etmişlerdir. 31 yolk sak tümörün hiçbirinde OCT3/4 boyanması saptamamışlardır (6). Cao ve ark.'ları metastatik GHT'lerde SALL4 sensitivite ve spesifitesini araştırdıkları çalışmalarında 15 yolk sak tümörün 14'ünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında (4+) kuvvetli SALL4 boyanması saptamışlardır. Bir yolk sak tümörde ise tümör hücrelerinin %80'i (3+) kuvvetli SALL4 pozitifitesi göstermiştir (19). Wang ve ark.'ları ekstragonadal yolk sak tümörlerde PLAP ve OCT3/4 ile karşılaştırmalı olarak

SALL4'ün tanısal yararını araştırdıkları çalışmalarında 59 yolk sak tümörün tümünü OCT3/4 ile negatif bulmuşlardır. 59 yolk sak tümörün 54'ünde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında kuvvetli SALL4 boyanması gözlenmiştir. Beşinde ise tümör hücrelerinin %70-85'inde SALL4 boyanması gözlenmiştir. PLAP ile ise 59 yolk sak tümörün 39'unda boyanma izlenmiştir. Bu 39 vakanın 28'inde PLAP ile tümör hücrelerinin %30'undan azı boyanmış olup sadece birinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlası PLAP ile boyanmıştır (106). Cheng'in metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında OCT3/4'ün yararını araştırmak için testiküler GHT öyküsü olan 62 hastanın retroperitoneal lenf nodu örneklerine OCT3/4 uyguladığı çalışmada 12 yolk sak tümörün hepsinde OCT3/4 negatif bulunmuştur (118). Jones ve ark.'ları germ hücreli ve germ hücreli dışı primer testis tümörlerinde OCT3/4'ün spesifite ve sensitivitesini saptamak amacıyla 64'ü MGHT olan 91 primer testis tümörü olgusunda OCT3/4 boyanmasını değerlendirmişlerdir. Sadece MGHT komponenti olarak çalışmada yer alan yolk sak tümörlerin hepsinde OCT3/4 negatif saptanmıştır (9). Jung ve ark.'larının mediastende primer GHT'lerin ve timomaların OCT3/4 ekspresyonunu araştırdıkları 46 primer GHT ve 22 timomanın yer aldığı çalışmada 6'sı saf ve 2'si MGHT'ün komponenti olan 8 yolk sak tümörün hepsinde OCT3/4 negatif bulunmuştur (140). Santagata ve ark.'larının primer ve metastatik GHT'lerde birkaç transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu araştırdıkları 41 primer testiküler ve 43 metastatik retroperitoneal GHT'ün yer aldığı çalışmada primer testiküler GHT'lerden 6 yolk sak tümör komponentinin ve metastatik GHT'lerden 6 yolk sak tümörün hiçbirinde OCT3/4 ekspresyonu saptanmamıştır (10). Çalışmamızda 54 yolk sak tümörün 10'unda tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında kuvvetli SALL4 boyanması izlendi. 54 yolk sak tümörün 7'sinde OCT3/4 ekspresyonu saptandı. Sadece boyanan hücre yüzdesine göre değerlendirdiğimizde, yolk sak tümörlerin %22.2'sinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasının SALL4 ile, yolk sak tümörlerin %3.7'sinde tümör hücrelerinin %90'ından fazlasının OCT3/4 ile boyandığı saptandı. PLAP ile ise yolk sak tümörlerde 3 vakada en fazla tümör hücrelerinin %61-90'ında (3+) boyanma izlendi. PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 54 yolk sak tümörün 3'ünde (%5,6) kuvvetli boyanma gözlendi.

Çalışmamızda sadece MGHT komponenti olan 37 teratomun, 10'unda PLAP, 10'unda SALL4 ve 7'sinde OCT3/4 ekspresyonu saptandı. Cao ve ark.'larının testiküler GHT'lerde SALL4 ekspresyonu ile OCT3/4 ekspresyonu araştırdıkları çalışmada 34 teratomun 27'sinde fokal SALL4 boyanması elde etmişlerdir. 34 teratomun hiçbirinde OCT3/4 boyanması saptanmamıştır (6). Cheng'in metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında OCT3/4'ün yararını araştırmak için testiküler GHT öyküsü olan 62 hastanın

retroperitoneal lenf nodu örneklerine OCT3/4 uyguladığı çalışmasında 16 teratomun tümünde OCT3/4 negatif bulunmuştur (122). Jones ve ark.'ları OCT3/4'ün primer testis tümörlerinde spesifite ve sensitivitesini değerlendirdiği çalışmada MGHT'ün komponenti olarak bulunan teratomların hiçbirinde OCT3/4 boyanması saptanmamıştır (9). Jung ve ark.'ları mediastende primer GHT'lerin ve timomaların OCT3/4 ekspresyonunu araştırdığı çalışmada saf ve komponent tüm teratomlarda OCT3/4 negatif bulunmuştur (140). Santagata ve ark.'larının embriyonik kök hücre transkripsiyon faktörlerinden birkaçının primer ve metastatik GHT'lerde ekspresyonunu araştırdığı 41 primer testiküler ve 43 metastatik retroperitoneal GHT'ün yer aldığı çalışmada primer testiküler GHT'lerden 15 teratom komponentinin tümü ve metastatik GHT'lerden 16 teratomun tümü OCT3/4 negatif saptanmıştır (10). Çalışmamızda SALL4 ekspresyonu gözlenen teratomlarda, tümör hücrelerinin en fazla %30-60'ında SALL4 boyanması belirlendi. Bunlar da tüm teratomların %8.1'ini oluşturmaktadır. OCT3/4 ile tümör hücrelerinin en fazla %1-30'unda boyanma gözlenmiştir. Bu boyanma da serimizde teratomların sadece %18.9'unda izlendi. PLAP ile ise bir teratom olgusunda olmak üzere tümör hücrelerinin en fazla %31-60'ında boyanma görüldü. PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 37 teratomun 2'sinde (%5,4) kuvvetli boyanma izlendi.

Çalışmamızda MGHT komponenti olan altı koryokarsinomun, 4'ünde PLAP, 3'ünde SALL4 ve 1'inde OCT3/4 ekspresyonu saptandı. Cao ve ark.'larının çalışmasında 5 koryokarsinomun tümünde değişken SALL4 boyanması gözlenirken, hiçbirinde OCT3/4 boyanması gözlenmemiştir (6). Cheng'in metastatik germ hücreli tümörlerin tanısında OCT3/4'ün yararını araştırdığı çalışmada 4 koryokarsinomun tümünde OCT3/4 negatif bulunmuştur (118). Jones ve ark.'larının OCT3/4'ün primer testiküler tümörlerde spesifite ve sensitivitesini değerlendirdiği çalışmada MGHT'ün komponenti olarak bulunan koryokarsinomların tümünde OCT3/4 boyanması saptanmamıştır (9). Santagata ve ark.'larının çalışmasında primer testiküler GHT'lerden 5 koryokarsinom komponentinin tümü ve metastatik GHT'lerden 2 koryokarsinomun tümü OCT3/4 negatif saptanmıştır (10). Çalışmamızda boyanan tümör hücresi yüzdesine göre değerlendirdiğimizde 6 koryokarsinomun sadece birinde olmak üzere SALL4 ile en fazla %30-60 tümör hücresinde boyanma izlendi. OCT3/4 ile ise sadece bir vakada %1-30 arası boyanma saptandı. PLAP ile ise iki koryokarsinom olgusunda tümör hücrelerinin en fazla %30-60'ında boyanma görüldü. PLAP ile boyanma şiddetine göre değerlendirmede 6 koryokarsinomun 2'sinde (%33,3) olmak üzere en fazla orta şiddette boyanma izlendi.

Kontrol grubumuzda ise 40 karsinom vakasının 4'ünde (iki kolon adenokarsinomu, bir mide adeno karsinomu ve bir akciğer skuamöz hücreli karsinomu) PLAP boyanması, l'inde (kolon adenokarsinomu) ise nonspesifik sitoplazmik SALL4 ve OCT3/4 boyanması saptandı. Cao ve ark.'ları primer testiküler GHT'lerde SALL4 spesifitesini değerlendirmek için 23 testiküler germ hücreli dışı tümörde ve 275 testis dışı tümörde SALL4 boyanmasını araştırmışlardır. 23 testiküler germ hücreli dışı tümörün hiçbirinde SALL4 boyanması gözlenmez iken, 275 testis dışı tümörden sadece 10 karsinomda ve 1 sarkomda fokal (tümör hücrelerinin %25'den azında) SALL4 boyanması gözlenmiştir (6). Cao ve ark.'ları başka bir çalışmalarında 170 metastatik somatik tümörün sadece 10'unda (özofageal, gastrik ve kolonik adenokarsinomlar) fokal (tümör hücrelerinin %25'den azı) (1+) zayıf SALL4 pozitivitesi saptamıştır (19). Wang ve ark.'ları ekstragonadal yolk sak tümörlerde PLAP ve OCT3/4 ile karşılaştırmalı olarak SALL4'ün tanısal yararını araştırdıkları çalışmada ekstragonadal bölgelerde yolk sak tümörün ayırıcı tanısına miksoepidimom ve kordoma girdiği için 13 miksoepidimom ve 12 kordomaya SALL4 uygulamışlar ve bunlarda SALL4'ü negatif bulmuşlardır (106). Önceki çalışmalarda, hemopoetik tümör tiplerinden sadece prekürsör B hücreli lenfoblastik lenfoma ve akut myeloid lösemide SALL4 pozitivitesi izlenmiştir. Ekstragonadal yolk sak tümör bu tümörlerden morfolojik olarak kolaylıkla ayrılabilir, morfolojik olarak ayırmanın zor olduğu vakalarda da bu tümörlerde pozitif olan hemopoetik immünohistokimyasal belirleyicilerin kullanımı ile yolk sak tümörden ayrılabilirler (114, 177). Cheng'in çalışmasında ayrıca primer lezyonu germ hücreli dışı tümör olan 84 metastaza da OCT3/4 yapılmıştır. 14 akciğer küçük hücreli dışı karsinom, 12 kolon, 5 mide, 7 pankreas, 12 prostat, 3 böbrek, 15 mesane, 4 küçük hücreli karsinom, 7 melanom metastazının hepsinde OCT3/4 negatif bulunmuştur. Jones ve ark.'larının (9) OCT3/4'ün primer testis tümörlerinde spesifitesini değerlendirdiği çalışmalarında primer testiküler germ hücreli dışı tümörlerde OCT3/4 ile boyanma belirlenmemiştir. MGHT'lerde OCT3/4 ile boyanan seminom ve embriyonal karsinom komponentleri ile komşu boyanmayan komponentler arasında keskin bir geçiş olduğu belirlenmiştir. Seminom ve embriyonal karsinom hücreleri pluripotent potansiyellerini destekler biçimde OCT3/4 ile pozitif bulunurken daha diferansiye olan germ hücreli ve germ hücreli dışı tümörlerde pluripotent özelliklerini kaybettiklerini yansıtan şekilde OCT3/4 negatif bulunmuştur. Testis tümörlerinde seks kord stromal bir tümörün, en sık seminom olmak üzere bir GHT olarak yorumlanması önemli klinik sonuçlar doğuran tanısal hataların yaygın bir sebebidir. Seks kord stromal tümörlerde OCT3/4 immünreaktivitesinin olmaması, OCT3/4 pozitif olan seminomdan ayrılmasında faydalı olabilir (118). Jung ve

ark.'ları mediastende primer GHT'lerin ve timomaların OCT3/4 ekspresyonunu araştırdığı çalışmada 22 timomanın tümünde OCT3/4 negatif bulunmuştur (140).

Çalışmamızda İTGHNS, intratubuler seminom ve intratubuler embriyonal karsinomların tümünde PLAP, SALL4 ve OCT3/4 ile immünreaktivite izlendi. Kaynaklarda da, İTGHNS tümünde OCT3/4 ve SALL4 boyanması gözlenmiştir (6, 178, 179, 180).

Sonuç olarak; Seminom ve embriyonal karsinomların SALL4 ve OCT3/4 ile boyanan tümör hücre yüzdeleri ve yolk sak tümörün SALL4 ile boyanan tümör hücre yüzdeleri açısından çalışmamızda biraz daha düşük oranlar görülmekle birlikte diğer çalışmalarla büyük ölçüde uyumlu bulgular elde edildi. Boyanma şiddetleri ise her  antikorda da önceki çalışmalara göre daha düşük seviyede izlendi (6, 9, 10, 19, 106, 140). Ayrıca kaynaklarda yolk sak tümörlerin, teratomların ve koryokarsinomların hiçbirinde OCT3/4 ekspresyonu saptanmaz iken çalışmamızda bunların az bir kısmında OCT3/4 ekspresyonu saptandı (6, 9, 10, 19, 106, 118, 140). Bunun nedeni testis tümörlerinin histopatogenezinde varolan tümör geçiş alanlarının değerlendirilmiş olması olabilir. Bulgular gösteriyor ki OCT3/4 ile karşılaştırıldığında SALL4 GHT'leri saptamada daha iyi bir belirleyicidir, nk SALL4 sadece seminom ve embriyonal karsinomda değer, ayrıca yolk sak tümör ve koryokarsinomda da eksprese edilmektedir. Ayrıca morfolojik olarak zorlayıcı testiküler yolk sak tümör, teratom ve koryokarsinom tanısında SALL4 ve OCT3/4 immnhistokimyasının birlikte kullanılması çok faydalıdır. Örneğin bazen glandüler yolk sak tümörü, glandüler embriyonal karsinomdan ayırmak zor olabilir. Çalışmamızda bu histolojik tiplerde genel olarak SALL4 pozitif saptanırken OCT3/4 negatif saptandı. SALL4, PLAP ile karşılaştırıldığında ise yolk sak tümörü saptamada daha iyi bir belirleyicidir, nk çalışmamızda 54 yolk sak tümörün 52'si SALL4 ile boyanırken 34' PLAP ile boyandı. Ayrıca SALL4 ile yolk sak tümörlerin 12'sinde (%22,2) tümör hücrelerinin %90'ından fazlasında boyanma görülürken PLAP ile 3'ünde olmak üzere tümör hücrelerinin en fazla %61-90'ında (3+) boyanma izlendi.

Çalışmamızda PLAP ve SALL4 için tüm tümör gruplarında tümör hücrelerinin %31'i ve üzerindeki (2+ ve üzeri) boyanmayı anlamlı kabul ettiğimizde germ hücreli tümörlerde PLAP'ın sensitivitesi %56.6 saptanırken, PLAP ve/veya SALL4 kombinasyonunun sensitivitesi %77.6 saptandı. OCT3/4 için seminom ve embriyonal karsinom grubunda tümör hücrelerinin %31'i ve üzerindeki (2+ ve üzeri) boyanmayı, yolk sak tümör, teratom ve koryokarsinom grubunda tümör hücrelerinin hiçbirinin boyanmamasını (%0) anlamlı kabul ettiğimizde PLAP ve/veya SALL4 ve/veya OCT3/4 kombinasyonunun sensitivitesi

%97.2 bulundu. Germ hücreli tümörlerde PLAP'ın spesifitesi %97,5 belirlendi ve SALL4 ve/veya OCT3/4 kombinasyonu da spesifite %97.5 saptandı.

Ayrıca morfolojik olarak sıklıkla karışabilen germ hücreli tümörler olan embriyonal karsinom ve yolk sak tümörün ayrımında OCT3/4'ün sensitivitesi %97.1, spesifitesi %87 saptandı.

Özetle primer, metastatik ve ekstragonadal GHT'lerde morfolojik olarak ayırıcı tanı güçlüğü yaratan durumlarda tanıyı kolaylaştırmak için PLAP, CD30, c-kit ve AFP gibi immünohistokimyasal belirleyiciler kullanılmaktadır. Bu belirleyiciler GHT'ler için yararlı belirleyiciler olmasına rağmen, sadece orta derecede sensitivite ve/veya spesifite gösterirler (1, 2, 3, 4, 5). Ayrıca tedavi sonrası ve metastatik odaklarda ekspresyonları kaybolabilir (2). Bu nedenlerle yeni belirleyicilere ihtiyaç vardır. Çalışmamızın sonuçları da sadece PLAP'a göre PLAP, SALL4 ve OCT3/4 kombinasyonunun testiküler germ hücreli tümörleri saptamada çok daha etkili olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak hem çalışmamızda hem de önceki çalışmalarda germ hücreli tümörler için sensitif ve spesifik bulunan SALL4 ve OCT3/4 primer, metastatik ve ekstragonadal germ hücreli tümörlerin tanısında morfolojik olarak tanı güçlüğü yaşanan durumlarda kullanılacak yeni immünohistokimyasal belirleyicilerdir.

IX-SONUÇLAR

PLAP ile 51 seminomun tümünde (%100), 71 embriyonal karsinomun 70'inde (%98.5) , 54 yolk sak tümörün 34'ünde (%62.9), 37 teratomun 10'unda (%27), 6 koryokarsinomun 4'ünde (%66.6) membranöz veya sitoplazmik pozitifite saptandı.

PLAP, 76 İTGHNS ve 1 intratubuler embriyonal karsinomun tümünde (%100) membranöz veya sitoplazmik pozitifite gösterdi.

PLAP ile 51 seminomun 34'ünde (%66.6), 71 embriyonal karsinomun 16'sında (%22.5) tümör hücrelerinin %90'dan fazlası (4+) membranöz veya sitoplazmik pozitifite elde edildi.

PLAP ile kuvvetli membranöz veya sitoplazmik boyanma 51 seminomun 33'ünde (%64.7), 71 embriyonal karsinomun 39'unda (%54.9) görüldü.

PLAP, 40 somatik tümörün (10 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomu, 10 mide adenokarsinomu, 10 kolon adenokarsinomu) 4'ünde (%10) (1 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 1 mide adenokarsinomu, 2 kolon adenokarsinomu) membranöz veya sitoplazmik boyanma gösterdi.

SALL4 ile 51 seminomun tümünde (%100), 71 embriyonal karsinomun tümünde (%100), 54 yolk sak tümörün 52'sinde (%96.2), 37 teratomun 10'unda (%27), 6 koryokarsinomun 3'ünde (%50) nükleer pozitivite saptandı.

SALL4, 75 İTGHNS, 1 intratubuler seminom ve 2 intratubuler embriyonal karsinomun hepsinde (%100) nükleer pozitivite gösterdi.

SALL4 ile 51 seminomun 39'unda (%76.4) ve 71 embriyonal karsinomun 57'sinde (%80.2) tümör hücrelerinin %90'dan fazlasında (4+) nükleer pozitivite görüldü.

SALL4 ile kuvvetli nükleer boyanma, 51 seminomun 30'unda (%58.8) ve 71 embriyonal karsinomun 56'sında (%78.8) görüldü.

SALL4 ile 40 somatik tümörün (10 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomu, 10 mide adenokarsinomu, 10 kolon adenokarsinomu) sadece 1'inde (%2.5) (kolon adenokarsinomu) 3+ (tümör hücrelerinin %61-90'ında) orta şiddette sitoplazmik boyanma izlendi. SALL4 ile nükleer boyanma pozitif kabul edildiği için bu da nonspesifik bir boyanmadır.

OCT3/4, 51 seminomun tümünde (%100), 71 embriyonal karsinomun 70'inde (%98.5), 54 yolk sak tümörün 7'sinde (%12.9), 37 teratomun 7'sinde (%18.9), 6 koryokarsinomun 1'inde (%16.6) nükleer boyanma gösterdi.

OCT3/4 ile 75 İTGHNS, 2 intratubuler seminom ve 2 intratubuler embriyonal karsinomun tümünde (%100) nükleer pozitivite elde edildi.

OCT3/4, 51 seminomun 39'unda (%76.4) ve 71 embriyonal karsinomun 43'ünde (%60.5) tümör hücrelerinin %90'dan fazlasında (4+) nükleer boyanma gösterdi.

OCT3/4 ile 51 seminomun 30'unda (%58.8) ve 71 embriyonal karsinomun 32'sinde (%45) kuvvetli nükleer boyanma görüldü.

OCT3/4, 40 somatik tümörün (10 akciğer skuamöz hücreli karsinomu, 10 larenks skuamöz hücreli karsinomu, 10 mide adenokarsinomu, 10 kolon adenokarsinomu) sadece

l'inde (%2.5) (kolon adenokarsinomu) 3+ (tümör hücrelerinin %61-90'ında) orta şiddette sitoplazmik boyanma gösterdi. OCT3/4 ile nükleer boyanma pozitif kabul edildiği için bu da nonspesifik bir boyanmadır.

Bu bulgular göstermektedir ki:

OCT3/4 ile karşılaştırıldığında, SALL4 genel olarak testiküler germ hücreli tümörler için daha iyi bir belirleyicidir. Çünkü çalışmamızdaki yolk sak tümörlerin %87'sinde, koryokarsinomların %83,3'ünde OCT3/4 negatifliği görülür iken SALL4 yolk sak tümörlerin sadece %3,7'sinde, koryokarsinomların ise %50'sinde negatif saptandı.

Testiküler yolk sak tümör için SALL4, PLAP'tan daha duyarlı bir belirleyicidir. Çünkü çalışmamızda SALL4 pozitivitesi yolk sak tümörlerin %96,3'ünde saptanırken PLAP pozitivitesi %63'ünde izlendi.

Metastatik veya ekstragonadal yolk sak tümör ile germ hücreli dışı tümör ayırıcı tanısında SALL4, yolk sak tümör için oldukça spesifik bir belirleyici olabilir. Çünkü çalışmamızda somatik tümörlerin hiçbirinde SALL4 ile nükleer boyanma görülmezken yolk sak tümörlerin %96.3'ünde saptandı.

Testiküler germ hücreli tümörlerden seminom veya embriyonal karsinom histolojik tiplerinin tanısında OCT3/4 oldukça kullanışlıdır fakat seminom ve embriyonal karsinom ayırımında faydalı değildir çünkü çalışmamızda seminomların %100'ü, embriyonal karsinomların ise %98,6'sı OCT3/4 pozitif saptandı.

Ayrıca SALL4 ve OCT3/4 germ hücreli tümörlerin, germ hücreli dışı tümörlerden ayırımında yardımcı olabilir. Çünkü çalışmamızda germ hücreli dışı tümörlerin hiçbirinde SALL4 ve OCT3/4 ile nükleer pozitivite izlenmedi.

Ayırıcı tanı güçlüğü yaşanan testiküler, ekstragonadal ve metastatik GHT'lerde PLAP, SALL4 ve OCT3/4 immünohistokimyasından birlikte faydanılabilir.

Ayrıca İTGHNS, intratubuler seminom ve intratubuler embriyonal karsinomda PLAP, SALL4 ve OCT3/4 sensitivitesi %100'dür.

KAYNAKLAR

1. Zhou M, Magi-Galluzzi C. Genitourinary Pathology: A Volume in Foundations in Diagnostic Pathology Series. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier 2006;571-534.
2. Bostwick DG, Cheng L. Urologic Surgical Pathology, Second Edition. 2008;857-816.
3. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Press: Lyon 2004; 249-217.
4. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Atlas of Tumor Pathology, Third Series, Fascicle 25, Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord and Scrotum. FRCPath 1999;188-41.
5. Ro JY, Amin MB, Grignon DJ, Ayala Alberto. Atlas of Surgical Pathology of the Male Reproductive Tract 1997;147-117.
6. Cao D, Li J, Guo CC, Allan RW, Humphrey PA. SALL4 is a novel diagnostic marker for testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1065-1077.
7. Ota S, Hishinuma M, Yamauchi N, Goto A, Morikawa T, Fujimura T, Kitamura T, Kodama T, Aburatani H, Fukuyama M. Oncofetal protein glypican-3 in testicular germ-cell tumor. *Virchows Arch* 2006;449:308-314.
8. Zynger DL, Dimov ND, Luan C, Teh BT, Yang XJ. Glypican 3: a novel marker in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2006;30:1570-1575.
9. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Baldrige LA, Cheng L. OCT3/4 staining in testicular tumors: a sensitive and specific marker for testicular seminoma and embryonal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2004;28:935-940.
10. Santagata S, Ligon KL, Hornick JL. Embryonic stem cell transcription factor signatures in the diagnosis of primary and metastatic GCTs. *Am J Surg Pathol* 2007;31:836-845.
11. Hart AH, Hartley L, Parker K, İbrahim M, Looijenga LH, Pauchnik M, Chow CW, Robb L. The pluripotency homeobox gene NANOG is expressed in human GCTs. *Cancer* 2005;104:2092-2098.

12. de Jong J, Stoop H, Gills AJ, van Gurp RJ, van de Geijn GJ, Boer M, Hersmus R, Saunders PT, Anderson RA, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Differential expression of SOX17 and SOX2 in germ cells and stem cells has biological and clinical implications. *J Pathol* 2008;215:21-30.
13. Wong CC, Gaspar-Maia A, Ramalho-Santos M, Reijo Pera RA. High-efficiency stem cell fusion-mediated assay reveals Sall4 as an enhancer of reprogramming. *PLoS ONE* 2008;3:1955.
14. Loh YH, Wu Q, Chew JL, Vega VB, Zhang W, Chen X, Borgue G, George J, Leong B, Lui J, Wong KY, Sung KW, Lee CW, Zhao XD, Chiu KP, Lipovich L, Kuznetsov VA, Robson P, Stanton LW, Wei CL, Ruan Y, Lim B, Ng HH. The OCT3/4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells. *Nat Genet* 2006;38:431-440.
15. Wu Q, Chen X, Zhang J, Loh HY, Low TY, Zhang W, Sze SK, Lim B, Ng HH. Sall4 interacts with Nanog and cooccupies Nanog genomic sites in embryonic stem cells. *J Biol Chem* 2006;281:24090-24094.
16. Wang J, Rao S, Chu J, Shen X, Levasseur DN, Theunissen TW, Orkin SH. A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells. *Nature* 2006;444:364-368.
17. Zhou Q, Chipperfield H, Melton DA, Wong WH. A gene regulatory network in mouse embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:16438-16443.
18. Zhang J, Tam WL, Tong GQ, Wu Q, Chan HY, Soh BS, Lou Y, Yang J, Ma Y, Chai L, Ng HH, Lufkin T, Robson P, Lim B. Sall4 modulates embryonic stem cell pluripotency and early embryonic development by the transcriptional regulation of Pou5f1. *Nat Cell Biol* 2006;8:1114-1123.
19. Cao D, Humphrey PA, Allan RW. SALL4 is a novel sensitive and specific marker of metastatic germ cell tumors, with particular utility in detection of metastatic yolk sac tumor. *Cancer* 2009;115:2640-2651.
20. Nakatani T, Sugimura K, Naganuma T, Kamikawa S, Sugimoto T. Metastatic urinary bladder tumor from extragonadal germ cell tumor: a case report. *Oncol Rep* 2002;9:1209-1211.

21. Satake I, Tari K, Nakagomi K, Ozawa K, Kojima S, Yamamoto M, Nishumura H, Kishi K. Extragonadal germ cell tumor of retroperitoneal origin: report of 2 cases. *Jpn J Clin Oncol* 1994;24:46-50.
22. Einhorn L. Chemotherapeutic and surgical strategies for germ cell tumors. *Chest Surg Clin N Am* 2002;12:695-706.
23. Gershenson DM. Management of ovarian germ cell tumors. *J Clin Oncol* 2007;25:2938-2943.
24. Pectasides D, Pectasides E, Kassanos D. Germ cell tumors of the ovary. *Cancer Treat Rev* 2008;34:427-441.
25. Iczkowski KA, Butler SL, Shanks JH, Hossain D, Schall A, Meiers I, Zhou M, Torkko KC, Kim SJ, MacLennan GT. Trials of new germ cell immunohistochemical stains in 93 extragonadal and metastatic germ cell tumors. *Hum Pathol* 2008;39:275-281.
26. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Mann K. The value of tumor markers in testicular seminomas. Results of a prospective multicenter study. *Eur Urol* 1997;32:16-22.
27. 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* 1990;98:797-811.
28. Wick MR, Swanson PE, Manivel JC. Placental-like alkaline phosphatase reactivity in human tumors: an immunohistochemical study of 520 cases. *Hum Pathol* 1987;18:946-954.
29. Polski JM, Janney CG. Ber-H2 (CD30) immunohistochemical staining in malignant melanoma. *Mod Pathol* 1999;12:903-906.
30. Kneile JR, Tan G, Suster S, Wakely PE Jr. Expression of CD30 (Ber-H2) in nasopharyngeal carcinoma, undifferentiated type and lymphoepithelioma-like carcinoma. A comparison study with anaplastic large cell lymphoma. *Histopathology* 2006;48:855-861.
31. Berney DM, Shamash J, Pieroni K, Oliver RT. Loss of CD30 expression in metastatic embryonal carcinoma: the effects of chemotherapy? *Histopathology* 2001;39:382-385.

32. Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. Expression of the ckit protein product in carcinoma-in-situ and invasive testicular germ cell tumours. *Int J Androl* 1994;17:85-92.
33. Sever M, Jones TD, Roth LM, Karim FW, Zheng W, Michael H, Hattab EM, Emerson RE, Baldrige LA, Cheng L. Expression of C-KIT (C-kit) receptor in dysgerminoma of the ovary: diagnostic and therapeutic implications. *Mod Pathol* 2005;18:1411-1416.
34. Esheba GE, Pate LL, Longacre TA. Oncofetal protein glypican-3 distinguishes yolk sac tumor from clear cell carcinoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2008;32:600-607.
35. Jones TD, Maclennan GT, Bonnin JM, Varsegi MF, Blair JE, Cheng L. Screening for intratubular germ cell neoplasia of the testis using OCT4 immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol* 2006;30:1427-1431.
36. Emerson RE, Ulbright TM. Intratubular germ cell neoplasia of the testis and its associated cancers: the use of novel biomarkers. *Pathology* 2010;42:344-355.
37. Skakkebaek NE. Possible carcinoma-in-situ of the undescended testis. *Lancet* 1972;2:516-517.
38. Skakkebaek NE. Abnormal morphology of germ cells in two infertile men. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]* 1972;80:374-378.
39. Giwercman A, Bruun E, Frimodt-Moller C, Skakkebaek NE. Prevalence of carcinoma-in-situ and other histopathologic abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism. *J Urol* 1989;142:998-1002.
40. Giwercman A, Muller J, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the undescended testis. *Semin Urol* 1988;6:110-119.
41. Gondos B, Migliozi JA. Intratubular germ cell neoplasia. *Semin Diagn Pathol* 1987;4:292-303.
42. Krabbe S, Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Eyben VF, Volsted P, Mauritzen K, Eldrup J, Nielsen AH. High incidence of undetected neoplasia in maldescended testes. *Lancet* 1979;1:999-1000.

43. Pedersen KV, Boiesen P, Zetterlund CG. Experience of screening for carcinoma-in-situ of the testis among young men with surgically corrected maldescended testes. *Int J Androl* 1987;10:181-185.
44. Muller J, Skakkebaek NE. Testicular carcinoma in situ in children with the androgen insensitifiity (testicular feminisation) syndrome. *Br Med J* 1984;288:1419-1420.
45. Muller J, Skakkebaek NE, Ritzén M, Plöen L, Petersen KE. Carcinoma in situ of the testis in children with 45,X/46,XY gonadal dysgenesis. *J Pediatr* 1985;106:431-436.
46. Ramani P, Yeung CK, Habeebu SS. Testicular intratubuler germ cell neoplasia in children and adolescents with intersex. *Am J Surg Pathol* 1993;17:1124-1133.
47. Pryor JP, Cameron KM, Chilton CP, Ford TF, Parkinson MC, Sinokrot J, Westwood CA. Carcinoma in situ in testicular biopsies from men presenting with infertility. *Br J Urol* 1983;55:780-784.
48. Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the testis: frequency and relationship to invasive germ cell tumours in infertile men. *Histopathology* 1978;2:157-170.
49. West AB, Butler MR, Fitzpatrick J, O'Brien A. Testicular tumors in subfertile men: report of 4 cases with implications for management of patients presenting with infertility. *J Urol* 1985;133:107-109.
50. Berthelsen JG, Skakkebaek NE, von der Maase H, Sorensen BL, Mogensen P. Screening for carcinoma in situ of the contralateral testis in patients with germinal testicular cancer. *Br Med J* 1982;285:1683-1686.
51. Mumperow E, Lauke H, Holstein AF, Hartmann M. Further practical experiences in the recognition and management of carcinoma in situ of the testis. *Urol Int* 1992;48:162-166.
52. von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, Sorensen BL, Christophersen IS, Hald T, Jacobsen GK, Berthelsen JG, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Br Med J* 1986;293:1398-401.
53. Coffin CM, Ewing S, Dehner LP. Frequency of intratubuler germ cell neoplasia with invasive testicular germ cell tumors. Histologic and immunocytochemical features. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:555-559.

54. Jacobsen GK, Henriksen OB, von der Maase H. Carcinoma in situ of testicular tissue adjacent to malignant germ-cell tumors: a study of 105 cases. *Cancer* 1981;47:2660-2662.
55. Skakkebaek NE. Atypical germ cells in the adjacent "normal" tissue of testicular tumors. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]* 1975;83:127-130.
56. Gillis AJ, Looijenga LH, de Jong B, Oosterhuis JW. Clonality of combined testicular germ cell tumors of adults. *Lab Invest* 1994;71:874-878.
57. van Echten J, van Gurp RJ, Stoepker M, Looijenga LH, de Jong J, Oosterhuis W. Cytogenetic evidence that carcinoma in situ is the precursor lesion for invasive testicular germ cell tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;85:133-137.
58. Chen KT, Cheng AC. Retroperitoneal seminoma and intratubuler germ cell neoplasia. *Hum Pathol* 1989;20:493-495.
59. Dugaard G, von der Maase H, Olsen J, Rorth M, Skakkebaek NE. Carcinoma-in-situ testis in patients with assumed extragonadal germ-cell tumours. *Lancet* 1987;2:528-530.
60. Hailemariam S, Engeler DS, Bannwart F, Amin MB. Primary mediastinal germ cell tumor with intratubuler germ cell neoplasia of the testis-further support for germ cell origin of these tumors: a case report. *Cancer* 1997;79:1031-1036.
61. Eble JN. Spermatositik seminoma. *Hum Pathol* 1994;25:1035-1042.
62. Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Giwercman A, Müller J. Carcinoma in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *Int J Androl* 1987;10:19-28.
63. Hu LM, Phillipson J, Barsky SH. Intratubuler germ cell neoplasia in infantil yolk sac tumor: verification by tandem repeat sequence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* 1992;1:118-128.
64. Jorgensen N, Muller J, Visfeldt J, Givercman A, Skakkebaek NE. Infantile germ cell tumors associated with carcinoma-in-situ of the testis [Abstract]. *Onkologie* 1991;14:8.
65. Manivel JC, Reinberg Y, Niehans GA, Fraley EE. Intratubuler germ cell neoplasia in testicular teratomas and epidermoid cysts. Correlation with prognosis and possible biologic significance. *Cancer* 1989;64:715-720.

66. Manivel JC, Simonton S, Wold SE, Dehner LP. Absence of intratubular germ cell neoplasia in testicular yolk sac tumors in children. A histochemical and immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:641-645.
67. Parkinson MC, Ramani P. Intratubular germ cell neoplasia in an infantile testis. *Histopathology* 1993;23:99-100.
68. Stamp IM, Barlebo H, Rix M, Jacobsen GK. Intratubular germ cell neoplasia in an infantile testis with immature teratoma. *Histopathology* 1993;22:69-72.
69. Stamp IM, Jacobsen GK. Infant intratubular germ cell neoplasia [Letter]. *Am J Surg Pathol* 1995;19:489.
70. Kang JL, Rajpert-De Meyts E, Giwercmann A, Skakkebaek NE. The association of testicular carcinoma in situ with intratubular microcalcifications. *J Urol Pathol* 1996;2:235-242.
71. Friedman NB, Moore RA. Tumors of the testis: a report on 922 cases. *Milit Surgeon* 1946;99:573-593.
72. Kraq Jacobsen G, Barlebo H, Olsen J, Schultz HP, Starklint H, Soqaard H, Vaeth M. Testicular germ cell tumors in Denmark 1976-1980. Pathology of 1058 consecutive cases. *Acta Radiol Oncol* 1984;23:239-247.
73. Von Hochstetter AR, Hedinger CE. The differential diagnosis of testicular germ cell tumors in theory and practice: a critical analysis of two major systems of classification and review of 389 cases. *Virchows Arch [A]* 1982;396:247-277.
74. Morse MJ, Whitmore WF. Neoplasm of the testis. In: Walsh PC, Gittes RF, Perlmutter AD, Stamey TA, eds. *Campbell's urology*. Philadelphia: WB Saunders 1986;1535-1582.
75. Thackray AC, Crane WA. Seminoma. In: Pugh RC, ed. *Pathology of the testis*. Oxford: Blackwell Scientific 1976;164-198.
76. Nilson S, Anderstrom C, Hedelin H, Unsgaard B. Signs and symptoms of adult testicular tumours. *Int J Androl* 1981;4:146-152.
77. Pugh RC. Testicular tumours-introduction. In: Pugh RC, ed. *Pathology of the testis*. Oxford: Blackwell Scientific, 1976;139-159.

78. Chisolm GG. Tumour markers in testicular tumours. *Prog Clin Biol Res* 1985;203:81-91.
79. Dieckmann KP, Due W, Bauer HW. Seminoma testis with elevated serum beta-HCG-a category of germ cell cancer between seminoma and nonseminoma. *Int Urol Nephrol* 1989;21:175-184.
80. Javadpour N. The role of biologic tumor markers in testicular cancer. *Cancer* 1980;45:1755-1761.
81. Javadpour N. Tumor markers in testicular cancer-an update. *Prog Clin Biol Res* 1985;203:141-154.
82. Mann K, Siddle K. Evidence for free beta-subunit secretion in so-called human chorionic gonadotropin-positive seminoma. *Cancer* 1988;62:2378-2382.
83. Scheiber K, Mikuz G, Frommhold H, Bartsch G. Human chorionic gonadotropin positive seminoma: is this a special type of seminoma with a poor prognosis? *Prog Clin Biol Res* 1985;203:97-104.
84. Ro JY, Dexeus FH, El-Naggar A, Ayala AG. Testicular germ cell tumors. Clinically relevant pathologic findings. *Pathol Annu* 1991;26:59-87.
85. Rustin GJ, Vogelzang NJ, Sleijfer DT, Nisselbaum JN. Consensus statement on circulating tumor markers and staging patients with germ cell tumours. *Prog Clin Biol Res* 1990;357:277-284.
86. Kraq Jacobsen G, Barlebo H, Olsen J, Schultz HP, Starklint H, Soqaard H, Vaeth M. Testicular germ cell tumors in Denmark 1976-1980. Pathology of 1058 consecutive cases. *Acta Radiol Oncol* 1984;23:239-247.
87. Jacobsen GK, von der Maase H, Specht L. Histopathological features in stage I seminoma treated with orchiectomy only. *J Urol Pathol* 1995;3:85-94.
88. Mostofi FK, Sesterhenn IA. Pathology of germ cell tumors of testes. *Prog Clin Biol Res* 1985;203:1-34.
89. von Hochstetter AR, Sigg C, Saremaslani P, Hedinger C. The significance of giant cells in human testicular seminomas. A clinicopathological study. *Virchows Arch [A]* 1985;407:309-322.

90. Hustin J, Collette J, Franchimont P. Immunohistochemical demonstration of placental alkaline phosphatase in various states of testicular development and in germ cell tumours. *Int J Androl* 1987;10:29-35.
91. Manivel JC, Jessurun J, Wick MR, Dehner LP. Placental alkaline phosphatase immunoreactivity in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 1987;11:21-29.
92. Niehans GA, Manivel JC, Copland GT, Sheithauer BW, Wick MR. Immunohistochemistry of germ cell and trophoblastic neoplasms. *Cancer* 1988;62:1113-1123.
93. Uchida T, Shimoda T, Miyata H, Shikata T, Lino S, Suzuki H, Oda T, Hirano K, Sujiura M. Immunoperoxidase study of alkaline phosphatase in testicular tumor. *Cancer* 1981;48:1455-1462.
94. Burke AP, Mostofi FK. Placental alkaline phosphatase immunohistochemistry of intratubular malignant germ cells and associated testicular germ cell tumors. *Hum Pathol* 1988;19:663-670.
95. Wick MR, Swanson PE, Manivel JC. Placental-like alkaline phosphatase reactivity in human tumors: an immunohistochemical study of 520 cases. *Hum Pathol* 1987;18:946-954.
96. Ulbright TM, Roth LM. Recent developments in the pathology of germ cell tumors. *Semin Diagn Pathol* 1987;4:304-319.
97. Ulbright TM, Roth LM, Brodhecker CA. Yolk sac differentiation in germ cell tumors: a morphologic study of 50 cases with emphasis on hepatic, enteric and parietal yolk sac features. *Am J Surg Pathol* 1986;10:151-164.
98. Eble JN. Spermatocytic seminoma. *Hum Pathol* 1994;25:1035-1042.
99. Talerman A. Spermatocytic seminoma: clinicopathological study of 22 cases. *Cancer* 1980;45:2169-2176.
100. Muller J, Skakkebaek NE, Parkinson MC. The spermatocytic seminoma: views on pathogenesis. *Int J Androl* 1987;10:147-156.
101. Burke AP, Mostofi FK. Spermatocytic seminoma: a clinicopathologic study of 79 cases. *J Urol Pathol* 1993;1:21-32.

102. Scully RE. Spermatocytic seminoma of the testis: a report of 3 cases and review of the literature. *Cancer* 1961;14:788-794.
103. Ulbright TM, Young RH, Scully RE. Trophoblastic tumors of the testis other than classic choriocarcinoma : ‘‘monophasic’’ choriocarcinoma and placental site trophoblastic tumor: a report of two cases. *Am J Surg Pathol* 1997;21:282-288.
104. Young RH, Kurmann RJ, Scully RE. Proliferations and tumors of intermediate trophoblast of the placental site. *Semin Diagn Pathol* 1988;5:223-237.
105. Kilicaslan I, Gulluoglu M, Ozluk Y, Onat E, Cakir E. Prostate tissue within teratoma component of malignant mixed germ cell tumor. *Int J Surg Pathol* 2010;18:339-340.
106. Wang F, Liu A, Peng Y, Rakheja D, Wei L, Xue D, Allan RW, Molberg KH, Li J, Cao D. Diagnostic utility of SALL4 in extragonadal yolk sac tumors: an immunohistochemical study of 59 cases with comparison to placental-like alkaline phosphatase, alphafetoprotein, and glypican-3. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1529-1539.
107. Reuter D, Schuh R, Jackle H. The homeotic gene spalt (sal) evolved during *Drosophila* speciation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:5483-5486.
108. Emerson RE, Ulbright TM. Intratubular germ cell neoplasia of the testis and its associated cancers: the use of novel biomarkers. *Pathology* 2010; 42:344-355.
109. Li SS, Liu YH, Tseng CN, Chung TL, Lee TY, Singh S. Characterization and gene expression profiling of 5 new human embryonic stem cell lines derived in Taiwan. *Stem Cells Dev* 2006;15:532-555.
110. Jurgens G. Head and tail development of the *Drosophila* embryo involves spalt, a novel homeotic gene. *EMBO J* 1988;7:189-196.
111. Sakaki-Yumoto M, Kobayashi C, Sato A, Fujimura S, Matsumoto Y, Takasato M, Kodama T, Aburatani H, Asashima M, Yoshida N, Nishinakamura R. The murine homolog of SALL4, a causative gene in Okhiro syndrome, is essential for embryonic stem cell proliferation, and cooperates with Sall1 in anorectal, heart, brain and kidney development. *Development* 2006;133:3005-3013.

112. Warren M, Wang W, Spiden S, Chen-Murchie D, Tannahill D, Steel KP, Bradley A. A Sall4 mutant mouse model useful for studying the role of Sall4 in early embryonic development and organogenesis. *Genesis* 2007;45:51-58.
113. Kohlhase J, Heinrich M, Schubert L, Liebers M, Kispert A, Laccone F, Turnpenny P, Winter RM, Reardon W. Okihiro syndrome is caused by SALL4 mutations. *Hum Mol Genet* 2002;11:2979-2987.
114. Cui W, Kong NR, Ma Y, Amin HM, Lai R, Chai L. Differential expression of the novel oncogene, SALL4, in lymphoma, plasma cell myeloma, and acute lymphoblastic leukemia. *Mod Pathol* 2006;19:1585-1592.
115. Cao D, Guo S, Allan RW, Molberg KH, Peng Y. SALL4 is a novel sensitive and specific marker of ovarian primitive germ cell tumors and is particularly useful in distinguishing yolk sac tumor from clear cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2009;3:894-904.
116. Mei K, Liu A, Allan RW, Wang P, Lane Z, Abel TW, Wei L, Cheng H, Guo S, Peng Y, Rakheja D, Wang M, Ma J, Rodriguez MM, Li J, Cao D. Diagnostic utility of SALL4 in primary germ cell tumors of the central nervous system: a study of 77 cases. *Mod Pathol* 2009;22:1628-1636.
117. Liu A, Cheng L, Du J, Peng Y, Allan RW, Wei L, Li J, Cao D. Diagnostic utility of novel stem cell markers SALL4, OCT3/4, NANOG, SOX2, UTF1, and TCL1 in primary mediastinal germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2010;34:697-706.
118. Cheng L. Establishing germ cell origin for metastatic tumors using OCT3/4 immunohistochemistry. *Cancer* 2004;101:2006-2010.
123. Scholer HR, Dressler GR, Balling R, Rohdewohld H, Gruss P. Oct-4: a germline-specific transcription factor mapping to the mouse t-complex. *EMBO J* 1990;9:2185-2195.
119. Scholer HR, Dressler GR, Balling R, Rohdewohld H, Gruss P. Oct-4: a germline-specific transcription factor mapping to the mouse t-complex. *EMBO J* 1990;9:2185-2195.
120. Okamoto K, Okazawa H, Okuda A, Sakai M, Muramatsu M, Hamada H. A novel octamer binding transcription factor is differentially expressed in mouse embryonic cells. *Cell* 1990;60:461-472.

121. Rosner MH, Vigano MA, Ozato K, Timmons PM, Poirier F, Rigby PW, Staudt LM. A POU-domain transcription factor in early stem cells and germ cells of the mammalian embryo. *Nature* 1990;345:686-692.
122. Hansis C, Grifo JA, Krey LC. Oct-4 expression in inner cell mass and trophectoderm of human blastocysts. *Mol Hum Reprod* 2000;6:999-1004.
123. Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, Niva H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, Schöler H, Smith A. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor OCT3/4. *Cell* 1998;95:379-391.
124. Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet* 2000;24:372-376.
125. Biermann K, Klingmüller D, Koch A, Pietsch T, Schorle H, Büttner R, Zhou H. Diagnostic value of markers M2A, OCT3/4, AP-2c, PLAP and C-kit in the detection of extragonadal seminomas. *Histopathology* 2006;49:290-297.
126. Rosner MH, Vigano MA, Ozato K, Timmons PM, Poirier F, Rigby PW, Staudt LM. A POU-domain transcription factor in early stem cells and germ cells of the mammalian embryo. *Nature* 1990;345:686-692.
127. Scholer HR, Ruppert S, Suzuki N, Chowdhury K, Gruss P. New type of POU domain in germ line-specific protein Oct-4. *Nature* 1990;344:435-439.
128. Yeom YI, Ha HS, Balling R, Schöler HL, Artzt K. Structure, expression and chromosomal location of the Oct-4 gene. *Mech Dev* 1991;35:171-179.
129. Guillaudoux T, Mattei MG, Depetris D, Le Bouteiller P, Pontarotti P. In situ hybridization localizes the human OTF3 to chromosome 6p21.33p22 and OTF3L to 12p13. *Cytogenet Cell Genet* 1993;63:212-214.
130. Hattab EM, Tu PH, Wilson JD, Cheng L. OCT3/4 immunohistochemistry is superior to placental alkaline phosphatase (PLAP) in the diagnosis of central nervous system germinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29:368-371.
131. Saijoh Y, Fujii H, Meno C, Sato M, Hirato Y, Nagamatsu S, Ikeda M, Hamada H. Identification of putative downstream genes of Oct-3, a pluripotent cell-specific transcription factor. *Genes Cells* 1996;1:239-252.

132. Boiani M, Eckardt S, Scholer HR, McLaughlin KJ. OCT3/4 distribution and level in mouse clones: consequences for pluripotency. *Genes Dev* 2002;16:1209-1219.
133. Hansis C, Tang YX, Grifo JA, Krey LJ. Analysis of Oct-4 expression and ploidy in individual human blastomeres. *Mol Hum Reprod* 2001;7;155-161.
134. Lamb KA, Rizzino A. Effects of differentiation on the transcriptional regulation of the FGF-4 gene: critical roles played by a distal enhancer. *Mol Reprod Dev* 1998;51:218-224.
135. Tomioka M, Nishimoto M, Miyagi S, Katayanagi T, Fukui N, Niwa H, Muramatsu H, Okuda A. Identification of Sox-2 regulatory region which is under the control of Oct-3/4-Sox-2 complex. *Nucleic Acids Res* 2002;30:3202-3213.
136. Looijenga LH, Stoop H, de Leeuw HP, de Gouveia Brazao CA, Gillis AJ, van Roozendaal KE, van Zoelen EJ, Weber RF, Wolffenbuttel KP, van Dekken H, Honecker F, Bokemeyer C, Perlman EJ, Schneider DT, Kononen J, Sauter G, Oosterhuis JW . POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res* 2003;63:2244-2250.
137. Palumbo C, van Roozendaal K, Gillis AJ, van Gurp RH, de Munnik H, Oosterhuis JW, van Zoelen EJ, Looijenga LH. Expression of the PDGF alpha-receptor 1.5 kb transcript, OCT3/4, and C-kit in human normal and malignant tissues: implications for the early diagnosis of testicular germ cell tumors and for our understanding of regulatory mechanisms. *J Pathol* 2002;196:467-477.
138. Grigor KM. A new classification of germ cell tumors of the testis. *Eur Urol* 1993;23:93-100.
139. Kraft HJ, Mosselman S, Smits HA, Hohenstein P, Piek E, Chen Q, Artzt K, van Zoelen EJ. Oct-4 regulates alternative platelet-derived growth factor alpha receptor gene promoter in human embryonal carcinoma cells. *J Biol Chem* 1996;271:12873-12878.
140. Jung SM, Chu PH, Shiu TF, Wu HH, Kuo TT, Chu JJ, Lin PJ. Expression of OCT3/4 in the Primary Germ Cell Tumors and Thymoma in the Mediastinum. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006;14:273-275.

141. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Cheng L. OCT3/4: a sensitive and specific biomarker for intratubular germ cell neoplasia of the testis. *Clin Cancer Res* 2004;10:8544-8547.
142. de Jong J, Stoop H, Dohle GR, Bangma CH, Kliffen M, van Esser JW, van den Bent M, Kros JM, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Diagnostic value of OCT3/4 for pre-invasive and invasive testicular germ cell tumors. *J Pathol* 2005;206:242-249.
143. Cheng L, Thomas A, Roth LM, Zheng WM, Michael H, Abdul-Karim FW. OCT3/4: a novel marker for dysgerminoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1341-1346.
144. Cheng L, Thomas A, Roth LM, Zheng W, Michael H, Karim FW. OCT3/4: a novel biomarker for dysgerminoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1341-1346
145. Pauls K, Jager R, Weber S, Waldermann E, Koch A, Büttner R, Shorle H. Transcription factor AP-2gamma, a novel marker of gonocytes and seminomatous germ cell tumors. *Int J Cancer* 2005;115:470-477.
146. Hoei-Hansen CE, Nielsen JE, Almstrup K, Sonne SB, Graem N, Skakkabaek NE, Leffers H, Rajpert-De Meyts E. Transcription factor AP-2gamma is a developmentally regulated marker of testicular carcinoma in situ and germ cell tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10:8521-8530.
147. Epenetos AA, Travers P, Gatter KC, Oliver RD, Mason DY, Bodmer WF. An immunohistological study of testicular germ cell tumors using two different monoclonal antibodies against placental alkaline phosphatase. *Br J Cancer* 1984;49:11-15.
148. Budger KS, Sussman HH. Structural evidence that human liver and placental alkaline phosphatase isoenzymes are coded by different genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976;73:2201-2205
149. Fishman L, Migayama H, Driscoll SG, Fishman WH. Developmental phase-specific alkaline phosphatase isoenzymes of human placenta and their occurrence in human cancer. *Cancer Res* 1976;36:2268-2273.
150. Nathanson L, Fishman WH. New observation on the Regan isoenzyme of alkaline phosphatase in cancer patients. *Cancer* 1971;27:1388-1397.

151. Stolbach LL, Krant MJ, Fishman WJ. Ectopic production of an alkaline phosphatase isoenzyme in patients with cancer. *N Engl J Med* 1969;281:757-762.
152. Nouwen EJ, Hendrix PG, Dauwe S, Eerdekens MW, De Broe ME. Tumor belirleyicis in the human ovary and its neoplasms. A comparative immunohistochemical study. *Am J Pathol* 1987;126:230-242.
153. Nouwen EJ, Pollet DE, Eerdekens MW, Hendrix PG, Briers TW, De Broe ME. Immunohistochemical localization of placental alkaline phosphatase, carcinoembryonic antigen, and cancer antigen 125 in normal and neoplastic human lung. *Cancer Res* 1986;46:866-876.
154. Nouwen EJ, Pollet DE, Schelstraete JB, et al. Human placental alkaline phosphatase in benign and malignant ovarian neoplasia. *Cancer Res* 1985;45:892-902.
155. Shikata H, Noguchi M, Utsumi N, Suzuki K, Ushiyama H, Uchida T, Shikata T, Lino S, Hirano K. Immunoperoxidase investigation of Regan isoenzyme of alkaline phosphatase in maxillary sinus carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:356-361.
156. Skinner JM, Whitehead R. Carcinoplacental alkaline phosphatase in malignant and premalignant conditions of the human digestive tract. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1981;394:109-118.
157. Sunderland CA, Davies JO, Stirrat GM. Immunohistology of normal and ovarian cancer tissue with a monoclonal antibody to placental alkaline phosphatase. *Cancer Res* 1984;44:4496-4502.
158. Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update* 2006;12:303-323.
159. Manivel JC, Jessurun J, Wick MR, Dehner LP. Placental alkaline phosphatase immunoreactivity in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 1987;11:21-29.
160. Hustin J, Collettee J, Franchimont P. Immunohistochemical demonstration of placental alkaline phosphatase in various states of testicular development and in germ cell tumors. *Int J Androl* 1987;10:29-35.

161. Garner MJ, Turner MC, Ghadirian P, Krewski D. Epidemiology of testicular cancer: an overview. *Int. J. Cancer* 2005;116:331-339.
162. De Giorgi U, Papiani G, Severini G, Fiorentini G, Marangolo M, Rosti G. High-dose chemotherapy in adult patients with germ cell tumors. *Cancer Control* 2003;10:48-56.
163. Schmoll HJ. Extragonadal germ cell tumors. *Ann Oncol* 2002;13:265-272.
164. Bokemeyer C, Nichols CR, Droz JP, Schmoll HJ, Horwich A, Gerl A, Fossa SD, Beyer 118, Pont J, Kanz L, Einhorn L, Hartmann J. Extragonadal germ cell tumors of the mediastinum and retroperitoneum: results from an international analysis. *J Clin Oncol* 2002;20:1864-1873.
165. Periments P, Athanasopoulos A, Geraghty J, Macdonagh R. Retroperitoneal seminoma with 'burned out' phenomenon in the testis. *Int J Urol* 2005;12; 115-116.
166. Scholz M, Zehender M, Thalmann GN, Borner M, Thoni H, Studer UE. Extragonadal retroperitoneal germ cell tumor : evidence of origin in the testis. *Ann Oncol* 2002;13:121-124.
167. Biermann K, Klingmüller D, Koch A, Pietsch T, Schorle H, Büttner R, Zhou H. Diagnostic value of markers M2A, OCT3/4, AP-2 γ , PLAP and C-kit in the detection of extragonadal seminomas. *Histopathology* 2006;49:290-297.
168. Kneile JR, Tan G, Suster S, Wakely PE Jr. Expression of CD30 (Ber-H2) in nasopharyngeal carcinoma, undifferentiated type and lymphoepitelyoma-like carcinoma. A comparison study with anaplastic large cell lymphoma. *Histopathology* 2006;48:855-861.
169. Berney DM, Shamash J, Pieroni K, Oliver RT. Loss of CD30 expression in metastatic embryonal carcinoma: the effects of chemotherapy? *Histopathology* 2001;39:382-385.
170. Rajpert-De Meyers E, Skakkebaek NE. Expression of the C-kit protein product carcinoma in-situ and invasive testicular germ cell tumours. *Int J Androl* 1994;17:85-92.
171. Sever M, Jones TD, Roth LM, Karim FW, Zheng W, Michael H, Hattab EM, Emerson RE, Baldrige LA, Cheng L. Expression of CD177 (C-kit) receptor in dysgerminoma of the ovary: diagnostic and therapeutic implications. *Mod Pathol* 2005;18:1411-1416.
172. Masson P. Etude sur le seminome. *Rev Canad Biol* 1946;5:361-387.

173. Eglen DE, Ulbright TM. The differential diagnosis of yolk sac tumor and seminoma. Usefulness of cytokeratin, alphafetoprotein, and alpha-1-antitrypsin immunoperoxidase reactions. *Am J Clin Pathol* 1987;88:328-332.
174. Jacobsen GK, Norgaard-Pedersen B. Placental alkaline phosphatase in testicular germ cell tumours and in carcinoma-in-situ of the testis. An immunohistochemical study. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand (A)* 1984;92:323-329.
175. Mostofi FK. Histological change ostensibly induced by therapy in the metastasis of GCTs of testis. *Prog Clin Biol Res* 1985;203:47-60.
176. Honecker F, Oosterhuis JW, Mayer F, Hartmann JT, Bokemeyer C, Looijenga LH. New insights into the pathology and molecular biology of human germ cell tumors. *World J Urol* 2004;22:15-24.
177. Yang J, Chai L, Gao C, Fowles TC, Alipio Z, Dang H, Xu D, Fink LM, Ward DC, Ma Y. SALL4 is a key regulator of survival and apoptosis in human leukemic cells. *Blood* 2008;112:805-813.
178. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Cheng L. OCT4: a sensitive and specific biomarker for intratubular germ cell neoplasia of the testis. *Clin Cancer Res* 2004;10:8544-8547.
179. de Jong J, Stoop H, Dohle GR, Bangma CH, Kliffen M, van Esser JW, van den Bent M, Kros JM, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Diagnostic value of OCT3/4 for preinvasive and invasive testicular germ cell tumors. *J Pathol* 2005;206:242-249.
180. Looijenga LH, Stoop H, de Leeuw HP, de Gouveia Brazao CA, Gillis AJ, van Roozendaal KE, van Zoelen EJ, Weber RF, Wolffenbuttel KP, van Dekken H, Honecker F, Bokemeyer C, Perlman EJ, Scheiner DT, Kononen J, Sauter G, Oosterhuis JW. POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res* 2003;63:2244-2250.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Elif ONAT

Doğum tarihi ve yeri: 07.03.1981, İzmir/BORNOVA

Mezun olduğu ilkokul: Kocagözoğlu İlkokulu (1988-1993)

Mezun olduğu ortaokul-lise: Söke Hilmi Fırat Anadolu Lisesi (1993-1999)

Mezun olduğu üniversite: Trakya Üniversitesi Trakya Tıp Fakültesi (1999-2005)

İlk görev yeri : Muş Hasköy Düzkışla Sağlık Ocağı (2005-2007)

Uzmanlık eğitimi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı (2007-2011)

E-posta adresi: dreonat@hotmail.com