



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNDE MASPİN EKSPRESYONUNUN
YERİ VE ANJİYOGENEZİS FAKTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR.HÜSEYİN ÇELİK

ANKARA-2010

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNDE MASPİN EKSPRESYONUNUN
YERİ VE ANJİYOGENEZİS FAKTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR.Ç.LEVENT PEŞKİRCİOĞLU

ÖZET

AMAÇ: testiküler germ hücreli tümörler (TGHT) 15-40 yaş arası erkeklerde en sık görülen solid tümörlerdir. germ hücreli tümörlerin patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber, moleküler çalışmalarda genetik değişiklikler ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. maspin serin süper ailesine ait bir serin proteaz inhibitörüdür. maspin ekspresyonu meme, prostat ve kolon kanserleri gibi bazı tümörlerde azalırken, pankreas, over ve mide kanserlerinde artmaktadır. bu çalışmada tght ile maspin ve diğer prognostik faktörler (vegf, p53, ki-67, cd31) arasındaki ilişki araştırıldı.

MATERİAL VE METOD: Testis tümörü nedeniyle orşiektomi yapıp, germ hücreli tümör tanısı alan 32 hastanın (14 seminom, 18 seminom dışı germ hücreli tümör) orşiektomi materyali olan parafin blokları çalışma kapsamına alındı. çalışma grubuna dahil edilen olguların örnekleri yeniden ışık mikroskobunda incelendi. kullanılan kromojen nedeniyle kahverengi- turuncu boyanma pozitif kabul edildi.

SONUÇLAR: Seminom olgularının yalnızca 1 tanesinde maspin pozitif bulunurken, seminom dışı germ hücreli tümörlerden (sdght) 6'sında maspin pozitif boyandı. maspin ile tümör evresi, boyutu ve afp değerleri arasında istatistiksel fark saptanmadı. ayrıca maspin ile vegf, ki-67 ve cd31 arasında da anlamlı fark yoktu. sadece maspin ile p53 arasında sdght'lerde istatistiksel olarak pozitif korelasyon saptandı ($p<0,001$).

YORUM: bazı tümörlerde eksprese edilmesi kötü bir prognostik faktör olarak kabul edilen maspin proteini germ hücreli testis tümörlerin de eksprese edilmektedir. ancak, çalışmamıza göre bu proteinin testis tümörlerinde iyi veya kötü prognostik faktör olduğunu söylemek ve etki mekanizmasının nasıl olduğunu anlamak güçtür. sdght'lerde maspin ile p53 arasında pozitif ilişki olması, maspin'in p53 yolağı üzerinden etki göstermiş olabileceğini düşündürmektedir.

İNGİLİZCE ÖZET

Background/aim: We aimed to evaluate the importance of maspin expression in testicular tumors with germ cells, its effect on prognosis, and the relation with angiogenesis factors.

Materials and methods: The paraffin blocks of the orchiectomy materials of 32 patients who had undergone orchiectomy due to testicular tumors were taken within the scope of the study. The specimens of the cases included in the study group were reexamined under light microscope.

Results: While just one maspin-positive sample was found in the seminoma cases, maspin stained positively in 6 of the nonseminoms germ cell tumors (NSGCTs). No statistical difference was found between maspin and tumor stage, size, alpha fetoprotein values, vascular endothelial growth factor, Ki-67, and CD31. A statistically positive correlation was only determined between maspin and p53 ($P < 0.001$).

Conclusion: Maspin protein, whose expression in some tumors is accepted as a poor prognostic factor, is also expressed in testicular tumors with germ cells. However, according to our study, it is difficult to say whether this protein is a favorable or poor prognostic factor in testicular tumors and to understand how the effect mechanism works. The positive correlation between maspin and p53 in the NSGCTs makes us think that maspin might have displayed an effect on the p53 pathway.

GENEL BİLGİLER

1. TESTİS TÜMÖRLERİ

1.1. EPİDEMİYOLOJİ

Testis tümörleri 100.000 erkekte 6-11 oranında görülen ve göreceli olarak nadir görülmelerine karşın, 15-35 yaş arasındaki erkeklerde en sık görülen solid tümörlerdir. Tüm ürolojik tümörlerin %5'ini oluşturur. Diğer kanser tiplerinden farklı olarak yaşla birlikte insidansları artmamaktadır (1). Testis tümörlerinin insidansı ülkeler, ırklar ve sosyoekonomik sınıflar arasında belirgin değişiklikler gösterebilmektedir. Avrupa'da yaşa uyarlanmış yıllık insidans 100.000'de 4.6 (güney) ile 7.3 (batı) arasında değişmekte iken, Amerikalı beyazlarda yaşam boyu testis tümörü görülme oranı %0.2 ya da 1/500 kadardır (2). Avrupa'da en yüksek testis kanseri oranları İskandinav ülkelerinde olup, Norveç ve Danimarka testis kanseri insidansı en yüksek Avrupa ülkeleridir (3,4).

1.1a. Testis tümörü insidansını etkileyen faktörler

- *Yaş*; 45 yaş altı görülen tümörlerin %17'sinin sebebi testis tümörleri olup, testis tümörlerinin de %90'ı bu yaş grubunda bulunmaktadır (1). En sık görülen histolojik tip olan seminom 35-40 yaşlar arası pik yaparken, embriyonel karsinom ve teratokarsinom 25-35 yaşları arasında, koriokarsinom 20-30 yaşları arasında, yolk sac tümörleri ise erken çocukluk döneminde sık görülmektedir.

- *İrk*; Beyaz ırkta görülme riski daha fazla olmasına karşın, siyah ırkta testis tümörü gelişme riski daha düşüktür (2).

- *Sosyo-ekonomik düzey*; Finlandiya'da yapılan bir çalışmada testis tümörü insidansının sosyoekonomik düzeyi yüksek olanlarda, sosyoekonomik düzeyi düşük olanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür (5). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da lise ve daha üst eğitim alanlarında ve yıllık geliri orta düzeyin üstünde olanlarda daha sık görüldüğü ortaya konulmuştur (6).

- *Beslenme*; Araştırmalar sonucunda testis tümörü insidansının süt ve süt ürünlerinin fazla tüketilmesi ile çok yakın ilişki gösterdiği bulunmuştur (7).

- *Lateralite ve Bilateralite*; Testis tümörlerinin yaklaşık olarak % 2-3'ü bilateral olup, bu tümörlerin %50'inde tek ya da çift taraflı inmemiş testis öyküsü bulunmaktadır (8). Bilateral testis tümörleri eşzamanlı (senkron) ya da farklı zamanlarda (metakron) ortaya

çıkabilir. En sık bilateral olan testis tümörü seminomlardır. Ancak en sık rastlanılan bilateral tümör lenfomadır.

- *Genetik*; Günümüze kadar testis tümörünün herhangi bir herediter kanser sendromuyla ilişkisi gösterilememiştir. Testis tümörü bulunan ailelerdeki hastalarda tanı, sporadik olanlara göre daha erken yaşta olmakta ve sıklıkla her iki testis birlikte etkilenmektedir (9). Yapılan bazı çalışmalarda kromozom 1,4,5,14 ve 18'in testis tümörü ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (10). Ancak şimdiye kadar ailesel ilişki gösteren gen topluluğu tesbit edilmemiştir.

1.2. ETİYOLOJİ ve RİSK FAKTÖRLERİ

Testis tümörlerinin bilinen kesin bir nedeni olmamasına rağmen, hem konjenital hem de edinsel faktörlerin tümör gelişiminde önemli rolü olduğu bilinmektedir. Kanıta dayalı tip esasları kapsamında değerlendirildiğinde en güçlü risk faktörü kriptorşidizmdir (kanıt düzey I). Kriptorşidizm (inmemiş testis) ile ilgili ilk kontrollü çalışmalar 1940 ve 1942 yıllarında yapılmış ve kriptorşidizm bulunanlarda testis germ hücreli tümörü için rölatif risk olduğu belirtilmiştir (11,12). Sonraki yıllarda geniş serilerle elde edilen bilgiler sonucunda, testis tümörlü hastaların yaklaşık %7-10'unda daha önce bir kriptorşidizm öyküsü olduğunu gösterilmiştir (13). Kriptorşidizmde tümör gelişiminde rol oynayan muhtemel bazı faktörler bulunmaktadır. Bunlar; anormal germ hücre morfolojisi, ısıнын artması, kan akımının bozulması, endokrin fonksiyon bozukluğu ve gonadal disgenezidir. İnmemiş testisin skrotum içine indirilmesi (orşiopeksi), muayene ve tümör tanımlanmasını kolaylaştırmakla beraber malignite potansiyelini değiştirmemektedir (14).

Testis germ hücreli tümör için bir diğer risk faktörü aile öyküsüdür. Testis tümörlü bir hastanın birinci derece akrabasında tümör gelişmesi için rölatif risk 3-10'dur. Eğer birinci derece akraba babadan ziyade, erkek kardeş ise bu risk daha fazladır. Son zamanlarda bu hastalarda kromozom Xq27 üzerinde bazı genlerde değişiklikler tesbit edilmiştir (15,16). Skrotal travma, tümöre sebep olmaktan çok testisi büyüttüğü için hemen tıbbi değerlendirme ve dolayısı ile mevcut tümörün erken tanısına olanak sağlamaktadır. Nonspesifik veya kabakulak enfeksiyonu ile ilişkili testis atrofisinin lokal hormonal dengesizliklere yol açarak malign formasyona neden olduğu düşünülmektedir (17).

Son zamanlarda testis tümörleri patogeneğinde hormonların etkisi ve özellikle östrojen üzerinde durulmaktadır. Gebelik sırasında dietilstilbestron veya östrojen içeren oral kontraseptif kullanan kadınların erkek çocuklarında desensus anomalileri ve disgenezise

rastlanmış ve bu annelerin erkek çocuklarında testis tümörü gelişme insidansının %2.8-5.3 oranında arttığı gösterilmiştir (18,19).

Testiküler mikrolithiazis (TM), eksta veya intratübüler yerleşimli çok sayıda küçük kalsifikasyonların varlığıyla seyreden bir patolojidir. Ekstratübüler TM gonadal disgenezi, kriptorşidizm gibi testisin erken gelişim dönemlerindeki patolojilerle birliktelik gösterirken, daha sık görülen intratübüler TM infertilite ve tümörlerde daha sık olarak karşımıza çıkmaktadır (20).

1.3. KLİNİK BULGULAR

1.3a. Bulgular ve Semptomlar

Testis tümörünün en sık görülen belirtisi testiste bir nodül veya ağrısız şişmedir. Hastaların yaklaşık %30-40'ında künt bir ağrı ya da karın alt kısmı, skrotum veya anal bölgede bir ağırlık hissinden şikayet ederler. Ağrı %10 hastada akut olabilir. Daha nadir bir olasılıkla infertilite şikayeti ile muayene edilen hastada insidental olarak testis tümörü görülebilir. Hastaların %10'unda ilk belirti metastaza ait olabilir. Bunlar arasında boyunda bir kitle (supraklavikular lenf nodu metastazı), öksürük ve dispne (akciğer metastazı), iştahsızlık, bulantı, kusma ve kanama (retroperitoneal metastaz), lumbal sırt ağrıları (sinir köklerini tutan büyük retroperitoneal kitle), santral ve periferik sinir sistemi belirtileri, kemik ağrıları (iskelet sistemi metastazı) ya da bilateral alt ekstremitte ödemi (iliyak ya da vena kava obstrüksiyonu) sayılabilir (8,21).

1.3b. Fizik Muayene

Testisin fizik muayenesinde hasta ayakta olmalı, öncelikle sağlam olan testisten başlanmalı, ve bimanuel olarak muayene yapılmalıdır. Normal testis kıvamı homojendir, rahat hareket eder ve epididimden ayrımı kolaydır. Tunika albugineadaki bir sertlik, fiksasyon varlığı, genişlemiş testis, nodül bulunması veya kitlenin varlığı testis tümörü belirtisidir. Tümör şüphesinde muhtemel yayılım ihtimalinden dolayı kord, skrotum ve cilt muayene edilmelidir. Seminom genellikle testis içinde yayılmaya meyilli olup, ağrısız, lastik kıvamında şişlik ile karakterize iken, embriyonel karsinom ve teratomda testisin her yerinde irregüler kitleler vardır.

1.3c. Ayırıcı Tanı

Testiste kitlenin ayırıcı tanısında testis torsiyonu, epididimit, epididimoorşit mutlaka hatırlanmalıdır. Hidrozel, inguinal herni, hematom, spermatosel ve sifilitik gom ayırıcı tanıda düşünülecek diğer skrotal şişlik sebepleridir. Solid, sert intratestikiler bir kitle aksi ispatlanana kadar testis tümörü olarak kabul edilmelidir. Tanıda şüphe varsa veya hidrozel eşlik ediyorsa zaman kaybetmeden ilave görüntüleme yöntemlerinden yararlanılarak bir sonuca ulaşılmalıdır. Gecikme süresi uzadıkça hastanın evresinde ilerleme olacağı unutulmamalıdır (22).

1.3d. Skrotal Ultrasonografi

Testis tümörü şüphesi olan bir hastada skrotal ultrasonografiye (USG) fizik muayenenin devamı olarak bakılmalıdır. Tunika albuginea içerisindeki hipoeoik alan tümör için şüphelidir. Hidrozel gibi testisin palpasyonunu engelleyici durumlarda bile testis parankiminin USG muayenesi rahatlıkla yapılabilmektedir. USG ile epididimit ayırıcı tanısı yapılarak tanıdaki gecikme önlenir. USG ucuz bir testtir ancak testiküler tümörün varlığı klinik olarak belirgin ise yapılması gereksizdir (23). Günümüzde tanısal USG testis tümörü varlığını kesinleştirmek ve karşı taraf testisin değerlendirilmesi amacıyla yapılmaktadır (24).

1.4. HİSTOPATOLOJİ

Testis tümörlerinin sınıflandırılması için halen Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2004 yılında son güncellemeleri yapılan patolojik sınıflama kullanılmaktadır.

1. Germ hücreli tümörler

- İntratübüler germ hücreli neoplazi
- Seminom (sinsisyotrofoblastik hücreli olgular dahil)
- Spermatositik seminom (sarkomatöz içerik varsa belirtilir)
- Embriyonal karsinom
- Yolk sak tümörü
- Koryokarsinom
- Teratom (matür, immatür, malin içerikli)
- Birden fazla histolojik tipi olan tümörler (her tip % olarak belirtilir)

2. Seks kord/gonadal stromal tümörler

- Leydig hücreli tümör
- Malign Leydig hücreli tümör
- Sertoli hücreli tümör

- lipidden zengin tip
- sklerozan tip
- kalsifiye büyük hücreli tip
- Malign Sertoli hücreli tümör
- Granüloza hücreli tümör
 - erişkin tip
 - juvenil tip
- Tekoma/fibroma grubu tümörler
- Diğer seks kord/gonadal stromal tümörler
 - tam diferansiye olmamış
 - karışık
- Germ hücreli ve seks kord/gonadal stromal yapıları beraber içeren tümörler (gonadoblastoma)

3. Çeşitli özgül olmayan stromal tümörler

- Ovaryan epitelyal tümörler
- Toplayıcı duktuslar ve rete testis tümörleri
- Hematopoetik tümörler
- Paratestiküler tümörler
- Mezenkimal tümörler
- Sekonder tümörler

1.4.1. GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER

1.4.1a. Seminom

En sık görülen germ hücreli tümördür (GHT) ve GHT'lerin yarısından fazlasını oluşturur. Daha çok 30 yaş civarında görülür. Yüzde 10-15'inde sinsityotroblastik hücreler görülür. Seminomlardaki hCG üretimi içerdiği sinsityotroblastik hücrelerle denklik göstermektedir.

Makroskopik olarak testis genellikle büyüktür. Seminomun kesit yüzeyi gri beyazdan soluk pembe ve hatta kanama olursa kırmızıya kadar değişen renkte, yumuşak kıvamlı, homojen lobüler yapıda iyi sınırlı kitle şeklindedir. Tümörün ana kitlesinden ayrı nodüller görülebilir ve bazen makroskopik olarak ayrı çok sayıda nodüllerden meydana gelir ve multinodüler bir görünüm verebilir. Nekroz genellikle fokaldır; fakat yaygın da olabilir. Kist formasyonu ve kanama gibi epididim ve spermatik kord içine yayılım da nadirdir (8,25).

Mikroskopide tipik olarak lenfositlerle infiltrate alveolar çatı izlenimini veren, ince fibröz septumlarla ayrılmış uniform görünümlü ya da kordon ve kümeler şeklinde düzenlenmiş hücrelerden oluşur. Hücre grupları, lenfosit içeren fibrovasküler septa ile ayrılır. Granüloamatöz reaksiyon ve fibrozis sık görülür ve bazı olgularda çok abartılı olup tümörün görünmesine engel olabilir (25,26).

Seminomlarda bazen hücreler daha yoğun, eozinofilik sitoplazmalı izlenir ve hücreler ile nükleusları kalabalıklaşmış, üst üste binmiş olarak gözüktür. Bu durum özellikle embriyonel karsinom ile karışır. Beyaz veya papiller şekilde herhangi bir epitelyal farklılaşma embriyonel karsinom lehinedir. Ayrımın yapılamadığı durumlarda, CD30 ve keratin (AE1/AE3) immunohistokimyası önemlidir. Embriyonel karsinom her iki belirleyici ile yaygın olarak boyanır (27). Seminomların hemen hepsi PLAP ve CD117 (c-kit) ile boyanır. Boyanma genellikle membranöz özelliktedir. Buna karşılık AFP, CD30 ve keratin boyanmazlar veya boyanma çok hafif ve fokaldır (26). Ayrıca seminomlar vimentin, ferritin, anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) pozitiflerdir.

1.4.1b. Embriyonel Karsinom

Embriyonel karsinomun saf formu seyrek görülmekte olup, GHT'lerin %2-10'unu oluşturur. Genellikle mikst tip GHT'lerin bir komponenti olarak karşımıza çıkar ve mikst GHT'lerin %87'inde bulunur (28). En sık 2-3. dekatta gözlenir. Saf embriyonel karsinomda AFP yükselmez. İleri evre hastalıklarda serum LDH yükselebilir.

Makroskopik olarak soluk gri renkte, keskin sınırlı olmayan, kanamalı ve nekrotik alanlar içeren genellikle 2-3 cm çapında bir kitle şeklindedir. Bazen iyi sınırlı kist ve yarıklar içerebilir (26,27).

Mikroskopik incelemede nodüler hücre kümeleri ve nekroz tipiktir. Bu nodüllerde stromal çatı içeren papiller yapılar, yarıklar içeren epitelyal kümeler şeklinde paternler gösterebilir. Solid formunda stroma değişkendir; tümörün periferinde daha yoğundur; sıklıkla fibröz yapıdadır. Arada dejenere görünümde hücreler bulunur. Solid paternde bu hücreler yanlışlıkla sinsityotrofoblast olarak değerlendirilir ve koryokarsinomla karışabilir. Hemoraji ile birlikte değilse, immunohistokimyasal çalışmada human koryonik gonadotropin (HCG) negatifliği ile ayırıcı tanı yapılır. Embriyonel karsinomun "çift tabaka" olarak isimlendirilen paterni, yassı şekilli neoplastik hücrelere paralel geniş hücre şeritleri şeklindedir. Bu yassı hücrelerde kuvvetli alfa-fetoprotein (AFP) pozitifliği, embriyonel karsinom ve yolk kesesi tümörü birlikteliğini destekleyen bir bulgudur (25). İmmunohistokimya ile embriyonel karsinom hücreleri serum AFP normal olmasına rağmen AFP pozitif boyanabilir. Ayrıca

keratin, CD30 ve fokal olarak PLAP boyanırlar. EMA, CEA, vimentin ve CD117 ile boyanma elde edilemez (29).

1.4.1c. Yolk Sak Tümörü (Endodermal Sinüs Tümörü)

Saf yolk sak tümörleri çocuklarda en sık görülen tümörler olup, ortalama 17-18'inci aylarda izlenir. Erişkinlerde ise miks GHT'ün komponenti olarak ortaya çıkar ve non-seminomatöz germ hücreli tümörlerin %40-50'ini oluşturur (25,27). Bu tümörlerin varlığında serum AFP düzeyi %95-100 oranında yüksek saptanır.

Makroskopik olarak yaş gruplarına göre farklılık gösterir. Çocuklarda sarımsı kahverengi, homojen, solid, kesiti miksoid görünümde kistik alanlar da içerebilen nodül şeklindedir. Erişkinde genelde mikst germ hücreli tümörün komponenti olarak görüldüğünden sıklıkla kanama, nekroz ve kistik alanlar içeren heterojen görünümde (30).

Yolk kesesi tümörünün endodermal sinüs (perivasküler), retiküler (mikrokistik, bal peteği), papiller, solid, glandüler/alveoler, miksomatöz, sarkomatoid, makrokistik, poliveziküler vitellin, hepatoid ve paryetal olmak üzere çok sayıda mikroskopik tipi tanımlanmıştır. Endodermal sinüs paterninde mezenkim içerisinde bir damar etrafında kuboidal-kolümnar malign hücreler vardır ve kistik boşluğa doğru girinti yapar. Bu yapıya glomerüloid veya Schiller-Duval cismi denir.

İmmunohistokimya ile %55-100 olguda AFP ile yama tarzında intrastoplazmik boyanma saptanır. Pediatrik olgularda ise AFP ile boyanma olmaz. Enterik glandüler yamalar CEA ile boyanır. Yüzde 50 olguda $\alpha 1$ antitripsin, %40-85 olguda PLAP ile boyanır. Sitokeratin ile diffüz boyanma izlenirken, stromal komponent vimentin ile boyanır. EMA ile genellikle boyanmaz (26,28).

1.4.1d. Koryokarsinom

Saf olarak testis tümörlerinin %1'inden daha azını oluştururken, %8-16 oranında miks GHT'lerinin bir komponenti olarak bulunur. Koryokarsinomlu hastalar genellikle 25-30 yaşları arasındaki gençlerdir. Saf formu, sıklıkla testiste primeri görülmeden metastatik hastalık olarak ortaya çıkar. Hastalarda tipik olarak hCG seviyesi çok yükselmiştir. Leydig hücre hiperplazisi, jinekomasti, hipertiroidizm gelişebilir (25,26,29).

Makroskopik olarak tipik görünümü hemorajik nodül şeklinde küçük bir odak olup, testisi büyütmez. Tümörün kesit yüzeyi kanamalı, ortası nekrotiktir. Nadiren primer tümör tam regrese olarak geriye sadece hemosiderin pigmenti içeren skar ("burned-out" tümör) bırakabilir (30,31).

Mikroskopik incelemede santralde kanama ve nekroz, çevresinde mononükleer sitotrofoblastlar, “intermediate” trofoblastlar ve sinsityotrofoblastlardan oluşan 3 hücre grubu vardır (27,31). Sinsityotrofoblastik hücreler sıklıkla multinükleer koyu eozinofilik ya da amfofilik sitoplazmalı, tipik olarak birkaç büyük, irregüler şekilli, hiperkromatik ve sıklıkla benekli görünümlü nükleus içerirler. Sitotrofoblastik hücreler soluk berrak sitoplazmalı, tek, irregüler nükleuslu, bir veya iki belirgin nükleollüdür. İntermediate trofoblastik hücreler eozinofilik berrak sitoplazmalı, tek nükleusludur; bunlar sitotrofoblastik hücrelerden büyüktür (26,29).

İmmunohistokimya boyamada sinsityotrofoblastik hücreler HCG için kuvvetli immunoreaktiftir. PLAP %50, CEA %25 olguda boyanır. Sitokeratin 7, 8, 18, 19 ve EMA ile de boyanma saptanır. GHT’lerin diğerleri sitokeratin 7 ile boyanmaz. İntermediate trofoblastlar HPL ile boyanırlar (30,32).

1.4.1e. Teratom

Puberte öncesi dönemde %14 oranında ve saf olarak izlenirken pik yaş 2 civarındır. Erişkinlerde daha çok 20-40 yaşları arasında görülürken sıklıkla mikst GHT’ün bir komponenti olarak rastlanır (%50). Çocukluk çağı testis tümörleri arasında yolk kesesi tümöründen sonra en sık görülen ikinci tümör olan teratom bu grupta genellikle saf matür teratom şeklinde ortaya çıkar. Erişkinde ise saf matür teratom formu % 2.7-7 arasında oldukça nadirdir. Prepubertal testiküler teratomlar benignidir; benzer morfolojiye sahip postpubertal testiküler teratomlar ise matürite veya immatüritesine bakılmaksızın maligndir (27,29,33).

Makroskopik görünümleri içerdiği komponentlerin matür ya da immatür olmasına göre değişiklik gösterir. Tümör nodüler ve serttir. Kesit yüzeyi gelişen doku tipine bağlı olarak solid ve kistik alanlar ile heterojen görünümündedir. Kıkırdak, kemik ve pigmente alanlar tanımlanabilir (33).

Mikroskopik olarak germinal tabakanın endoderm, ektoderm, mezoderm olmak üzere farklı elemanlarından gelişen birkaç doku içerir. En sık nöroglial doku, kıkırdak ve çeşitli tip epitelyal dokular olmak üzere tüm doku tipleri görülebilir.

İmmatür teratom, embriyonik ve fetal gelişimde görülen dokuları içeren teratomlara verilen isimdir. İmmatür elemanlar nöro-epitel, blastematöz dokular, embriyonik tubuller ya da rabdomiyoblastik hücreler gibi yüksek grade’li immatür dokulardan oluştuğunda kolayca tanınabilmektedir. Düşük gradeli immatür elemanlar hipersellüler ya da miksomatöz hiposellüler mezenkimden oluşmaktadır (25). Teratomlarda immunohistokimya dokulara göre

farklılık gösterir. İntestinal yapılar AFP ile, trofoblastik hücreler HCG ile, glandüler yapılar ise PLAP ile boyanır (34).

1.4.2. MİKST GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER

Birden fazla GHT'ün farklı kombinasyonlarından meydana gelen tümörlerdir. Hemen her kombinasyon teorik olarak mümkündür. En sık kombinasyonlar sıklık sırası ile; embriyonel karsinom + teratom (%26), embriyonel karsinom + seminom (%16), embriyonel karsinom + yolk sak tümörü + teratom (%11), embriyonel karsinom + teratom + koryokarsinom, embriyonel karsinom + seminom, teratom + seminom şeklinde gitmektedir (35). Yalnız spermatositik seminom, diğer germ hücreli tümörler ile birlikte görülmez. Embriyonel karsinom + teratom kombinasyonuna *teratokarsinom* denilmiş olmakla beraber bugün artık kullanımı önerilmemektedir. Ortalama görülme yaşı 30'dur, puberte öncesi nadirdir. AFP ve HCG sıklıkla yüksektir (26,29).

Makroskopik olarak testis büyümüştür, kesit yüzeyi heterojendir. Solid alanlar kanama ve nekroz içerir. Kistik alanlar teratomatöz yapılara tekabül eder. Mikroskopik olarak germ hücreli tümörlerin çeşitli kombinasyonlarından oluşur. Tanıda tüm komponentlerin varlığı ve miktarı belirtilmelidir.

1.5. TÜMÖR BELİRTEÇLERİ

Tümör belirleyicileri, malign hücrelerin biyolojik davranışlarını belirleyerek normal hücrelerden ayırımında yardımcı olduğu düşünülmektedir. Tümör belirteçleri ya kanser hücreleri tarafından ya da konak hücreleri tarafından kansere karşı korunmak amacıyla sentezlenen biyolojik maddelerdir. Tümörü normal dokudan ayırt etmek ya da tümörün varlığını saptamak amacıyla kullanılmaktadır. Ölçümleri kanda, sekresyonlarda, seröz sıvılarda, kimyasal, immunohistolojik (radyoimmunoassay ve/veya enzim immünoassay), hücre membranında veya sitoplazmasında bulunanlar ise immünohistolojik veya immünositolojik yöntemlerle (immünofluoresans, immünoperoksidaz ve How cytometry) gösterilmektedir. Ayrıca çok sayıda solid veya hematolojik malignitelerde nükleer DNA ölçümü de yapılabilmektedir. Kromozomal değişiklikler ise moleküler tanısal testlerle saptanmaktadır (36).

Testiküler GHT'lerde üç serum tümör belirleyicisi esas role sahiptir. Bunlar: beta human koryonik gonadotropin (β -hCG), alfa-fetoprotein (AFP) ve laktat dehidrogenaz (LDH)' dir.

1.5a. AFP (*alfa-fetoprotein*): Molekül ağırlığı 70 kD olan bir glikoproteindir. İlk kez 1954 yılında Bergstrand ve Czar tarafından normal insan fötal serumunda olduğu gösterilmiştir. Klinik araştırmalar hepatoma ve testis tümörlerinde yükseldiğini tespit etmiştir. Yarılanma ömrü 5-7 gündür. Embriyonel karsinom, teratokarsinom ve yolk sak tümörlerinde kanda yüksek seviyede bulunur. Saf koryokarsinomda ve seminomda hiçbir zaman yükselmez.

1.5b. β -hCG (*human koryonik gonadotropin*): Molekül ağırlığı 38 kD olan bir glikoproteindir. Alfa ve beta olmak üzere iki formu vardır. Karaciğer, pankreas, mide, akciğer, meme, böbrek, mesane tümörlerinde ve multipl myelomada kan seviyesinde yükselme gözlenir. Serum yarılanma zamanı 24-48 saat arasındadır. Bazı germ hücreli tümörlerdeki sinsityotrofoblastik dokular bu maddeyi üretirler. Bu nedenle koryokarsinomların tümünde, embriyonal hücreli karsinomlarda %40-60 ve saf seminomlarda %7 oranında tespit edilebilmektedir. Seminomlarda nadiren normal değerin 2 katının üzerine çıkarlar. Nedeni ise bazı seminomlarda sinsityotrofoblast benzeri dev hücreler tarafından hCG salınmasıdır (37).

1.5c. LDH (*Laktat dehidrogenaz*): LDH beş izoenzimi bulunan, molekül ağırlığı 13.4 kD olan hücresel bir enzimdir. Mide, kalp, çizgili kaslar, karaciğer ve böbreklerde daha yüksek seviyede olmak üzere vücudun her yerinde bulunabilir. LDH I-IV'nin seviyesinin yükselmesi testis tümörü tedavisinin yönlendirilmesinde kullanılmaktadır. Hastanın klinik evresi arttıkça LDH'nin seviyesinde yükselme gözlenmektedir. İleri evre salt seminom ve büyük hacimlere ulaşmış kitlelerde daha sıklıkla yükselme gözlenir (8,37).

1.5d. PLAP (*Plasental Alkalen Fosfataz*) ve NSE (*Nöron Spesifik Enolaz*) : PLAP seminomun histolojik tümör belirleyicisi olmasına rağmen son yıllarda kullanılmamaktadır. Seminomda %50-72 oranında yüksek bulunmasına rağmen özgüllüğü düşüktür, çünkü PLAP akciğer, meme, gastrointestinal tümörlerde de yüksek olabilir (38). NSE ise daha çok nöroendokrin tümörlerde yükselen bir tümör belirleyicisi olup bazı GHT'lerde ve özellikle seminomun başlangıcında gösterilmiştir. Klinik yararlılığı düşük olan bir tümör belirleyicidir ve günümüzde kullanılmamaktadır (39).

1.6. EVRELENDİRME

Testis tümörleri genellikle testisin embriyolojik orjinini izleyerek retroperitondaki lenfatiklerle yayılım göstermektedir. Sağ testisin primer yayılım bölgesi 2. lomber vertebra seviyesindeki interaortakaval lenf nodülleridir. Sol testisin primer yayılım alanı ise, renal hilumun hemen altındaki paraaortik bölgedir. Hematolojik yayılım da olabilir. Bu yolla yayılım en sık akciğerdir. İleri evre hastalıkta ise karaciğer, kemik ve beyin metastazları görülebilmektedir (8).

Evreleme için yapılması zorunlu değerlendirmeler sözkonusudur. Bunlar:

- Orşiektomi sonrası tümör belirleyicilerinin yarı-ömür kinetikleri
- Retroperitoneal ve supraklavikuler lenf düğümlerinin ve karaciğerin durumu
- Mediastinal lenf düğümü tutulumu ve akciğer metastazlarının varlığı veya yokluğu
- Şüpheli semptom varlığında beyin ve kemiklerin durumunun değerlendirilmesi

1.6.1. Tanıda Kullanılacak Araçlar

- Ardışık kan örnekleme
- Akciğer filmi
- Abdominopelvik ve toraks bilgisayarlı tomografisi (BT)
- Abdominal ve retroperitoneal ultrason, magnetik rezonans görüntüleme (MRG)
- Pozitron emisyon tomografi (PET) taraması
- Klinik şüpheye göre seçilecek diğer özgül testler

1.6.2. Orşiektomi sonrası tümör belirleyicilerinin yarı-ömür kinetikleri

AFP'nin yarı ömrü 5-7 gün, hCG'nin ise yaklaşık 2-3 gündür (44). Bu nedenle orşiektomi sonrası yarı-ömür kinetiklerinin belirlenmesi için tümör belirleyicilerinin serum düzeylerine tekrar bakılmalıdır. Klinik evre I hastalarda tümör belirleyici serum düzeyleri normalleşinceye kadar takip edilmelidir. Orşiektomi sonrası serum tümör belirleyicilerinin yüksek kalması mikroskopik veya makroskopik metastatik hastalığa işaret edebilirken, tümör belirleyicilerin orşiektomi sonrası normal seviyeye düşmesi tümör metastazı olmadığını kesin olarak göstermez. Kemoterapi sırasında tümör belirleyici düzeyleri düşmelidir, belirleyicilerin yüksek kalması kötü prognostik anlam taşır (24).

1.6.3. Retroperitoneal, mediastinal, supraklaviküler lenf düğümleri ve organlar

Retroperitoneal ve mediastinal lenf düğümleri en iyi BT ile değerlendirilir. Supraklaviküler lenf düğümleri için en iyi yöntem fizik muayenedir. BT retroperitondaki lenf düğümleri için %70-80 duyarlılığa sahiptir. Doğruluk oranı lenf düğümlerinin boyutu ile

bağımlıdır (40). MRG retroperitoneal lenf düğümlerindeki büyümenin belirlenmesinde BT ile benzer sonuç vermektedir (41). MRG kullanımının dezavantajları yüksek maliyeti ve her yerde kolay ulaşılabilir olmamasıdır. Yine de MRG, BT veya ultrasonun kesin sonuç veremediği durumlarda, damar içi kontrast allerjisi nedeniyle BT'nin kontrendike olduğu durumlarda yine hasta veya doktorun radyasyon dozu ile ilgili endişelerinin olması durumunda faydalı olabilir (24). Akciğer grafisi toraks incelemesi için rutin testtir. Retroperitoneal ve pelvik BT'nin negatif olduğu seminomlu olgularda anteroposterior ve lateral akciğer grafisi toraks incelemesi için tek başına yeterlidir (42). Göğüs BT, toraks ve mediastinal lenf düğümlerinin değerlendirilmesinde en duyarlı yöntemdir. Testis kanseri evrelemesinde florodeoksiglukoz-pozitron emisyon tomografisi (FDG-PET) kullanımını destekleyecek yeterli kanıt yoktur. Ancak seminomlarda kemoterapiden en az 4 hafta sonra rezidüel kitlesi olan hastalarda izlem ya da aktif tedavi kararı verilmesi amacıyla önerilmektedir (43,44).

Tablo 1: Tanı anında evreleme için önerilen testler

Test	B Derece Öneri	C Derece Öneri
Serum tümör belirleyicileri	Alfa-feto protein hCG LDH (tüm ilerlemiş tümörlerde)	
Abdominopelvik BT	Tüm hastalar	Ergenlik çağında zayıf hst.
Akciğer grafisi	Seminom ¹	
Toraks BT	SDGHT	
Testis ultrasonu	Klinik şüphe ve tanı sırasında palpasyonla normal skrotum	
MRG	Abdominal BT'nin karasız kaldığı durumlar tüm hastalar	
PET ²	Seminomda rezidü kitlelerin takibi	
Diğer	Klinik şüphe varsa	

¹ Eğer Abdominopelvik BT negatif ise

² Günümüzde tanı sırasında PET incelemenin yeri yoktur (24).

1.6.4. Evreleme prognostik sınıflama

Evrelendirme Royal Marsden sınıflaması veya Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) nin TNM sınıflaması kullanılır (Tablo 2) (45).

Tablo 2: TNM Sınıflandırması

pT Primer tümör

pTx	Primer tümör değerlendirilemiyor
pT0	Primer tümör bulgusu yok (örneğin testiste histolojik skar)
pTis	İntratübüler germ hücreli neoplazi (karsinoma in situ)
pT1	Tümör testis ve epididime sınırlı vasküler/lenfatik yayılım yok: tümör tunika albugineaya yayılmış olabilir ancak tunika vaginalise yayılım yok.
pT2	Tümör testis ve epididime sınırlı vasküler/lenfatik yayılım var veya tunika albugineayı aşmış ve tunika vaginalis tutulumu oluşmuş.
pT3	Tümör spermatik korda yayılmıştır (vasküler/lenfatik yayılım var veya yok)
pT4	Tümör skrotuma yayılmıştır (vasküler/lenfatik yayılım var veya yok)

N Bölgesel lenf düğümleri klinik

Nx	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf düğümlerinde metastaz yok
N1	En büyük boyutu 2 cm veya daha az tek lenf düğümü veya hiçbirinin en büyük boyutu 2 cm'den büyük olmayan birden çok lenf düğümü metastazı
N2	En büyük boyutu 2 ile 5 cm arası tek lenf düğümü metastazı veya en az biri 2 cm'den büyük ancak 5 cm'den küçük birden çok lenf düğümü metastazı
N3	En büyük çapı 5 cm'den büyük lenf düğümü metastazı

pN Patolojik

pNx	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor
pN0	Bölgesel lenf düğümlerinde metastaz yok
pN1	En büyük boyutu 2 cm veya daha küçük ve 5 veya daha az sayıda hiçbirinin en büyük boyutu 2 cm'den fazla olmayan lenf düğümü metastazı
pN2	En büyük boyutu 2 cm'den büyük ancak 5 cm'den küçük veya hiçbirisi 5 cm'den büyük olmayan 5 adetten daha fazla sayıda lenf düğümü metastazı, veya tümörün lenf düğümü dışına uzanım gösterdiğine dair bulgu olması
pN3	En büyük boyutu 5 cm'den büyük lenf düğümü metastazı

M Uzak metastaz

Mx	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0	Uzak metastaz yok

M1	Uzak metastaz var
M1a	Bölgesel olmayan lenf düğümleri yada akciğer metastazı
M1b	Diğer bölgeler

S Serum tümör belirleyicileri

Sx	Serum tümör belirleyici sonuçları elde yok veya çalışılmamış
S0	Serum tümör belirleyicileri normal sınırlarda

	LDH (U/l)		hCG (mIU/ml)		AFP (ng/ml)
S1	<1,5 x N	ve	<5000	ve	<1000
S2	1,5 -	veya	5000 – 50000	veya	1000 – 10000
S3	>10 x N	veya	>50000	veya	>10000

Royal Marsden sınıflamasına göre evreleme :

EVRE I : Tümör testis dedir.Yapılan tetkikler sonucu hiç bir yerde metastaza ait bir bulgu saptanmamıştır.

EVRE I M : Orşiektomi sonrası tümör belirleyicilerde hala devam eden yüksek değerler vardır.

EVRE II : Retroperitoneal lenfadenopati mevcuttur.

IIA Lenfadenopati □ 2 cm çapında

IIB Lenfadenopati 2 - 5 cm çapındadır.

IIC Lenfadenopati □ 5 cm çapındadır.

EVRE III : Supradiyafragmatik lenfadenopati vardır.

EVRE IV : Organ metastazı / hematogen yayılım vardır.

2002 TNM sınıflandırmasına göre evre 1 testis kanseri aşağıdaki alt evrelere ayrılmaktadır:

Evre 1A	pT1	N0	M0	S0
Evre 1B	pT2, pT3 veya pT4	N0	M0	S0
Evre 1S	Herhangi bir pT/TX	N0	M0	S1-3

Evre 1A hastalar testis ve epididimde sınırlı birincil tümörleri olan, mikroskopik incelemede tümör hücrelerinin mikroskopik vasküler veya lenfatik yayılım yapmadığı, klinik muayene veya görüntülemelerde metastaz bulgusu olmayan ve orşiektomi sonrası serum tümör

belirleyicileri normal sınırlar içinde olan hastalardır. Klinik evre I hastalarda serum tümör belirleyicilerinin düşüşü normal sınırlara ulaşıncaya değin takip edilmelidir. Evre 1B hastalar daha fazla bölgesel yayılım gösteren birincil tümörü olan ancak metastaz bulgusu olmayan hastalardır. Evre 1S hastalar orşiektomi sonrası tümör belirleyicilerinin serum düzeylerindeki yükseklik devam eden (ve genellikle artan) hastalardır ki bu durum subklinik metastatik hastalığın (veya karşı testiste ikinci bir germ hücre tümörü olasılığının) göstergesidir. Orşiektomi sonrası tümör belirleyici seviyeleri beklenen yarı ömürlere uygun olarak düşüş gösteriyorsa normal düzeylere ulaşıncaya kadar hasta takip edilir.

1997’de International Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG) tarafından metastatik testis tümörlerinde bazı bağımsız klinik olumsuz faktörleri kullanarak prognostik faktörlere dayalı bir evreleme sistemi tanımlanmıştır (Tablo 3) (46).

Tablo 3: Metastatik germ hücreli tümörlerde prognoza bağlı evreleme sistemi

İyi prognoz grubu

Seminom dışı Hastaların %56’sı 5 yıllık ilerlemesiz sağkalım: %89 5 yıllık sağkalım: %92	Aşağıdaki kriterlerin hepsi sağlanmalı ☐ Testis veya retroperitoneal primer ☐ Akciğer dışı organ tutulumu yok ☐ AFP < 1000 ng/ml ☐ hCG < 5000 mIU/l ☐ LDH < 1,5 x normal
Seminom Hastaların %90’ı 5 yıllık ilerlemesiz sağkalım: %82 5 yıllık sağkalım: %86	Aşağıdaki kriterlerin hepsi sağlanmalı: ☐ Herhangi bir primer yerleşim alanı ☐ Akciğer dışı organ tutulumu yok ☐ Normal AFP ☐ Herhangi bir hCG değeri ☐ Herhangi bir LDH değeri

Orta prognoz grubu

Seminom dışı Hastaların %28’i 5 yıllık ilerlemesiz sağkalım: %75 5 yıllık sağkalım: %80	Aşağıdaki kriterlerin hepsi sağlanmalı: ☐ Testis veya retroperitoneal primer ☐ Akciğer dışı organ tutulumu yok ☐ AFP > 1000 ve <10000 ng/ml veya ☐ hCG > 5000 ve <50000 mIU/l ☐ LDH > 1,5 ve <10 x NÜS
Seminom Hastaların %10’u 5 yıllık ilerlemesiz sağkalım: %67 5 yıllık sağkalım: %72	Aşağıdaki kriterlerden herhangi biri:

- ☐ Herhangi bir primer yerleşim alanı
- ☐ Akciğer dışı organ tutulumu var
- ☐ Normal AFP

- ☐ Herhangi bir hCG değeri
- ☐ Herhangi bir LDH değeri

Kötü prognoz grubu

Seminom dışı

Hastaların %16'sı

5 yıllık ilerlemesiz sağkalım: %41

5 yıllık sağkalım: %48

Aşağıdaki kriterlerden herhangi biri:

- ☐ Mediastinal primer
- ☐ Akciğer dışı organ tutulumu var
- ☐ AFP > 10000 ng/ml veya
- ☐ hCG > 50000 mIU/l veya
- ☐ LDH > 10 x NÜS

Seminom

Hiçbir seminom kötü prognozlu olarak sınıflandırılmamıştır

NÜS: Normalin üst sınırı

1.7. TEDAVİ

Testis tümörleri tedavi edilebilir kanser modeli oluşturmaktadır ve tüm evreler birlikte değerlendirildiğinde bile tedavi ile kalıcı şifa sağlama oranları %85-90 düzeylerindedir. Testis tümörleri için birtakım patolojik risk faktörlerinin prognozda oldukça önemli rolleri vardır.

Bunlar;

Patolojik (evre I için):

- Histopatolojik tip
- Seminom için
 - Tümör boyutu (> 4 cm)
 - Rete testise yayılım
- Seminom-dışı için
 - Tümör içinde veya peri-tümöral vasküler/lenfatik yayılım
 - Proliferasyon oranı > %70
 - Embriyonal kanser oranı > %50

Klinik (metastatik hastalık için):

- Birincil yerleşim yeri
- Tümör belirleyicilerinde yükselme
- Akciğer-dışı organ metastazı olması

Tedavi prensipleri hastalığın evresi seminom ve seminom dışı olmasına göre şekillenmektedir.

1.7.1. Evre I seminom dışı GHT'lerin tedavisi

Dünyada bu evre için kullanılan üç tedavi yöntemi vardır:

1.7.1a. İzlem

Klinik evreleme ve takip yöntemlerindeki gelişmeler ve sisplatin tabanlı kemoterapi ile etkin kurtarma tedavisi ve kemoterapi sonrası cerrahinin uygulanabilmesi, klinik evre I seminom dışı GHT hastalarında orşiektomi sonrası hastaların sadece yakın takip edildiği çalışmaların yapılmasına yol açmıştır (24). İzlem protokolünün çıkış prensibi hastaların %70-80'inde retroperitonda tümör bulunmaması ve bu hastalarda orşiektomiden sonraki ek tedavilerin fazladan bir tedavi yöntemi olabileceği yönündeki görüşler sonucudur. En geniş izlem çalışmalarında nüks oranı %30 civarında olup, nükslerin %80'i ilk 12 ayda, %12'si ikinci yılda ve %6'sı üçüncü yılda olmakta ve takip eden 4. ve 5. yıllarda %1'e düşmektedir (47,48). Genel kansere özgü sağkalım verilerine bakıldığında, riske göre ayırım yapılmamış klinik evre I (KE1) seminom dışı hastalarla uyumlu olmaları yanında beklenen nüks oranları ve kurtarma tedavisi konusunda bilgilendirmek şartıyla izlem konusunda deneyimli merkezlerde izlem önerilebilir (24).

1.7.1b. Retroperitoneal Lenf Nodu Diseksiyonu (RPLND)

Özellikle ABD'de yaygın biçimde uygulanan ve evre I seminom dışı GHT'lerde neredeyse standart tedavi olarak kabul edilen bir yöntemdir. Buna rağmen bu yöntem ile bu evredeki hastaların %70'inde fazladan tedavi uygulandığı bilinmektedir. RPLND çıkış prensibi hastaların %100 oranında doğru evrelendirilmesi ve mikroskopik hastalığı olanların bu ameliyatla büyük bir olasılıkla tedavi edilmesidir (49,50).

1.7.1c. Kemoterapi

Kemoterapinin etkinliği ve relaps yapabilecek hastaların prognostik faktörler ile önceden tanımlanabilmesi nedeniyle primer kemoterapi kavramı ortaya çıkmıştır. Bu yöntemin prensibi relaps ihtimali yüksek olan hastalarda orşiektomiye adjuvan olarak kemoterapi uygulanmasıdır. Yüksek riskli hastalarda (%50 relaps riski olanlar) bleomisin, etaposid ve sisplatin (BEP) içeren 2 kür kemoterapinin primer tedavi olarak kullanıldığı çalışmalar vardır ve fertilite ile cinselliği de olumsuz etkilemediği bildirilmiştir (51-53). Primer kemoterapi sonrası yavaş büyüyen retroperitoneal teratoma ve kemoresistan kanser relapsı riski

konusunda dikkatli olmak son derece önemlidir. Primer kemoterapi sonrası, retroperitonun görüntülenme yöntemleri ile (BT veya USG) tekrarlayan ve uzun dönem takiplerinin gerekliliği halen açık değildir (54).

1.7.1d. Yüksek (ısrarlı) serum tümör belirleyicileriyle birlikte olan KE1S

Orşiektomi sonrası serum tümör belirleyicileri için beklenen yarılanma sürelerine uygun olarak düşüp düşmedikleri netleşene değin yakından takip edilmelidir. Orşiektomi sonrası tümör belirleyicilerin düzeyinin düşmemesi veya yükselmesi hastada rezidüel hastalık olduğunu gösterir. Bu hastalara RPLDD yapılması durumunda %87'sinde retroperitonda patolojik lenf düğümleri görülür (55). Başta yapılmadıysa karşı testis ultrasonla incelenmelidir. Bu hastaların tedavisi halen tartışmalı olup, günümüzde en sık uygulanan 3 kür BEP, izlem veya RPLND şeklindedir (56,57).

1.7.2. Evre I Seminom Tedavisi

Evre 1 seminomu olan hastaların %15-20'sinde genellikle retroperiton yerleşimli subklinik metastatik hastalık bulunmaktadır ve bu durum hastalarda tek başına orşiektomi sonrası nüks oluşumuna sebep olur (58).

1.7.2a. İzlem

Evre I seminomlarda orşiektomi sonrası hastaların %80 kür sağlandığı bilinmektedir. Son yıllarda yapılan geniş serili çalışmalarda izlemde 5 yıldaki relaps oranının %15-20 civarında olduğu gözlenmiştir (58,59). İzlem sırasında oluşan relapsların %70'inde sadece radyoterapi (RT) uygunken, bunlarında sadece %20'sinde kurtarma kemoterapisine gereksinim gösteren relaps olmaktadır. İzlem protokolünün en önemli dezavantajı daha sık takip ihtiyacıdır.

1.7.2b. Adjuvan Radyoterapi

Seminom hücreleri radyasyona son derece duyarlıdır. Para-aortik (PA) veya para-aortik ve aynı taraf iliyak düğüm alanına (hokey sopası) toplam 20-24 Gy adjuvan radyoterapi uygulaması nüks oranını %1-3'e düşürmektedir (60,61). Profilaktik RT'nin temel sıkıntısı uygulanan radyasyona bağlı lösemi gibi non-GHT gelişme riskini artırması ve kardiyovasküler olaylardır (62,63). Bu evrede 5-10 yıllık hastalıksız sağkalım %98-100 arasındadır.

1.7.2c. Adjuvan Kemoterapi

Tek doz karboplatin ile adjuvan radyoterapinin karşılaştırıldığı çalışmada (MRC TE19 çalışması, EORTC 30942 çalışması) ortalama 4 yıllık takip sonrası nüks oranı, nükse kadar geçen süre ve sağkalım oranları açısından tedaviler arasında fark olmadığı gösterilmiştir (64). Bu nedenle evre 1 seminom tedavisinde adjuvan karboplatin tedavisi, radyoterapi ve izleme alternatif bir seçenektir (59,64).

1.7.2d. Retroperitoneal lenf düğümü diseksiyonu (RPLND)

Evre 1 seminomda radyoterapi ve RPLND’i karşılaştıran prospektif randomize olmayan bir çalışmada birincil tedavi olarak RPLND uygulanan grupta retroperitoneal nükslerin daha sık gelişme eğiliminde olduğu (%9.5) görülmüştür. Bu nedenle evre 1 seminom tedavisinde RPLND önerilmemelidir (65).

Evre I seminom tedavi kılavuzu (24):

1. İzlem (uygun imkanlar varsa ve hasta uyumluysa) (Öneri derecesi: B)
2. Karboplatin tabanlı kemoterapi (1 kür, AUC 7) radyoterapiye ve izleme alternatif olarak önerilebilir. (A derece öneri)
3. Toplam 20 Gy dozda paraaortik bölgeye veya hokey sopası şeklinde adjuvan radyoterapi (A derece öneri)

1.7.3. Metastatik GHT’lerde Tedavi

1.7.3a. Evre IIA/IIB Seminom tedavisi

Evre II A/B seminomda standart tedavi RT’dir. Uygulanacak radyasyon dozu evre IIA ve IIB’de sırası ile 30 Gy ve 36 Gy’dir. Standart radyasyon alanı biraz genişletilerek aynı taraf iliyak alan da dahil edilmelidir. Bu konuda yapılan çalışmalarda 6 yıllık relapssız sağ kalım oranları Evre IIA ve IIB hastalık için sırası ile %95.3 ve %88.9 olarak bildirilmiştir (66). RT istemeyen evre IIB hastalarında 3 kür BEP veya iyi prognoz grubundaki bir hastada 4 kür EP şeklindeki KT’de bir seçenektir.

1.7.3b. Evre IIA/IIB Seminom dışı GHT tedavisi

Retroperitoneal lenf nodu metastazı bulunan hastalarda primer lenf nodu diseksiyonu ve adjuvan KT birçok merkezde standart yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Ancak, küratif

amaçla yapılmış RPLND’undan sonra nüks görüldüğünde KT uygulaması da uygun bir tedavi seçeneği olarak hastalara sunulmaktadır (24,67).

1.7.4. İleri evre tümörlerde tedavi

İleri hastalıkta birincil tedavi seçeneği IGCCCG risk sınıflandırması göz önünde bulundurularak (Tablo 3) 3 ya da 4 kür BEP kemoterapisidir (Tablo 4). İleri hastalıkta bu rejimin sisplatin, vinblastin ve bleomisin (PVB) rejiminden üstün olduğu kanıtlanmıştır (68, 69).

Tablo 4: BEP rejimi (her 3 haftada bir)

İlaç	BEP
Sisplatin	20 mg/m ² 1.-5.inci günler*
Etoposid	100 mg/m ² , 1.-5.inci günler
Bleomisin	30 mg, 1, 8 ve 15. günler

BEP= bleomisin, etoposid , sisplatin

IGCCCG’ye göre iyi prognozlu hastalarda standart tedavi 3 kür BEP veya bleomisinin kontrendike olduğu durumlarda 4 kür EP uygulamasıdır. Tedavi doz azaltımına gidilmeden 22 günlük aralıklarla verilmelidir (46,70).

IGCCCG’ye göre orta prognozlu hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %80 olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde uygulanan standart tedavi 4 kür BEP uygulaması şeklindedir (46). İyi prognozlu gruba göre daha kötü prognoza sahip olmaları nedeniyle BEP protokolüne paksitaksel eklenebilir (71).

Kötü prognozlu hastalar için standart tedavi 4 kür BEP uygulamasıdır. Dört kür PEI (sisplatin, etoposid, ifosfamid) tedavisi de aynı etkiye sahiptir ancak daha toksiktir (72). Beş yıllık ilerlemesiz sağkalım %45-50 arasındadır.

EAU Guideline’ına göre metastatik GHT tedavi klavuzu:

1. Tümör hacmi düşük, serum belirleyici düzeyi yükselmiş Evre IIA/B SDGHT iyi veya orta prognozlu ilerlemiş SDGHT’e benzer şekilde 3 veya 4 kür BEP ile tedavi edilmelidir. Belirleyicilerin yüksek olmadığı Evre II tümörler RPLND ile veya yakın izlem ile tedavi edilebilirler.

2. İyi prognostik gruptaki metastatik SDGHT’de (≥Evre IIC) birincil tedavi seçeneği 3 kür BEP’tir (A derece öneri).

3. Orta veya kötü prognostik gruptaki metastatik SDGHT’de birincil tedavi seçeneği 4 kür BEP’tir (A derece öneri).

4. SDGHT’de kemoterapi sonrası rezidü kitle rezeksiyonu, indikasyonu görüntülenebilen rezidü tümör varlığında ve serum tümör belirleyicileri seviyesi normal veya normale düşüyorsa vardır (B derece öneri).

5. N3M1 hastalıktan daha düşük evrede metastatik seminom ilk olarak radyoterapi ile tedavi edilebilir. Gerekğinde kemoterapi aynı prognostik gruptaki SDGHT ile benzer rejimlerin kullanılmasıyla kurtarma tedavisi şeklinde kullanılabilir (A derece öneri).

6. İlerlemiş seminom (N3 ya da M1) SDGHT ile aynı prensiplere bağlı kalınarak birincil kemoterapi ile tedavi edilmelidir (A derece öneri).

2. ANJIOGENEZ

Anjiogenesis yeni damar gelişimi olarak tanımlanmaktadır (73). Fizyolojik anjiogenez, yara iyileşmesi, embriyogenez, menstrüel siklus ve gebelik gibi durumlarda gerçekleşirken, patolojik anjiogenez ise başta tümör olmak üzere kollajen doku hastalıkları (romatoid artrit vb.) retinopatiler ve psöriasis gibi hastalıklarda meydana gelmektedir (74).

Tümörlerin progrese olmaları için (primer ve metastatik tümörler) oksijen ve beslenme ürünlerini almaları gerekmektedir. Tümörün ihtiyaç duyduğu oksijen ve beslenme ürünlerinin sağlanabilmesi için de anjiogenezisin olması gerekmektedir. Tümör dokusunun progresyon, metastaz ve invazyonu için gerekli olan oksijen, büyüme faktörü ve besin maddelerinin karşılanabilmesi için yeni damar oluşumu gereklidir. Tümörler yeni damar yapımını gerçekleştiremedikleri takdirde etraflarındaki damarlardan diffüzyon ile beslenir ve tümör 100 µm den 200 µm’ye büyüdüğünde tek başına diffüzyon tümörün oksijenasyonu için yeterli değildir. Bu hacimden sonra çoğalmaları ve metastaz yapabilmeleri için anjiogenez gereklidir (75,76). Anjiogenez, çevresel ve genetik değişimlerin etkisiyle anjiogenetik faktörler ile inhibitör faktörler arasında dengenin anjiogenez aktivatörleri lehine kaymasıyla gelişir. Anjiogenezi uyaran ve inhibe eden birçok faktör bulunmaktadır (Tablo 5).

Tablo 5. Anjiogenezi uyaran ve inhibe eden faktörler.

- **Anjiogenezi uyaranlar**

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

Ana Fibroblast büyüme faktörü (bFGF)
Asid Fibroblast büyüme faktörü (aFGF)
Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)
Hepatosit büyüme faktörü
Epidermal büyüme faktörü (EGF)
Insulin-benzeri büyüme faktörü
Dönüşen büyüme faktörü a(TGFa)
Dönüşen büyüme faktör b (TGFb)
Tümör nekrosis faktör a(TNFa)
Plasental büyüme faktörü (PlGF)
Anjiopoetin-1
Anjiojenin
Pleotrofin
İnterlökin 8
Granulosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF)
Proliferin
Leptin

• **Anjiogenezi inhibe edenler**

Trombospondin
Anjiostatin (plasminojen kısmı)
Endostatin (kollajen XVIII kısmı)
AaAt (antithrombin III kısmı)
Vazostatin
Prolaktin
Troponin 1
Anjiopoetin-2
Alfa interferon
Gamma interferon
İnterlökin 12
Fibronektin
Metalloproteinaz doku inhibitörleri
Plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1)
Platelet faktör 4 (PF 4)

Pigment epitelial hücre faktörü

Retinoik asid

2-Metoksi-östradiol

Dopamin

2.1. Tümör Angiogenezinin Prognostik Önemi

Vasküler sistemde artış, tümör hücrelerinin dolaşıma geçişlerini arttırdığı gibi muhtemelen metastaz oranını da arttırmaktadır. Birçok tümör türünde mikroskobik alandaki küçük damar sayısının metastaz ile doğru, sağ kalım ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (77). Yüksek angiogenezi olan tümörler daha sonra metastaz gelişimi ile ilişkili olabileceğinden bu hastalar adjuvan tedaviden en fazla faydalanacak hastalar olarak belirlenebilir. Ancak yüksek angiogenik indeksi olan tümörlerin adjuvan tedaviden fayda göreceği görüşü yaygın değildir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada meme kanserli hastalarda düşük VEGF ekspresyonu olan hastalar adjuvan tedaviye sekonder olarak daha iyi sağ kalım sağladıkları gösterilmiştir (78). Yüksek anjiyogenik indeksli tümörler biyolojik olarak hastalığın daha agresif bir varyantını temsil eder ki bu varyantta konvansiyonel adjuvan tedaviler etkili olamayabilirler.

3. ÇALIŞMADAKİ İMMÜN BELİRLEYİCİLER

3.1. MASPİN

Maspin (*mammary serine protease inhibitor, Serpin B5*) serin süper ailesine ait bir serin proteaz inhibitörüdür. İlk defa 1994 yılında normal meme dokusu ve meme kanser hücrelerinde bulunmuştur (79). Serin proteaz inhibitörleri inflamasyon, apoptozis, angienez ve embriyogenez sırasında rol oynayan geniş bir protein ailesidir (80). Kırk iki kDa ağırlığında bir proteindir ve 10 genlik serpin dizisi içerisinde kromozom 18q21.3'te lokalizedir (81,82). Sitoplazmada çözülebilen intrasellüler bir protein olup, hücre içinde farklı lokalizasyonlarda olabilir (82). Maspinin hücre içindeki bu farklı yerleşimleri, bazı dokularda anormal lokalizasyonun neoplaziyi işaret etmesi açısından önemlidir. Örneğin over karsinomlarında maspinin sitoplazmik lokalizasyonu kötü prognoz ile ilişkili iken, nükleer lokalizasyonu daha benign lezyonları göstermektedir (80,82).

Maspin, diğer serpinlerin aksine apoptoziste artışa, hücre motilitesi ve angienezisde azalmaya neden olur (80,83,84). Genel olarak maspin tümörlü dokularda iyi diferansiye fenotipi gösterir. Bazı çalışmalarda malign tümörlerin gelişim ve progresyonunu p53 bağımlı

yol, plazminojen aktivasyon inhibisyonu ve anjiogenezis inhibisyonu aracılığı ile önlediği gösterilmiştir ve maspin düzeyi ile p53 düzeyi arasında ilişki saptanmıştır (85,86).

Maspin çeşitli çalışmalarla meme, prostat, seminal vezikül, oral kavite, vajina, tiroid, mesane, barsak, dil, akciğer, epidermisin epitel hücrelerinde, timus ve korneada saptanmıştır (80,83). Ürolojide literatürdeki çalışmaların birçoğu prostat kanseri ile ilgilidir. Normal prostat epitel hücrelerinde yüksek oranda maspin salınımı gösterilmiştir. Ancak prostat kanserli hücrelerde maspin salınımı azalmış, metastazlarında ise kaybolmuştur (84,87,88). Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada midede maspin ekspresyonu normal mukoza, displazi ve kanser hücrelerinde azalan oranda izlenmiştir (135). Azalmış maspin ekspresyonu mide epitel hücrelerinde malign değişimi göstermiştir. Aynı çalışmada maspin ekspresyonu ile tümör invazyonu ve metastazının ters orantılı olduğunun gösterilmesi, maspinin mide kanserinin progresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini ortaya koymuştur. Son ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise mide adenokarsinomlarında maspinin ekspresyon düzeyi normal mide epitelinden belirgin olarak yüksek, intestinal metaplazili mide epitelinkinden düşük bulunmuştur (136). Akciğer tümörleri ile yapılan çalışmalarda ise Lonardo ve arkadaşları akciğer adenokarsinomlarında nükleer maspin pozitifliği gösteren grupta daha iyi morfolojik göstergeler bulmuşlar (137). Nakagawa ve arkadaşları'ları ise maspin pozitif ve negatif gruplar arasında prognoz açısından bir fark saptamamışlardır(85).

Ürolojide maspin çalışmalarının büyük bir kısma prostat kanseri ile ilgilidir. Normal prostat epitelyum hücrelerinde yüksek oranda maspin salınımı göstermiştir. Ancak prostat kanserli hücrelerde maspin salınımı azalmış, metastazlarda kaybolmuştur (84,87,88). Cher ve arkadaşları maspinin metastatik prostat kanserli hastalarda osteolizisi inhibe ettiğini belirtmiştir (138). Jiang ve arkadaşları da prostat ve akciğer kanserinde maspin pozitifliğinin apoptozis benzeri etkisi olduğunu öne sürmüşlerdir (139). Mesane tümöründe maspin ile ilgili ilk çalışma Friedrich ve arkadaşları Tarafından yapılmış olup çalışmada invaziv olmayan mesane tümörlerinde (pTa/pT1) neoanjiogenezis ile hastalıksız sağkalım veya rekürrens incelenmiş ancak aralarında istatistiksel fark saptanmamıştır (140). Böbrek tümörlerinde yapılan maspin çalışmasında ise maspinin böbrek tümörlerinde stoplazmik boyandığı belirtilmiş ve renal hücreli karsinomlarda maspin ekspresyonunun azalmasının tümör boyutunun artması ve yüksek patolojik evre ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu nedenle maspin ekspresyonunda azalma kötü prognozla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Literatürde maspin ve testis (normal testis dokusu veya tümörleri) ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece iki çalışmada testis normal dokusunda maspin ekspresyonu olduğu yönünde kısa bir bilgi bulunmaktadır (89, 90).

3.2. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

Anjiogenetik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı VEGF'dir. İlk kez 1989 yılında Ferrara ve arkadaşları (91) tarafından tanımlanan heparin bağlayıcı glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları bulunmaktadır (76). VEGF gelişimin erken dönemlerinde vaskülogenezisin potent bir uyarıcısıdır, yetişkinlerde ise anjiogeneze merkezi bir rolü vardır. Tümörlerde, kronik inflamasyonda ve yara iyileşmesinde anjiogenezi yönlendirir.

VEGF, endotelial hücreler için oldukça spesifik bir mitojen olarak bilinir ve aynı zamanda endotelial hücrelerce de salgılanır. VEGF, tümör anjiogenezi yanı sıra, tümör hücrelerinin proliferasyonunu indükleyen otokrin ve parakrin bir büyüme faktörü olarak da görev yapar (92). VEGF'nin tümöre ait damarların geçirgenliğini arttırdığı, serin proteaz ve metalloproteazları indüklediği; endotelial hücre apoptozunu inhibe ettiği, diferansiasyon ve maturasyonda rol aldığı çalışmalarla gösterilmiştir (93,94). Meme kanseri, küçük hücreli akciğer karsinomu, gastrointestinal tümörler, şeffaf hücreli böbrek adenokarsinomu, over kanseri, hepatosellüler karsinom, özofagus kanseri, nazofaringeal karsinom ve mide kanseri gibi birçok tümörde VEGF düzeyleri ile metastaz ve/veya kötü prognoz arasında ilişki bulunmuştur (108-110). Ancak testis tümörleri ile ilgili literatürde yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır.

3.3. Ki-67

Ki-67, 394 kDa ağırlığında büyük bir proteindir. Ki-67 bir nükleer antijen olup, bölünen tüm hücrelerin nükleusunda G1, S, G2 ve M fazlarında bulunmaktadır. Diğer bir deyişle Ki-67 bir proliferasyon marker'ı olup, proliferatif aktif tümör hücrelerinde yer alır. Solid tümörlerin proliferasyonunu belirlemek için Ki-67'ye karşı geliştirilen monoklonal antikör; ilk kez 1983 yılında Gerdes ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (95).

Ki-67, meme kanseri, yumuşak doku tümörleri, akciğerin yassı hücreli karsinomu ve adenokarsinomu, astrositom ve meningiomda prognoz belirleyici olarak kullanılmaktadır. Fakat kolorektal karsinomlarda prognoz ile proliferasyon indeksi arasında ilişki izlenmemiştir

(96).Ki-67'nin çeşitli malign tümörlerde ve prekanseröz hastalıklardaki prognostik önemi iyi bilinmektedir. Testisin germ hücreli tümörlerinde de Ki-67 indeksi hastaların risk grubunu belirlemek için kullanılmıştır (96,97). Heidenreich ve arkadaşları, klinik olarak evre-1 non-seminomatöz GHT içeren 89 vakayı lenf nodu tutulumuna dair patolojik risk faktörleri açısından araştırdılar. Bu amaçla tümörün proliferasyon hızını, yani Ki-67 indeksini belirlemek için MIB-1 monoklonal antikoru kullandılar. H-E boyalı preparatlarda vasküler invazyon ve embriyonal karsinomun yüzdesi, SDGHT'lerde lenf nodu tutulumunun iyi bir indikatörü olarak kabul edildi. Çalışmada Ki-67 ile tümöral hücrelerde boyanma oranı, embriyonal karsinom ve immatür teratomda %51-75 arası, matür teratomda %26-50 arası, seminom ve yolk kesesi tümöründe ise %1-25 boyanma daha sık görüldü. Fakat klinik evre-1 non-seminomatöz GHT'lerde, MIB-1 ekspresyonunun patolojik evre ile korelasyonu izlenmedi (96). Rudolph ve arkadaşları, 189 karsinom vakasında tümörün derecesi, mitotik indeksi ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar; vakada kolorektal karsinom, meme karsinomu, yassı hücreli karsinom, akciğerin küçük hücreli-dışı ve küçük hücreli karsinomunu içeren olguları seçmişler; tümör grade'i ile Ki-67 arasındaki en yüksek ilişkiyi meme kanserinde ve akciğerin küçük hücreli dışı kanserinde, en zayıf ilişkiyi kolorektal adenokarsinom ve küçük hücreli akciğer karsinomunda bulmuşlardır (113).

3.4. p53

Genom koruyucusu olarak da bilinen ve 17. kromozomun kısa kolunda lokalize olan p53 geninin görevi, mutajenik ajana maruz kalan hücrelerde DNA hasarı onarılamadığı zaman apoptozu uyarak tümör baskılamaktır. Bu genin ürünü olan p53 proteini 393 aminoasit fosfoproteini olup hücre çekirdeğinde yerleşiktir (98,99). p53 başlıca biyokimyasal fonksiyonu hücre döngüsünde geç G1 fazından S fazına geçişi etkileyerek genotoksik bir hasar varlığında DNA onarımına olanak sağlamasıdır. Ayrıca p53 gen transkripsiyonu, kromozomal ayrılma ve apoptoziste rol oynamaktadır (100).

Düzenli çalışan p53 geni DNA hasarı karşısında hücreyi apoptozise sokarak anomalinin bir sonraki hücre nesline geçişine engel olur. Eğer bu gen mutasyona uğramışsa, hücrenin kendi kendini yıkım olayı gerçekleşmez ve sonuçta kanserli hücre ortaya çıkar. Normal p53 proteininin yarı ömrü çok kısa olduğundan immunohistokimyasal yöntemle saptanamamaktadır. Ancak malign tümörlerde olduğu gibi nokta mutasyonu ile veya bilinmeyen bir şekilde stabilize olduğunda veya aşırı ekspresyonuna bağlı olarak yarı ömrü

uzadığında saptanabilir hale gelmektedir (98,99). P53 overekspresyonu ve mutasyonları az diferansiye bir çok kanserde görülür ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Literatürde p53 overekspresyonunun p53 mutasyonlarıyla arasında %75'e varan güçlü bir ilişki olduğunu belirtir çalışmalar vardır. (30,98).

Bostwick ve arkadaşları ürotelyal karsinomlarda p53 immünreaktivitesinin yüksek tümör evresi, derecesi, vasküler invazyon, rekürrens, progresyon ve sağ kalım ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (119). Bunların dışında normal p53'ün antianjiogenik fonksiyonu olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir (117). Bunz ve arkadaşları çalışmalarının insan fibroblastlarında ve epitel hücrelerinde p53 eksikliğinin anöploidiye yol açmadığını gösterdiğini, kolorektal karsinomlarda da anöploidinin erken gelişimine rağmen p53 yüksekliğinin geç ortaya çıkışının da bunu desteklediğini rapor etmişlerdir (120). Demirkan ve arkadaşları ise derinin bazal hücreli karsinomaları ile yaptıkları çalışmada epitelyal malignitelerin erken veya geç evrelerinde p53 ekspresyonu izlenebileceğini bildirmişlerdir (121). Esrig ve arkadaşları, çalışmalarında mesaneye sınırlı kanserlerde p53 ile rekürrens ve sağ kalım azalması arasında güçlü bir ilişki tespit etmişler ve özellikle kas invazyonu izlenen invaziv mesane tümörlerinde radikal sistektominin genel kabul edilebilir tedavi olduğunu vurgulamışlardır (122).

3.5. Trombosit Endotel Adezyon Molekülü (PECAM-1/CD-31)

Trombosit endotel adezyon molekülü-1 (PECAM-1); CD31 ve endoCAM olarak da bilinen, 130 kD ağırlığında immünglobulin süperaillesinden bir moleküldür. PECAM-1 ilk olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinden klonlanmıştır (101). Adı trombositler ile ilgili olmasına rağmen trombosit fonksiyonu üzerine çok önemli bir etkisi olmayıp özellikle endotel hücreleri üzerinde bulunan hücre-hücre adezyon molekülüdür (102). Dolaşımdaki trombositler, monositler, nötrofiller ve bazı T lenfositlerin yüzeylerinde bulunur. Endotel hücreleri üzerinde bağlantıyı sağlayan en önemli bileşendir. PECAM-1 *in vivo* şartlarda lökositlerin endotelden transmigrasyonunu sağlar. İnflamasyonun transmigrasyon basamağında lökositlerin PECAM-1'e ihtiyacı vardır (103). Abulafia ve arkadaşları Over kanserlerinde ortalama damar yoğunluğu ile yaş, grade, stage arasında bir ilişki olmadığını, neovaskülarizasyon derecesinin prognostik bir faktör olmadığını belirtmiştir (132). Buna karşılık Alvarez ve arkadaşları ise toplam 8537 erken evre hastada yaptıkları araştırmalarda yeni damar oluşumunun epitelyal ovarian karsinomlarda prognostik bir belirleyici olduğunu bildirmiştir (133).

GEREÇ VE YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan 2000 ile 2009 tarihleri arasında testis tümörü nedeniyle radikal (inguinal) orşiektomi yapıp, GHT tanısı alan 32 hastanın orşiektomi materyali olan parafin blokları çalışma kapsamına alındı. Çalışma grubuna dahil edilen olguların örnekleri yeniden ışık mikroskopunda incelendi. Tümörü tam olarak temsil eden örneklerin (Mikst Germ Hücreli Tümörlerde seminimatöz ve nonseminimatöz tümör alanları ayrı ayrı olacak şekilde) parafin bloklarından 5 mikronluk kesitler hazırlandı ve kesitler polilizinli lamlara alındı.

İmmünohistokimyasal çalışma protokolü şu sırayla uygulandı.

1. Polilizinli lama alınan örnekler 80°C sıcaklıkta etüvde 20 dakika bekletildikten sonra 10'ar dakika iki farklı ksilen ve 10'ar dakika iki farklı alkol içerisinde olmak üzere toplamda 40 dakika oda sıcaklığında bekletilerek deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu.
2. Bol distile su ile yıkandı.
3. Mikrodalga fırın içerisinde sırasıyla 750 W 5 dakika, 600 W 4 dakika, 500 W 4 dakika, 350 W 4 dakika olmak üzere %10'luk Sitrat Buffer solüsyonunda (Scy Tek, Ref: CBB500) antijen retrival işlemine tabi tutuldu.
4. Bol distile su ile yıkandı.
5. %3'lük olarak hazırlanan H₂O₂ (Merck) içerisinde 20 dakika bekletildi.
6. Bol distile su ile yıkandı.
7. Lam üzerinde bulunan dokunun etrafı pappen ile çevrelendi ve Süper blok (Scy Tek, Ref: AAA125) damlatılarak 5 dakika bekletildi.
8. Süper blok döküldü.
9. Dokuların üzerine ayrı ayrı olmak üzere CD31 (PECAM-1) (Biocare, REF- CM347A, LOT101209-R1, 1/300 dilüsyon), Ki-67 (Spring, Clone SP6, 1/400 dilüsyon), VEGF (Spring, REF-E2610, 1/100 dilüsyon), TP53 (Dako, Clone D0-7, RTU), Maspin (Life Span, Lot# 18780, 1/50 dilüsyon) primer antikorlar damlatılarak 2 saat bekletildi.
10. 5'er dakikalık sürelerle 3 farklı PBS (Fosfat Buffer Saline) solüsyonunda yıkama yapıldı.
11. Sekonder antikor (Biotinylated antibody, Sct Tek, Ref: ABF125) damlatılarak 20 dakika beklendi.
12. 5'er dakikalık sürelerle 3 farklı PBS (Fosfat Buffer Saline) solüsyonunda yıkama yapıldı.
13. Avidin (Scy Tek, Ref: ABG125) damlatılarak 20 dakika beklendi.
14. 5'er dakikalık sürelerle 3 farklı PBS (Fosfat Buffer Saline) solüsyonunda yıkama yapıldı.
15. 1 µl AEC Substrate buffer (Scy Tek, Ref: ACE125), 20 µl AEC kromojen (Scy Tek, Ref: TA-004-HAC) karıştırılarak kullanıma hazır AEC kromojen elde edildi. Bu karışım doku üzerine damlatılarak 5 dakika beklendi.
16. Mayer hematoksilen (Merck) ile karşıt boyama yapıldı.
17. Dokuların üzeri Aqueous- Mont (Scy Tek, Ref: AML090) damlatılarak lamel ile kapatıldı.

18. Ki-67 ve VEGF çalışılmasında antijen retrival işleminde Sitrat Buffer yerine EDTA Buffer kullanılmıştır.

Örnekler ışık mikroskopunda incelendi. Kullanılan kromojen nedeniyle kahverengi- turuncu boyanma pozitif kabul edildi.

Maspin Değerlendirilmesi: Pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik olarak incelendi. Nükleer boyanma saptanmadı. Sitoplazmik pozitiflik 0 (%1- 5 hücre pozitif), + (%6- 50 hücrede pozitif), ++ (%51- 100 hücrede pozitif) olarak değerlendirildi. Mikst germ hücreli tümörlerde seninimatöz ve nonseminimatöz tümör alanları ayrı ayrı incelendi.

VEGF Değerlendirilmesi: Pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde sitoplazmik pozitif boyanma olarak kabul edildi. Sitoplazmik pozitiflik 0 (%1- 5 hücre pozitif), + (%6- 50 hücrede pozitif), ++ (%51- 100 hücrede pozitif) olarak değerlendirildi. Mikst germ hücreli tümörlerde seninimatöz ve nonseminimatöz tümör alanları ayrı ayrı incelendi.

p53 Değerlendirilmesi: Pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer pozitif boyanma olarak kabul edildi. Sitoplazmik pozitiflik 0 (%1- 5 hücre pozitif), + (%6- 50 hücrede pozitif), ++ (%51- 100 hücrede pozitif) olarak değerlendirildi. Mikst germ hücreli tümörlerde seninimatöz ve nonseminimatöz tümör alanları ayrı ayrı incelendi.

Ki-67 Değerlendirilmesi: Pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer pozitif boyanma olarak kabul edildi. 5 büyük büyütme alanında (5 HPF, x400 büyütme) yaklaşık olarak 1000 tümör hücresinde pozitif boyanan hücre sayısı oranı hesaplandı.

CD31 Değerlendirilmesi: 5 büyük büyütme alanında (5 HPF, x400 büyütme) ortalama damar sayısı hesaplandı.

İstatistiksel Değerlendirme: Sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde kisisel bilgisayarda çalışan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programının 14.0 versiyonu kullanıldı. Korelasyonun araştırılmasında Pearson korelasyon analizi, farklı serilerin anlamlılığının sınanmasında Fisher's exact test (2 yönlü), grupların karşılaştırılmasında “one way” ANOVA testi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

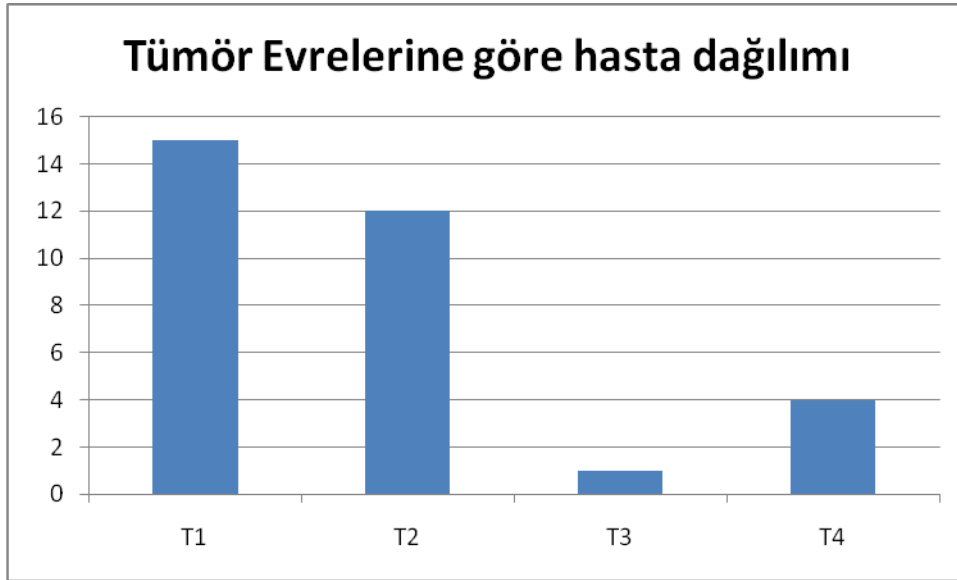
BULGULAR

Çalışmaya alınan 32 GHT olgusunun yaşları 19-63 arasında olup yaş ortalaması 30,3 olarak saptandı. Çalışmayı oluşturan olguların hasta dosyaları ve patoloji raporlarından elde edilen yaş ile preoperatif hCG ve AFP değerleri ve bu olgulara ait hemotoksilen-eozin boyalı preparatlarının yeniden incelenmesi sonucu tümörün histolojik tipi, tümöral kitlenin büyüklüğü, tümör evresi, lenfovasküler invazyonu, rete testis tutulumu, lenf nodu tutulumu,

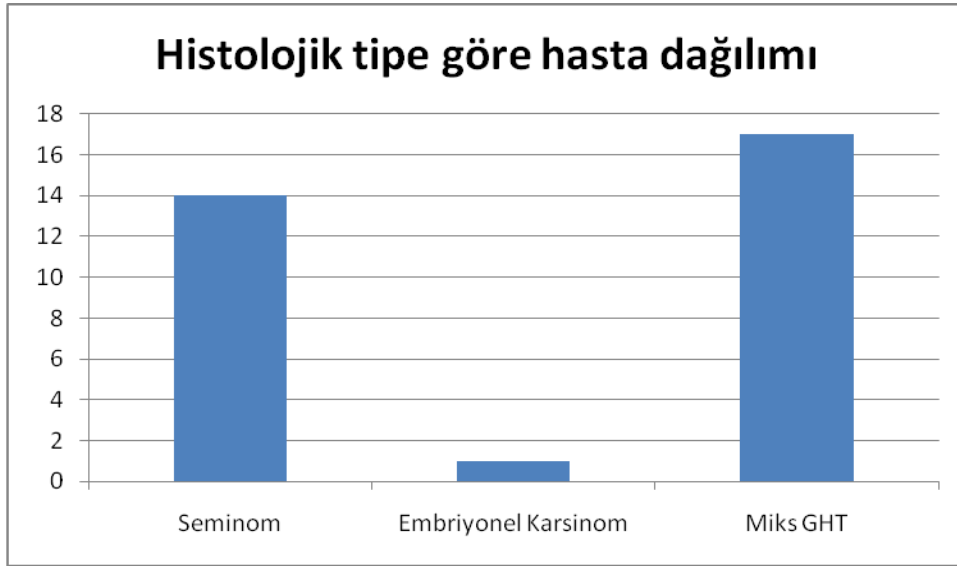
data olarak toplandı. Çalışmada karşılaştırma ve istatistikler EAU'nun testis tümörü guideline'ındaki prognostik faktörler göz önüne alınarak yapıldı.

Çalışmada toplam 32 hasta mevcut olup tümör evrelerine göre dağılımları Garafik 1'de sunulmuştur. Hastaların 15'i saf GHT, 17'si ise mikst GHT içermektedir (Grafik 2) Saf GHT'lerin 14'ü seminom iken yalnızca bir tane pür embriyonel karsinom olgusu mevcuttu. 17 mikst GHT olgusu incelendiğinde bunların %94,1'inin embriyonel karsinom (n=16), %58,8'ini yolk sak tümörleri (n=10), %52,9'unu teratom (n=9), %41,1'ini seminom (n=7) ve %29,4'ünü koryokarsinom (n=5) komponentleri oluşturmuyordu (Grafik 3.).

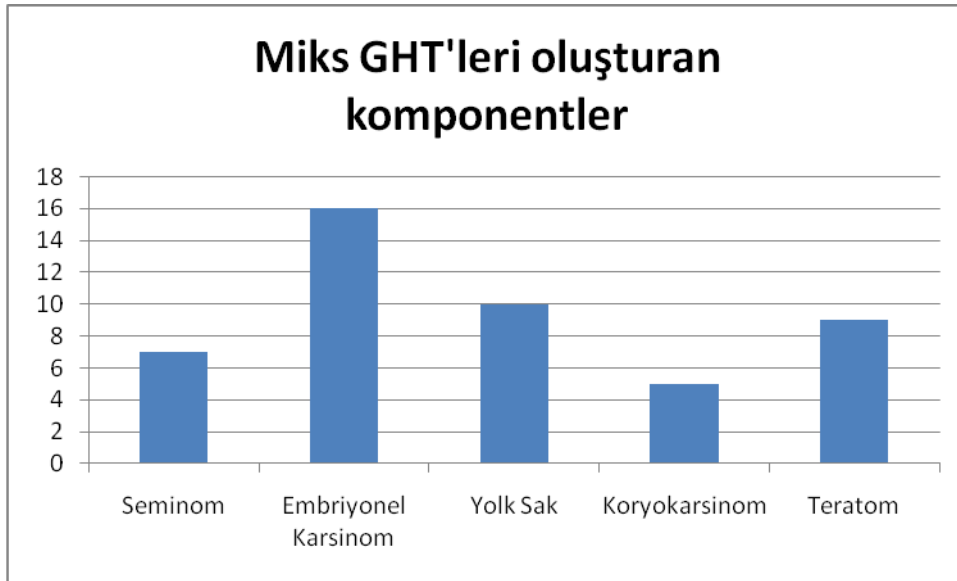
Grafik 1. Hastaların tümör evresine göre dağılımları



Grafik 2. Tümör histolojik tiplerine göre dağılımı



Grafik 3. Miks Germ Hücreli tümörlü hastalarda tümör histolojik tiplerinin dağılımı



Maspin pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik olarak incelendi. Nükleer boyanma saptanmadı. 14 seminom olgusunun yalnızca 1 tanesinde maspin pozitif bulunurken (Resim1), 18 SDGHT'lerden 6'sında maspin pozitif boyandı (Resim2) (Grafik 4). 15 olgu T1, 12 olgu T2, 1 olgu T3 ve 4 olgu da T4 evresindeydi. Evreler kendi aralarında 2'li gruplar oluşturularak analiz yapıldı. Maspin pozitifliği ile evreler arasında istatistiksel fark saptanmadı. P değerleri: $P_{(T1-T2)}:0,5$ $P_{(T1-T4)}:0,39$ $P_{(T2-T4)}:0,18$. T3 evresinde bir hasta olduğu için istatistik yapılmadı. Hastaların tümör boyutları 4 cm'den küçük ve büyük olmak üzere iki gruba ayrıldı. İki grubun maspin ile ilişkileri değerlendirildi. Aralarında istatistiksel korelasyon saptanmadı ($p>0,05$). Mikst GHT olgularının serum AFP

ve β hCG değerleri incelendi. EAU Guideline'nına göre sınıflandırıldığında tüm hastaların β hCG değerleri 5000mIU/ml) idi. AFP değerleri tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Serum AFP değerlerine göre hasta dağılımları

Derece	AFP	Hasta Sayısı
1+	<1000	14
2+	1000-10000	2
3+	>1000	2

Grupların kendi aralarında yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda Maspın pozitifliğinin AFP değerleri ile ilişkisi olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Grafik 4. Hastaların Maspın boyanma dağılımları

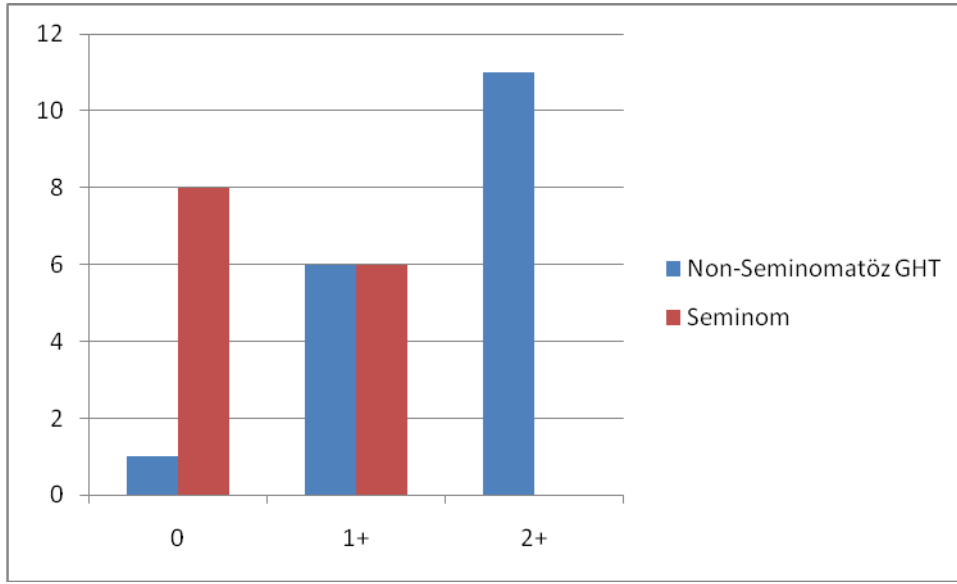


Resim 1. (seminom Maspin boyanması)

Resim 2. (Embriyonel Karsinom MASPİN+)

VEGF için pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde sitoplazmik pozitif boyanma olarak kabul edildi. Seminomlu 8 olguda %5'in altında boyanma oldu veya hic boyanma olmadı (Resim 3). Buna karşılık Mikst GHT'lü olgularda ise 11 hasta da %50'nin üstünde (2+) boyanma olduğu gözlemlendi (Resim 4). Yapılan değerlendirmede seninomlu hastalarda maspin ile VEGF arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0,05$). Non-seminomatöz olgularda da maspin ile VEGF arasında bağıntı gözlenmedi ($p>0,05$).

Grafik 5. Hastaların VEGF boyanma dağılımları



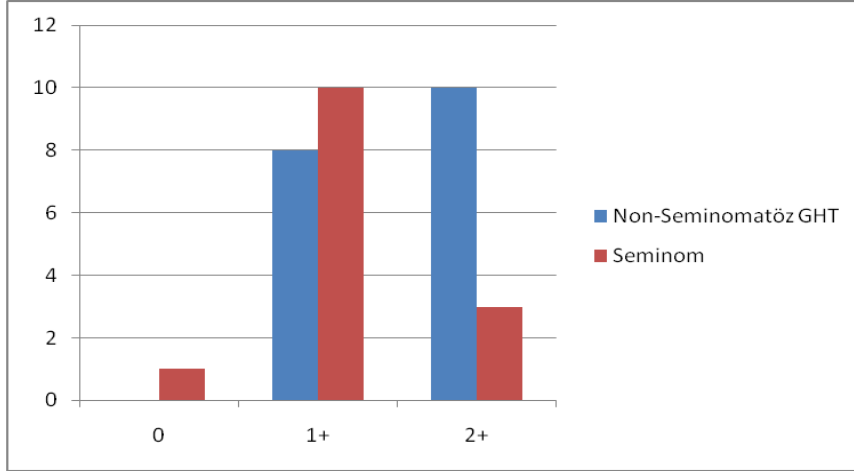
0: %1- 5 hücre pozitif, **1+:** %6- 50 hücre pozitif **2+:** %51- 100 hücre pozitif

Resim 3. Seminom VEGF x400

Resim 4. Embriyonel Karsinom VEGF

P53 değerlendirilmesinde pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer pozitif boyanma olarak kabul edildi (Grafik 6). Seminom olgularının 3 tanesinde %50'den fazla hücrede p53 pozitif boyanırken (Resim 5), mikst GHT olgularının 10'unda %50den fazla boyanma oldu (Resim 6). Seminomlu 1 olguda boyanma olmadı. Bu olgu seminomda maspin pozitif olan tek olgu idi. İstatistiksel olarak seminomlu olgularda maspin ile p53 arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). SDGHT'lerde yapılan istatistiksel analizde maspin ile p53 arasında pozitif korelasyon vardı ($p<0.001$).

Grafik 6. Hastaların P53 boyanma dağılımları



0: %1- 5 hücre pozitif, **1+:** %6- 50 hücre pozitif **2+:** %51- 100 hücre pozitif

Resim 5. Seminom P53x400

Resim 6. Embriyonel karsinom P53

Ki-67 değerlendirilmesinde pozitif boyanma paterni tümör hücrelerinde nükleer pozitif boyanma olarak kabul edildi. 5 büyük büyütme alanında (5 HPF, x400 büyütme) yaklaşık olarak 1000 tümör hücresinde pozitif boyanan hücre sayısı oranı hesaplandı. Seminomda %35,6 (Resim 6) non-seminomatöz GHT'lerde ise %50,1(Resim 7) boyanma gözlendi. Yapılan istatistiksel analizde seminomlu olgularda maspin ile Ki-67 arasında istatistiksel bir bağıntı kurulamadı ($p>0,05$). Non seminomatöz tümörlerde de maspin ile Ki-67 arasında iliğki istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0,05$).

Resim 7. Seminom Ki-67

Resim 8. Embriyonel Karsinom Ki-67

CD31 değeri değerlendirilirken 5 büyük büyütme alanında (5 HPF, x400 büyütme) ortalama damar sayısı hesaplandı. Seminomlu olguların ortalama CD31 değeri 12,2 non-seminomatöz olguların ortalama CD31 değeri ise 8,8 olarak bulundu (Resim 9, 10). İstatistiksel analiz sonucunda hem seminomlu hem de non seminomatöz tümörlerde maspin ile CD 31 arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Resim 9. Seminom CD31

Resim 10. Embriyonel Karsinom CD31

TARTIŞMA

Testis tümörleri, erişkinlerde nadir görülmekle birlikte 15-35 yas arasındaki erkeklerde en sık görülen solid malign tümörlerdir. Bu tümörlerin erkeklerde oluşan tüm malign tümörlerin %1-2'sini oluşturdıkları bilinmektedir (104). Tümörlerin %90-95'i germinal dokulardan kaynaklanmaktadır (105). Saf GHT'ler seminom, spermatositik seminom, embriyonal karsinom, yolk kesesi tümörü, koryokarsinom ve teratomu içerir. Mikst GHT'ler ise spermatositik seminom hariç, saf şekillerin akla gelen tüm kombinasyonlarından meydana gelir. Yani, teorik olarak her kombinasyon mümkündür. Testisin germ hücreli tümörlerinin yarısından fazlası saf şekilde ortaya çıkar. Mikst germ hücreli tümörler için bu oran %32-54 arasında değişmektedir (25,29). Bizim çalışmamızda 32 testiküler germ hücreli tümör olgusunun 15'i (%46,8) saf, 17'si (%52,2) mikst germ hücreli tümör idi. Günümüzde tümörler ile ilgili yapılan çalışmalarda tümör progresyonunun belirlenebilmesi amacıyla çok sayıda çalışma yapılmakta ve neredeyse her gün bir takım moleküler markırlar saptanmakta ve internet ortamında sunulmaktadır. Testis tümörleri, bu markırlar açısından şanslı bir grupta sayılabilirler. Çünkü, özellikle AFP, HCG ve LDH gibi markırlar hem tümör progresyonun belirlenmesi, hem de yapılan tedavi sonrası tedaviye cevap ve nüksün değerlendirilebilmesi için bize mükemmel bir olanak sunar. Buna rağmen bu markırların özellikle saf seminom ve bazı nonseminomatöz tümörlerde yükselmemeleri, testis tümörlerinin progresyonunu gösterebilecek yeni moleküler markırların araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

Maspin, ilk defa 1994 yılında normal meme dokusu ve meme kanser hücre dizilerinde hibridizasyon yöntemi ile bulunmuştur (79). Hücre düzeyinde farklı lokalizasyonlarda maspin varlığı söz konusudur. Meme epitel hücrelerinde maspin, öncelikle hücre sitoplazmasında lokalizedir, ancak miyoepitelyal hücre nukleuslarında, sekretuar veziküllerde ve hücre yüzeyinde de gösterilmiştir (80). Maspin, normal meme ve prostat epitel hücrelerinde saptanırken ilk olarak invaziv ve metastatik meme, prostat kanserlerinde azalmış gen olarak bulunmuştur (80,85). İn vitro çalışmalarda maspinin tümör supresör fonksiyonu ortaya konmuştur, hücre adezyonu ve diğer serpinlerin aksine apoptoziste artmaya, hücre motilitesi, anjiogenezis ve perisellüler proteolizde azalmaya neden olur (80,83). Bazı deneysel çalışmalarda malign tümörlerin gelişim ve/veya progresyonunu p53 bağımlı yol, plazminojen aktivasyon inhibisyonu ve anjiogenezis inhibisyonu aracılığı ile önlediği gösterilmiştir (85). Aynı şekilde maspinin anjiogenez üzerinden etki gösterdiği ve VEGF ile ilişkili olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (135,136). Normal insan meme ve prostat epitel hücrelerinde yüksek maspin ekspresyonu gösterilmiştir. Ancak bu organların kanser

hücrelerinde ekspresyon azalmış, metastazlarında ise kaybolmuştur (82,84,88). Oral skuamöz hücreli karsinomlarda artmış maspin ekspresyonunun iyi prognostik faktör olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (84). Buna zıt olarak normal pankreas hücrelerinde maspin ekspresyonu gösterilememişken, pankreas kökenli kanserlerde artmış maspin ekspresyonu saptanmıştır (84,85).

Ürolojide maspin çalışmalarının büyük bir kısma prostat kanseri ile ilgilidir. Normal prostat epitelyum hücrelerinde yüksek oranda maspin salınımı göstermiştir. Ancak prostat kanserli hücrelerde maspin salınımı azalmış, metastazlarda kaybolmuştur (84,87,88). Cher ve arkadaşları maspin'in metastatik prostat kanserli hastalarda osteolizisi inhibe ettiğini belirtmiştir (138). Jiang ve arkadaşları da prostat ve akciğer kanserinde maspin pozitifliğinin apoptozis benzeri etkisi olduğunu öne sürmüşlerdir (139). Mesane tümöründe maspin ile ilgili ilk çalışma Friedrich ve arkadaşları tarafından yapılmış olup çalışmada invaziv olmayan mesane tümörlerinde (pTa/pT1) neoangiogenesis ile hastalıksız sağkalım veya rekürrens incelenmiş ancak aralarında istatistiksel fark saptanmamıştır (140). Sugimoto ve arkadaşları kas invaze mesane tümörleri ile invaziv olmayan mesane tümörleri karşılaştırılmış, kas invaze mesane tümörlerinde maspin etkisinin azaldığını gözlemişlerdir. Bunun da kötü prognoz göstergesi olduğunu belirtmiştir (141). Beecken ve arkadaşları 51 olgulu mesane transizyonel hücreli karsinomunda maspin ekspresyonunu PCR ve immunhistokimyasal olarak değerlendirme yapmıştır. Normal üroepitelyal hücrelerinde ve yüzeysel mesane tümörlerinde maspin ekspresyonu saptarken invaziv mesane tümörlerinde maspin ekspresyonunun azaldığının bildirmiştir (142). Turunç ve arkadaşları böbrek tümörlerinde yapılan çalışmada RCC'de maspin ekspresyonunun azaldığını bunun da tümör boyutu ve yüksek patolojik evre ile ilişkili olduğunu saptamışlar ve maspin ekspresyonunun azalmasının RCC'de kötü prognoz olduğunu belirtmişlerdir (131).

Maspinin nükleer ve sitoplazmik ekspresyonunun farklı tümörlerde farklı klinikopatolojik önemi olduğunu belirten çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda nükleer pozitifliğin iyi prognostik gösterge olduğu, bazılarında ise maspin pozitifliğinin daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Sood ve arkadaşları over kanserlerinde sitoplazmik lokalizasyonun kötü prognozla, nükleer lokalizasyonun ise daha benign olaylarla ilişkili olduğunu bildirmişler, buna neden olarak da maspinin nükleer lokalizasyonun bu molekülün belki de aktif formu olduğunu ve önemli bir tümör supresif rolü olabileceğini vurgulamışlardır (82). Akciğer tümörleri ile yapılan çalışmalarda ise Lonardo ve arkadaşları akciğer adenokarsinomlarında nükleer maspin pozitifliği gösteren grupta daha iyi morfolojik göstergeler bulmuşlar (137). Nakagawa ve arkadaşları ise maspin pozitif ve negatif gruplar

arasında prognoz açısından bir fark saptamamışlardır (85). Buna karşılık böbrek tümörlerinde maspinin sitoplazmik boyanmasına rağmen iyi prognostik faktör olarak bildirilmiştir (131).

Çalışmamızda 15 seminom olgusunun yalnız 1 tanesinde ve 17 SDGHT olgusunun 6 tanesinde maspin pozitifliği mevcuttu. Maspin pozitif olan tüm tümörler sitoplazmik olarak boyanmıştır, hiçbir tümörde nükleer boyanma görülmemiştir. Pozitif boyanan tümörlü hücrelerin az olmasından dolayı çalışmamızdaki sitoplazmik boyanmanın iyi ya da kötü prognoz göstergesi olup olmadığını söylemek zordur. Muhtemelen sitoplazmik lokalizasyonda immünohistokimyasal olarak saptanan maspinin moleküler düzeyde farklı alt formları (aktif veya inaktif) mevcut olabilir ve bu formlar maspin'in tümörlerdeki davranış şeklini ortaya koyabilir. Sitoplazmik maspin ekspresyonunda mevcut olan bu belirsizlik yapılacak olan moleküler düzeydeki çalışmalar ile aydınlatılabilir. Çalışmamızda SDGHT'lerde maspin pozitifliği, seminom grubuna göre anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. SDGHT'lerde prognozun seminoma göre daha kötü olduğu bilinmektedir. Fakat maspin ile tümör evresi, tümör boyu ve AFP düzeyi arasında herhangi bir bağlantı gösterilememiştir. Buna göre maspin'in testis tümörlerinde kötü bir prognostik faktör olduğu söylenemez ama SDGHT'lerde daha fazla bulunması daha geniş serili çalışmalarda ele alınması gereken önemli bir konudur.

Anjiogenezi, tümörün en önemli biyolojik faktörlerinden biridir. Tümör anjiogenezinin, tümörün büyümesi, invazyonu, metastazı ve rekürrensi üzerinde etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (93,94). Anjiogeneze katkıda bulunan faktörler içerisinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), yeni kan damarı oluşumunda etkisi olan en önemli moleküllerden biridir. VEGF, tümör anjiogenezi yanı sıra tümör hücrelerinin proliferasyonunu indükleyen otokrin ve parakrin bir büyüme faktörü olarak da görev yapar. VEGF'in tümöre ait damarların geçirgenliğini arttırdığı, serin proteaz ve metalloproteazları indüklediği, endotelial hücre apoptozunu ve dendritik hücre matürasyonunu ise inhibe ettiği çalışmalarla gösterilmiştir (92). Meme kanseri, küçük hücreli akciğer karsinomu, gastrointestinal tümörler, şeffaf hücreli böbrek adenokarsinomu, over kanseri, hepatosellüler karsinom, özofagus kanseri, nazofaringeal karsinom ve mide kanseri gibi birçok tümörde VEGF düzeyleri ile metastaz ve/veya kötü prognoz arasında ilişki bulunmuştur (108-110). Ancak testis tümörleri ile ilgili literatürde yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. Fukuda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada VEGF ekspresyonun anlamlı olarak tümörlü testislerde daha yüksek olduğu gösterilmiş, yapılan multivariate analizlerde özellikle seminomda metastaz gelişimiyle anlamlı korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (111). Jones ve arkadaşları ise 28 seminomlu ve 23 teratomlu hastaları normal testis dokusu ile karşılaştırdıkları çalışmalarında

VEGF'nin relaps ve hastalıksız sağkalım açısından istatistiksel bir fark saptamamışlardır (112).

Bizim çalışmamızda seminomlu 14 olgunun 8'inde %5'in altında VEGF boyanması olurken 6 olguda %6-50 boyanma oldu, %50'den fazla boyanan olgu yoktu. Buna karşılık Mikst GHT'lü olgularda ise 11 hasta da %50'nin üstünde boyanma olduğu gözlemlendi. SDGHT'lerin seminomlara göre daha kötü prognozlu ve daha agresif olmaları nedeniyle SDGHT'lerde VEGF boyanma yüzdesinin yüksek olması literatür ile uyumlu bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamızda hem seminom hem de nonseminomatöz hasta gruplarında maspin ile VEGF arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Her ne kadar daha önce yapılan bazı çalışmalarda maspin ile anjiyogenez arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar olsa da, bizim çalışmamızda bu ilişki bulunmamıştır. Benzer şekilde daha önce böbrek tümörleriyle yapılan bir çalışmada da maspin ile VEGF arasında bir ilişki bulunamamıştır (131). Bu sonuca bakarak maspin'in böbrek tümörlerinde olduğu gibi testis tümörlerinde de diğer tümör gruplarından farklı olarak anjiogenezis dışı mekanizmalar ile hücresel düzeyde etki göstermiş olabileceği düşünülebilir.

Ki-67, birçok malign tümörde doğru histopatolojik tanı, prognoz ve tedavi yaklaşımlarını belirlemede kullanılan bir proliferasyon kinetiği belirleyicisidir (96,97). Honecker ve arkadaşları, ikinci ve üçüncü trimesterde erkek gonadlarında Ki-67 gelişimin erken döneminde yüksek düzeyde iken bu marker'ın zamanla azaldığını saptadılar. Ki-67, 24. haftada tubuller içindeki gonositlerde belirgin iken, 24. haftadan sonra tubuler içinde santralde ve bazalde eşit düzeyde görülüp, zamanla pozitif hücrelerin tubullerin santralinde lokalize olduğunu ve sayısının da azaldığını saptadılar (114).

Testisin germ hücreli tümörlerinde Ki-67 indeksi hastaların risk grubunu belirlemek için kullanılmaktadır. Heidenreich ve arkadaşları klinik olarak evre-1 non-seminomatöz GHT içeren 89 vakayı lenf nodu tutulumuna dair patolojik risk faktörleri açısından araştırdılar. Bu amaçla tümörün proliferasyon hızını, yani Ki-67 indeksini belirlemek için MIB-1 monoklonal antikorunu kullandılar. Fakat klinik evre-1 non-seminomatöz GHT'lerde, MIB-1 ekspresyonunun patolojik evre ile korelasyonu izlenmedi (96).

Mazumdar ve arkadaşları embriyonal karsinomda AFP, HCG, LDH gibi serum tümör marker'leri ile Ki-67, hücre ölümü ile ilişkili p53 ve apoptozin prognozla ilişkisini araştırmak amacıyla diğer germ hücre komponentlerini içeren ve içermeyen tedavi edilmiş 95 embriyonal karsinom olgusunu incelemiştir. Bu olgularda Ki-67, apoptoz, p53 seviyesinin tedaviye cevabı etkilediği ve dolayısıyla yaşam süresiyle ilişkili olduğu saptanmaktadır (115). Düşük ise 20 seminom olgusunda immünohistokimyasal olarak Ki-67 antikoruna ile tümörün büyüme

paternini ve proliferatif aktivitesini araştırdığı çalışmada seminomlarda tümör hücrelerinin büyüme hızını Ki-67 ile %50-80 arasında bulmuştur. Çoğu patolojik evresi yüksek olan vakaları kapsayan bu çalışmada, tümörlerin patolojik evresi ile proliferasyon hızı arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Proliferatif aktivitenin incelenmesi, seminomların kemoterapi ve radyasyona duyarlılığını belirlediğinden rutin tanıda Ki-67 yapılması gerektiğini onermektedirler (116). Bizim alışmamızda ise seminomlu hastaların Ki-67 indeksi 35,6 non seminomatöz GHT'lerin 50,1 bulunurken istatistiksel olarak maspin ile Ki-67 arasında ilişki kurulamamıştır ($p>0,05$).

17. kromozom kısa kolunda yerleşik (17p13 1) p53 tümör baskılayıcı gen, insan kanserlerinde en sık mutasyon gösteren genlerden biridir (98,99). p53 hücrenin G1-S fazını uzatarak tamirine daha fazla zaman tanır ve tamir başarısız olursa apoptotik lme yönlendirir. p53 mutasyonu en sık 5-8. eksonlarda izlenir. Kolorektal kanserlerde, ürotelyal kanserlerde, renal hücreli kanserlerde, küçük hücreli dısı akciğer kanserlerinde, özofagus skuamöz hücreli kanserlerinde, servikal kanserlerde (skuamöz hücreli ve adenokarsinom), endometrial karsinomlarda, meme invaziv duktal karsinomlarında ve duktal karsinoma insitularda, meningiomlarda, melanomlarda, derinin skuamöz ile bazal hücreli karsinomlarında ve bir çok organın preneoplastik lezyonlarında p53 overekspresyonu ve mutasyonu bildirilmiştir (117,118).

p53 overekspresyonu ve mutasyonları az diferansiye bir çok kanserde görülür ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Literatürde p53 overekspresyonunun p53 mutasyonlarıyla arasında %75'e varan güçlü bir ilişki olduğunu belirtir çalışmalar vardır. (30,98). Bostwick ve arkadaşları ürotelyal karsinomlarda p53 immünreaktivitesinin yüksek tümör evresi, derecesi, vasküler invazyon, rekürrens, progresyon ve sağ kalım ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (119). Bunların dışında normal p53'n antianjiogenik fonksiyonu olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir (117). Esrig ve arkadaşları ise çalışmalarında mesaneye sınırlı kanserlerde p53 ile rekürrens ve sağ kalım azalması arasında güçlü bir ilişki tespit etmişlerdir (122). Bartkova ve arkadaşları, 47 seminom olgusunun %23'nde p53 boyanması olmadığını, %43'nde zayıf, %34'nde orta derecede olmak üzere olguların toplam %77'sinde p53 boyanması olduğunu gözlemişlerdir. Aynı çalışmada preinvaziv GHT'lerde %59 oranında p53 pozitifliği bildirerek, GHT'lerinin patogenezinde p53 geninin rol oynadığını ileri sürmüşlerdir (123). Soini ve Paakko ise 15 saf seminom olgusunun %73'nde p53 ekspresyonu olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada seminom olgularının bu yüksek p53 ekspresyonuna karşın, apoptozis oranı da yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum GHT'lerde p53 mutasyonu olmadığı, eksprese

edilen proteinin doğal yapıda p53 proteini (“wild” tip p53 proteini) olduğu düşüncesi ile açıklanmıştır (124).

p53 ekspresyonunun genellikle radyoterapi ve kemoterapiye dirençle birlikte olması testis GHT’lerinin de radyoterapi ve kemoterapiye duyarlı olmaları nedeniyle, GHT’lerde p53 protein ekspresyonunun p53 geninde oluşan bir mutasyona bağlı olup olmadığı bir çok çalışmada araştırılmıştır (125,127). Testisin germ hücreli tümörlerinde p53 mutasyonu olduğunu bildiren çalışmalara karşın, bu tümörlerde eksprese olan proteinin “wild” tip p53 proteini olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (125-126). Süllü ve arkadaşları, 49 GHT’de p53 ve bcl-2 ekspresyonu ile tümörlerin morfolojik ve biyolojik özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemiş ve seminomlarda %86 ve SDGHT’lerde %75 oranında saptanan p53 ekspresyonu saptamıştır. Ancak hasta takiplerinde yeterli kayıt olmaması nedeniyle p53 ve bcl-2 ekspresyonu ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki değerlendirilememişlerdir (128).

Normal hücrelerde p53 ekspresyonu iyi prognostik faktördür. Ancak tümörlü hücrelerde p53 overekspresyonu ve mutasyonları kötü prognoz ile ilişkilidir (98). Çalışmamızda seminom ve SDGHT’lerin p53 boyanmaları ayrı ayrı değerlendirilmiş ve seminomlara göre SDGHT’lerin çoğunda güçlü bir p53 ekspresyonu saptanmıştır. Bu sonuç, mutant p53’ün daha agresif seyirli olan SDGHT’lerde daha fazla eksprese edildiğinin gösterilmesi açısından önemlidir. Ayrıca, SDGHT’lerde maspin ile p53 arasında istatistiksel olarak pozitif bir ilişki gösterilmiştir. Bu ilişki, maspin’in SDGHT’lerde p53 yolağı üzerinden etki göstermiş olabileceğini düşündürmektedir.

Trombosit endotel adezyon molekülü-1 (PECAM-1); CD31 ve endoCAM olarak da bilinen, 130 kD ağırlığında immünglobulin süperaillesinden bir moleküldür. CD31 ilk olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinden klonlanmıştır (101). Adı trombositler ile ilgili olmasına rağmen trombosit fonksiyonu üzerine çok önemli bir etkisi olmayıp özellikle endotel hücreleri üzerinde bulunan hücre-hücre adezyon molekülüdür (102). CD31 genelde ven sisteminde bulunan panvasküler bir markırdır ve genellikle tümör anjiyogenezinin sayısal ölçümü olan damar yoğunluğunu ölçmek için kullanılan en yaygın markırlardan biridir (131). Bu markır formalinle fikse parafin doku bloklarının immünohistokimyasal analizinde sıklıkla kullanılır (129). Ek olarak CD31 in serumda saptanan çözünür formu (sCD31) angiogenesisin bir marker olarak ilgi çekmektedir (130). Yilmazer ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada RCC’de mikrodamar yoğunluğu (MVD) ölçümü için CD31 ve CD34 markırları kullanılmış ve CD34 boyanması ile tümör progresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmasına rağmen CD31 düzeyi ile tümör tipi, evresi, nükleer derecesi ve sağkalım ile önemli korelasyon göstermemiştir (134). Buna karşılık Turunç ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada ise CD31 markırı ile ölçümü yapılan MVD'nin RCC'nin progresyonunda zıt bir ilişki olduğu ortaya konmuş ve iyi bir prognostik faktör olduğunu belirtilmiştir (131). Bizim çalışmamızda CD31 için 5 büyük büyütme alanında damar sayısı hesaplanmış ve maspin ile CD31 arasında hem seminom hem de SDGHT'ler arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Yaptığımız çalışma, maspin markırının testis tümörlerinde gösterilmiş olması açısından önemlidir. Çalışmamızda maspin'in SDGHT'lerde seminomlara göre daha fazla eksprese olduğunu bulduk, fakat maspin ile tümörlerin evre ve boyutları arasında herhangi bir ilişkiyi gösteremedik. Bu sonuçlara göre maspin'in testis tümörlerinde kötü bir prognostik faktör olduğunu söylemek güçtür. Bu konunun aydınlatılması, ancak geniş serili çalışmalarla mümkün olabilir. Vücuttaki birçok tümörde maspin sitoplazmik ya da nükleer boyanma göstermiş olup, bizim çalışmamızda sitoplazmik olarak boyanmıştır. Literatürde sitoplazmik ya da nükleer boyanmanın iyi ya da kötü prognozu gösterdiği ile ilgili çelişkili çalışmalar mevcuttur. Dolayısıyla maspin'in testis tümörlerindeki sitoplazmik boyanmasının bir anlamı olmayabilir. Çalışmamızda testis tümörlerinde maspin ile VEGF, ki-67 ve CD31 arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Dolayısıyla maspin, testis tümörlerinde hücresel düzeyde anjiyogenez ve benzeri yollar dışında farklı yollar ve hücresel düzeyde farklı reseptörler ile etkisini göstermiş olabilir. Nitekim, SDGHT'lerde maspin ile p53 arasında anlamlı bir ilişkinin gösterilmiş olması, maspin'in p53 yolağı üzerinden etki göstermiş olabileceğini düşündürmektedir. Maspin'in testis tümörlerindeki etki mekanizmasının ortaya konulabilmesi için daha geniş serili, elektrofizyolojik ve elektron mikroskopik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Black RJ, Bray F, Ferlay J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer*. 1997 Jun;33(7):1075-107.
2. Henderson BE, Bernstein L, Ross RK, Depue RH, Judd HL. The early in utero oestrogen and testosterone environment of blacks and whites: potential effects on male offspring. *Br J Cancer*. 1988 Feb;57(2):216-8.
3. Schmiedel S, Schüz J, Skakkebaek NE, Johansen C. Testicular Germ Cell Cancer Incidence in an Immigration Perspective, Denmark, 1978 to 2003. *J Urol*. 2010 Feb 18.
4. Jacobsen R, Møller H, Thoresen SØ, Pukkala E, Kjaer SK, Johansen C. Trends in testicular cancer incidence in the Nordic countries, focusing on the recent decrease in Denmark. *Int J Androl*. 2006 Feb;29(1):199-204.
5. Pukkala E, Weiderpass E. Socio-economic differences in incidence rates of cancers of the male genital organs in Finland, 1971-95. *Int J Cancer*. 2002 Dec 20;102(6):643-8.
6. Akdogan B, Divrik RT, Tombul T, Yazici S, Tasar C, Zorlu F, Ozen H. Bilateral testicular germ cell tumors in Turkey: increase in incidence in last decade and evaluation of risk factors in 30 patients. *J Urol*. 2007 Jul;178(1):129-33
7. Davies TW, Palmer CR, Ruja E, Lipscombe JM. Adolescent milk, dairy product and fruit consumption and testicular cancer. *Br J Cancer*. 1996 Aug;74(4):657-60.
8. Özen H, Türkeri L. Üroonkoloji Kitabı. Birinci Basım. Ertem Basın Yayın. 2007:1065-1110.
9. Looijenga LH, Oosterhuis JW. Pathogenesis of testicular germ cell tumours. *Rev Reprod*. 1999 May;4(2):90-100.
10. Leahy MG, Tonks S, Moses JH, Brett AR, Huddart R, Forman D, Oliver RT, Bishop DT, Bodmer JG. Candidate regions for a testicular cancer susceptibility gene. *Hum Mol Genet*. 1995 Sep;4(9):1551-5.
11. Gilbert JB, Hamilton J. Incidence and nature of tumors in ectopic testes. *Surg Gynec Obst*. 1940;71:731-743

12. Campell HE. Insidance of mailgnant growth of the undercended testicle: a reply and re-evaluation. Arch Surg. 1942;44:353-369
13. Whitaker RH. The undescended testis - the risk of malignant degeneration. Monogr Paediatr. 1981;12:104-8
14. Batata MA, Chu FC, Hilaris BS, Whitmore WF, Golbey RB. Testicular cancer in cryptorchids. Cancer. 1982 Mar 1;49(5):1023-30.
15. Dieckmann KP, Pichlmeier U. Clinical epidemiology of testicular germ cell tumors. World J Urol. 2004 Apr;22(1):2-14.
16. Rapley EA, Crockford GP, Teare D, et al. Localization to Xq27 of a susceptibility gene for testicular germ-cell tumours. Nat Genet. 2000 Feb;24(2):197-200.
17. Hoei-Hansen CE, Rajpert-De Meyts E, Daugaard G, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ testis, the progenitor of testicular germ cell tumours: a clinical review. Ann Oncol. 2005 Jun;16(6):863-8.
18. Rothman KJ, Louik C. Oral contraceptives and birth defects. N Engl J Med. 1978 Sep 7;299(10):522-4
19. Henderson BE, Benton B, Jing J, Yu MC, Pike MC. Risk factors for cancer of the testis in young men. Int J Cancer. 1979 May 15;23(5):598-602.
20. Rashid HH, Cos LR, Weinberg E, Messing EM. Testicular microlithiasis: a review and its association with testicular cancer. Urol Oncol. 2004 Jul-Aug;22(4):285-9.
21. Richie JP, Steele GS. Testis tümörleri. In Walsh, Retik, Vaughan, Vein ; Campell üroloji. Ceviri: Çağatay Göğüş. 8.Baskı. Güneş Kitapevi, 2005:2876-2919
22. Kennedy BJ. Clinacal signs and symptoms testis cancer , Section IV, Comprensive Textbook of Genitourinary Onkology 1996:921
23. Comiter CU, Benson CJ, Capelouto CC, Kantoff P, Shulman L, Richie JP, Loughlin KR. Nonpalpable intratesticular masses detected sonographically. J Urol 1995;154(4):1367-1369.
24. European Association of Urology, Guidelines of Testicular Cancer, March 2009.
25. Ulbright TM, Germ Cell Neoplasms of the Testis. The American Journal of Surgical Pathology 1993; 1075-1091

26. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord and Scrotum. Atlas of Tumor Pathology Third Series Fascicle 25 AFIP, Washington DC 1999; 86
27. Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. Mod Pathol. 2005 Feb;18 Suppl 2:S61-79.
28. Mostofi FK, Sesterhenn IA, Davis CJ Jr. Developments in histopathology of testicular germ cell tumors. Semin Urol. 1988 Aug;6(3):171-88.
29. Mostofi FK, Sesterhenn IA. Tumours of the Testis and Paratesticular Tissue: in World Health Organisation Classification of Tumours. Lyon 2004; 218-249
30. Rosai J. Editor Testis. In Acerman's Surgical Pathology, Vol.1, 9th Edition St. Louis, Mosby Company, 2004; 1412-1456.
31. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds.). World Healty Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Press: Lyon 2004:217-278
32. Manivel JC, Niehans G, Wick MR, Dehner LP. Intermediate trophoblast in germ cell neoplasms. Am J Surg Pathol. 1987 Sep;11(9):693-701.
33. Sesterhenn IA, Davis CJ-Jr. Pathology of Germ Cell Tumors of the Testis. Cancer Control 2004; (11) 6:374-87.
34. Mostofi FK, Sesterhenn IA, Davis CJ Jr. Immunopathology of germ cell tumors of the testis. Semin Diagn Pathol. 1987 Nov;4(4):320-41.
35. Tickoo SK, Tamboli P, Warner NE, Amin MB. Testis and Paratestis Including Spermatic Cord. In: Modern Surgical Pathology. Eds: Weidner N, Cote R J, Suster S, Weiss LM. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 1215- 1256.
36. Butch AW & Pappas AA: Tumourr markers. In; Tretz Textbook of Clinical Biochomistry 2.Edition. Eds. Burtis CA & Ashwood ER, USA, Saunders Company, 1994:483-500.
37. Richie JP, D'Amico AV. Urologic Onkology. In: Jacopson A, and Lange PH. Testis Tumors: Diagnosis and Staging. USA Elsevier Saunders Company; 2005:567-576
38. Albrecht W, Bonner E, Jesehke K et all. PLAP as a marker for germ cell tumoues. In Jones NG, Apployed I, Germ cell tumours IV. London, John Library Ca. 1998

39. Gross AJ, Dieckmann KP. Neuroo-specific endolase: a serum marker in malignant germ-cell tumors? *Eur Urol*. 1993;24 (2):277-278
40. Leibovitch I, Foster RS, Kopecky KK, Donohue JP. Improved accuracy of computerized tomography based clinical staging in low stage nonseminomatous germ cell cancer using size criteria of retroperitoneal lymph nodes. *J Urol* 1995;154(5):1759-1763.
41. Ellis JH, Blies JR, Kopecky KK, Klatte EC, Rowland RG, Donohue JP. Comparison of NMR and CT imaging in the evaluation of metastatic retroperitoneal lymphadenopathy from testicular carcinoma. *J Comput Assist Tomogr* 1984;8(4):709-719.
42. See WA, Hoxie L. Chest staging in testis cancer patients: imaging modality selection based upon risk assessment as determined by abdominal computerized tomography scan results. *J Urol* 1993;150(3):874-878.
43. Spermon JR, De Geus-Oei LF, Kiemeny LA, Witjes JA, Oyen WJ. The role of (18)fluoro-2 deoxyglucose positron emission tomography in initial staging and re-staging after chemotherapy for testicular germ cell tumours. *BJU Int*, 2002;89(6):549-556.
44. De Santis M, Becherer A, Bokemeyer C, Stoiber F, Oechsle K, Sellner F, Lang A, Kletter K, Dohmen BM, Dittrich C, Pont J. 2-18fluoro-deoxy-D-glucose positron emission tomography is a reliable predictor for viable tumor in postchemotherapy seminoma: an update of the prospective multicentric SEMPET trial. *J Clin Oncol* 2004;22(6):1034-1039.
45. Sobin LH, Wittekind Ch, eds. UICC: TNM classification of malignant tumours. 6th edn. Wiley-Liss, 2002. <http://www.wiley.com/>
46. International Germ Cell Cancer Collaborative Group. International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. *J Clin Oncol* 1997;15(2):594-603.
47. Colls BM, Harvey VJ, Skelton L, Frampton CM, Thompson PI, Bennett M, Perez DJ, Dady PJ, Forgeson GV, Kennedy IC. Late results of surveillance of clinical stage I nonseminoma germ cell testicular tumours: 17 years' experience in a national study in New Zealand. *Br J Urol Int* 1999;83(1):76-82.
48. Oliver RT, Ong J, Shamash J, Ravi R, Nagund V, Harper P, Ostrowski MJ, Sizer B, Levay J, Robinson A, Neal DE, Williams M; Anglian Germ Cell Cancer Group. Long-term follow-up of Anglian Germ Cell Cancer Group

- surveillance versus patients with Stage 1 nonseminoma treated with adjuvant chemotherapy. *Urology* 2004;63(3):556-561.
49. Pizzocaro G, Salvioni R, Zanoni F. Unilateral lymphadenectomy in intraoperative stage I nonseminomatous testis cancer. *J Urol* 1985;134(3):485-489.
 50. Lashley DB, Lowe BA. A rational approach to managing stage I nonseminomatous germ cell cancer. *Urol Clin North Am* 1998;25(3):405-423.
 51. Oliver RTD, Raja MA, Ong J, Gallagher CJ. Pilot study to evaluate impact of a policy of adjuvant chemotherapy for high risk stage I malignant teratoma on overall relapse rate of stage I cancer patients. *J Urol* 1992;148(5):1453-1456.
 52. Studer UE, Fey MF, Calderoni A. Adjuvant chemotherapy after orchidectomy in high risk patients with clinical stage I nonseminomatous testicular cancer. *Eur Urol* 1993;23(4):444-449.
 53. Bohlen D, Burkhard FC, Mills R, Sonntag RW, Studer UE. Fertility and sexual function following orchidectomy and 2 cycles of chemotherapy for stage I high risk nonseminomatous germ cell cancer. *J Urol* 2001;165(2):441-444. EBM III.
 54. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan A. Temel Üroloji 3.Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri 2007.
 55. Pizzocaro G, Nicolai N, Salvioni R. Marker positive clinical stage I non seminomatous germ cell tumours (NSGCT) of the testis: which primary therapy? *J Urol* 1996;155
 56. Baniel J, Roth BJ, Foster RS, Donohue JP. Cost and risk benefit considerations in the management of clinical stage I nonseminomatous testicular tumours. *Ann Surg Oncol* 1996;3(1):86-93.
 57. Davis BE, Herr HW, Fair WR, Bosl GJ. The management of patients with nonseminomatous germ cell tumours of the testis with serologic disease only after orchidectomy. *J Urol* 1994;152(1):111-113. EBM III.
 58. Sternberg CN. The management of stage I testis cancer. *Urol Clin North Am* 1998 Aug;25(3):435-49. EBM IIb.
 59. Aparicio J, Garcia del Muro X, Maroto P, Paz-Ares L, Alba E, Saenz A, Terrasa J, Barnadas A, Almenar D, Arranz JA, Sanchez M, Fernandez A, Sastre J, Carles J, Dorca J, Guma J, Yuste AL, Germa JR; Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group (GG). Multicenter study evaluating a dual policy of

- postorchidectomy surveillance and selective adjuvant single-agent carboplatin for patients with clinical stage I seminoma. *Ann Oncol* 2003;14(6):867-872.
60. Fossa SD, Horwich A, Russell JM, Roberts JT, Cullen MH, Hodson NJ, Jones WG, Yosef H, Duchesne GM, Owen JR, Grosch EJ, Chetiyawardana AD, Reed NS, Widmer B, Stenning SP. Optimal planning target volume for stage I testicular seminoma: a Medical Research Council randomized trial. *J Clin Oncol* 1999;17(4):1146.
 61. Livsey JE, Taylor B, Mobarek N, Cooper RA, Carrington B, Logue PJ. Patterns of relapse following radiotherapy for stage I seminoma of the testis: implications for followup. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2001;13(4):296-300.
 62. Van Leeuwen FE, Stiggelbout AM, van den Belt-Dusebout AW, Noyon R, Eliel MR, van Kerkhoff EH, Delemarre JF, Somers R. Second cancer risk following testicular cancer: a follow-up study of 1909 patients. *Clin Oncol* 1993;11(3):415-424.
 63. Travis LB, Curtis RE, Storm H, Hall P, Holowaty E, Van Leeuwen FE, Kohler BA, Pukkala E, Lynch CF, Andersson M, Bergfeldt K, Clarke EA, Wiklund T, Stoter G, Gospodarowicz M, Sturgeon J, Fraumeni JF Jr, Boice JD Jr. Risk of second malignant neoplasms among long-term survivors of testicular cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(19):1429-1439.
 64. Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, de Wit R, Aass N, Graham JD, Coleman R, Kirk SJ, Stenning SP; MRC TE19 collaborators and the EORTC 30982 collaborators. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial. *Lancet* 2005;23- 29;366(9482):293-300.
 65. Warszawski N, Schmucking M. Relapses in early-stage testicular seminoma: radiation therapy versus retroperitoneal lymphadenectomy. *Scan J Urol Nephrol* 1997;31(4):335-339.
 66. Classen J, Dieckmann K, Bamberg M, Souchon R, Kliesch S, Kuehn M, Loy V; German Testicular Cancer Study Group. Radiotherapy with 16 Gy may fail to eradicate testicular intraepithelial neoplasia: preliminary communication of a dose-reduction trial of the German Testicular Cancer Study Group. *Br J Cancer* 2003;88(6):828-831.
 67. Frohlich MW, Small EJ. Stage II nonseminomatous testis cancer: the roles of primary and adjuvant chemotherapy. *Urol Clin North Am* 1998;25(3):451-459.

68. Saxman S, Finch D, Gonin R, Einhorn LH. Long-term follow-up of a phase III study of three versus four cycles of bleomycin, etoposide and cisplatin in favorable-prognosis germ-cell tumours: the Indiana University Experience. *J Clin Oncol* 1998;16(2):702-706.
69. De Wit R, Stoter G, Kaye SB, Sleijfer DT, Jones WG, ten Bokkel Huinink WW, Rea LA, Collette L, Sylvester R. Importance of bleomycin in combination chemotherapy for good-prognosis testicular nonseminoma: a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1997;15(5):1837-1843.
70. Horwich A, Sleijfer DT, Fossa SD, Kaye SB, Oliver RT, Cullen MH, Mead GM, de Wit R, de Mulder PH, Dearnaley DP, Cook PA, Sylvester RJ, Stenning SP. Randomized trial of bleomycin, etoposide and cisplatin compared with bleomycin, etoposide and carboplatin in good-prognosis metastatic nonseminomatous germ cell cancer: a multi-institutional Medical Research Council/European Organization for Research and Treatment of Cancer trial. *J Clin Oncol* 1997;15(5):1844-1852.
71. De Wit R, Stoter G, Sleijfer DT, Neijt JP, ten Bokkel Huinink WW, de Pryck L, Collette L, Sylvester R. Four cycles of PEB vs four cycles of VIP in patients with intermediate-prognosis metastatic testicular on-seminoma: a randomized study of the EORTC Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Br J Cancer* 1998;78(6):828-832.
72. Nichols CR, Catalano PJ, Crawford ED, Vogelzang NJ, Einhorn LH, Loehrer PJ. Randomized comparison of cisplatin and etoposide and either bleomycin or ifosfamide in treatment of advanced disseminated germ cell tumours: and Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and Cancer and Leukaemia Group B Study. *J Clin Oncol* 1998;16(9):1287-1293.
73. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267:10931-10934
74. Folkman J. Endogenous angiogenesis inhibitors. *APMIS* 2004; 112: 496-507
75. Fidler IJ, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 1994; 79: 185-188
76. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 517-24

77. Offersen BV, Pfeifler P, Hamilton Dutoid S, Overgaard j, Patterns of angiogenesis in non-small-cell lung carcinoma. *Cancer* 2001;91:1500-9
78. Gasparani G, Toi M, Miceli R, et al. Clinical relevance of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in patients with either adjuvant chemotherapy or hormone therapy. *Cancer J Sci Am* 1999;5:101-11
79. Zou Z, Anisowich A, Hendrix MJ, et al. Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. *Science* 1994; 263: 526-529.
80. Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA, et al. Biological functions of maspin. *J Cell Physiol.* 2006 Dec;209(3):617–624.
81. Smith SL, Watson SG, Ratschiller D, Gugger M, Betticher DC, Heighway J. Maspin -the most commonly-expressed gene of the 18q21.3 serpin cluster in lung cancer – is strongly expressed in neoplastic bronchial lesions. *Oncogene.* 2003 Nov 27;22(54):8677-8687.
82. Sood AK, Fletcher MS, Gruman LM, et al. The paradoxical expression of maspin in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2002 Sep;8(9):2924–2932.
83. Khalkhali-Ellis Z. Maspin: the new frontier. *Clin Cancer Res.* 2006 Dec 15;12(24):7279–7283.
84. Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Kondo S, et al. Mammary serine protease inhibitor (Maspin) binds directly to interferon regulatory factor 6: identification of a novel serpin partnership. *J Biol Chem.* 2005 Oct 7;280(40):34210–34217.74.
85. Nakagawa M, Katakura H, Adachi M, et al. Maspin expression and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol.* 2006 Nov;13(11):1517–1523.
86. Machtens S, Serth J, Bokemeyer C, Bathke W, Minssen A, Kollmannsberger C, Hartmann J, Knuchel R, Kondo M, Jonas U and Kuczyk M: Expression of p53 and maspin protein in primary prostate cancer: correlation with clinical features. *Int J Cancer* 95: 337-342, 2001.
87. Umekita Y, Hiipakka RA, Liao S. Rat and human maspins: structures, metastatic suppressor activity and mutation in prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 1997 Feb 26;113(1-2):87-93.

88. Sheng S. A role of novel serpin maspin in tumor progression: the divergence revealed through efforts to converge. *J Cell Physiol.* 2006 Dec;209(3):631–635.
89. Askew YS, Pak SC, Luke CJ, Askew DJ, Cataltepe S, Mills DR, Kato H, Lehoczký J, Dewar K, Birren B, Silverman GA. SERPINB12 is a novel member of the human ov-serpin family that is widely expressed and inhibits trypsin-like serine proteinases. *J Biol Chem.* 2001 Dec 28;276(52):49320-30. Epub 2001 Oct 16.
90. Marioni G, Blandamura S, Giacomelli L, Calgaro N, Segato P, Leo G, Fischetto D, Staffieri A, de Filippis C. Nuclear expression of maspin is associated with a lower recurrence rate and a longer disease-free interval after surgery for squamous cell carcinoma of the larynx. *Histopathology.* 2005 May;46(5):576-82.
91. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989 Jun 15;161(2):851-8.
92. Tian X, Song S, Wu J, et al. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Aug 24;286(3):505-12.
93. Nagy JA, Benjamin L, Zeng H, et al. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis.* 2008;11(2):109-19.
94. Lissoni P, Malugani F, Bonfanti A, et al. Abnormally enhanced blood concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastatic cancer patients and their relation to circulating dendritic cells, IL-12 and endothelin-1. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2001 Apr-Jun;15(2):140-4.
95. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: pp13-20.
96. Heidenreich A, Schenkman NS, Sesterhenn IA et al. Immunohistochemical Expression of Ki-67 to Predict Lymph Node Involvement In Clinical Stage I Nonseminomatous Germ Cell Tumors. *Journal of Urology* 1997(158); 620-625
97. Brown DC, Gatter KC. Ki67 Protein: the Immaculate Detection. *Histopathology* 2002 (40); 2-11

98. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991; 351:453-6.
99. Lane DP. P53 guardian of the genome. *Nature* 1992; 58:15-16.
100. Shaulsky G, Goldfinger N, Yosky MS, Leivne AJ, Rotter V. Nuclear localization is essential for the activity of p53 protein. *Oncogene* 1991; 6:2055-65.
101. Newman PJ., Berndt MC, Gorski J, et al. PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. *Science* 1990; 247: 1219-1222.
102. Behar E, Chao NJ, Hirake DD, et al. Polymorphism of adhesion molecule CD31 and its role in acute graft versus host disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 286-291.
103. Newman PJ. Perspectives series: Cell adhesion in vascular biology. The biology of PECAM-1. *J Clin Invest* 1997; 99: 3-8.
104. DeCastro BJ, Peterson AC, Costabile RA. A 5-year followup study of asymptomatic men with testicular microlithiasis. *J Urol.* 2008 Apr;179(4):1420-3; discussion 1423. Epub 2008 Mar 4.
105. Walsh TJ, Dall'Era MA, Croughan MS, Carroll PR, Turek PJ. Prepubertal orchiopexy for cryptorchidism may be associated with lower risk of testicular cancer. *J Urol.* 2007 Oct;178(4 Pt 1):1440-6
106. Senger DR, Galli SJ, Dvorak M, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science.* 1983 Feb 25;219(4587):983-5
107. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989 Dec 8;246(4935):1306-9
108. Nagy JA, Benjamin L, Zeng H, et al. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis.* 2008;11(2):109-19.
109. Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, et al. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1992 Dec;153(3):557-62.
110. Konno H, Ohta M, Baba M, et al. The role of circulating IL-8 and VEGF protein in the progression of gastric cancer. *Cancer Sci.* 2003 Aug;94(8):735-40.

111. Fukuda S, Shirahama T, Imazono Y, Tsushima T, Ohmori H, Kayajima T, Take S, Nishiyama K, Yonezawa S, Akiba S, Akiyama S, Ohi Y. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with testicular germ cell tumors as an indicator of metastatic disease. *Cancer*. 1999 Mar 15;85(6):1323-30.
112. Jones A, Fujiyama C, Turner K, Fuggle S, Cranston D, Turley H, Valtola R, Bicknell R, Harris AL. Angiogenesis and lymphangiogenesis in stage 1 germ cell tumours of the testis. *BJU Int*. 2000 Jul;86(1):80-6.
113. Rudolph P, Peters J, Lorenz D ve ark. Correlation Between Mitotic and Ki-67 Labeling Indices in Paraffin-Embedded Carcinoma Specimens. *Human Pathology*. 1998(29);1216-1222
114. Jorgensen N, De Meyts RE. Expression of Immunohistochemical Markers for Testicular Carcinoma İn situ by Normal Human Fetal Germ Cells. *Lab Invest*. (Abs) 1995 Feb;7(2); 223-231
115. Mazumdar BM, Bacik J, Tickoo SK ve ark. Cluster Analysis of p53 and Ki67 Expression, Apopitosis, Alpha-fetoprotein and Human Chorionic Gonadotrophin Indicates a Favorable Prognostic Subgroup within the Embriyonal Carcinoma Germ Cell Tumor. *Journal of Clinical Oncology* 2003, 21(14); 2679-2688
116. Düe W, Dieckmann, Loy V. Immunohistological Determination of Proliferative Activity in Seminomas. *J Clin Oncol* 1988: 41;304-307
117. Ong TA, Peh SC, Goh KSK. P53 protein expression in transitional cell carcinoma of the bladder – experience of the university of Malaya Medical Center. *Asian J Surg* 2003 ; 26 (1) : 31-36
118. McShane LM, Aamodt R, Cardo CC. Reproducibility of p53 immunohistochemistry in bladder tumors. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6 : 1854 -64
119. Bostwick DG, Qian J. Bladder. In diagnostic immunohistochemistry, 2nd ed. Elsevier Churchill Livingstone 2006 : 556 – 58
120. Bunz F, Fauth C, Speicher MR. Targeted inactivation of p53 in human cells does not result in aneuploidy. *Canc Res* 2002 ; 62 : 1129 -33
121. Demirkan NÇ, Çolakoglu N, Düzcan E. Value of p53 protein in biological behavior of basal cell carcinoma and in normal epithelia adjacent to carcinomas. *Pathol Oncol Res* 2000 ; 6 (4) :272-4

122. Esrig D, Elmajian D, Groshen S. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *The New England J Med* 1994 ; 331 (19) : 1259-64
123. Bartkova J, Bartek J, Lukas J, Vojtesek B, Staskova Z, Rejthar A, et al. p53 protein alterations in human testicular cancer including preinvasive intratubular germ-line neoplasia. *Int J Cancer* 1991;49:196-202.
124. Soini Y, Paakkö P. Extent of apoptosis in relation to p53 and bcl-2 expression in germ cell tumors. *Hum Pathol* 1996;27:1221-1228.
125. Kuczyk MA, Serth J, Bokemeyer C, Jonassen J, Machtens S, Werner M, Jonas U. Alterations of the p53 tumor suppressor gene in carcinoma in situ of the testis. *Cancer* 1996;78:1958-1966.
126. Wei YD, Jiafu Z, Xi QS, Yongjiang M, Xiulong Z, Daizong L, et al. P53 gene mutations in Chinese human testicular seminoma. *J Urol* 1993;150:884-886.
127. Chresta CM, Masters JRW, Hickman JA. Hypersensitivity of human testicular tumors to etoposide-induced apoptosis is associated with functional p53 and a high bax:bcl-2 ratio. *Cancer Res* 1996;56:1834-1841.
128. Yurdanur Süllü, Bedri Kandemir, Levent Yıldız, Filiz Karagöz, Sancar Barış, Oğuz Aydın. P53 and bcl-2 expression in testicular germ cell tumors. *Türk Patoloji Dergisi* 2006;22(3):181-186
129. Deyoung BR, Wick MR, Fitzgibbon JF, Sirgi KF, Swanson PE: CD31 an immunospecific marker for endothelial differentiation in human neoplasm. *Appl Immunohistochem* 1: 97-100,1993.
130. Goldberger A, Middleton KA, Oliver JA, Paddock C, Yan HC, Delisser HM, Aldelda SM, Newman PJ; Biosynthesis and processing of the cell adhesion molecule PECAM-1 includes production of a soluble form. *J Biol Chem* 269: 17183-17191,1994.
131. Turunc T, Bal N, Dirim A, Kuzgunbay B, Gul U, Ozkardes H. Maspin Expression in Renal Cell Carcinoma and Its Correlation with Clinicopathologic Parameters. *Urology*. 2010 Jun 3.
132. Abulafia O, Triest WE and Sherer DM. Angiogenesis in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 177. 541-547.
133. Alvarez AA., Axelrod JR, Whitaker RS, Isner PD, Bentley RJ et al. Thrombospondin-1 expression in epithelial ovarian carcinoma: association

- with p53 status, tumor angiogenesis, and survival in platinum-treated patients. *Gynecol Oncol* 2001 Aug;82 (2):273-8.
134. Yilmazer D, Han U, Onal B. A comparison of the vascular density of VEGF expression with microvascular density determined with CD34 and CD31 staining and conventional prognostic markers in renal cell carcinoma. *Int Urol Nephrol*. 2007; 39: 691-8.
 135. Bircan A, Bircan S, Kapucuoglu N, Songur N, Ozturk O, Akkaya A. Maspin, VEGF and p53 expression in small biopsies of primary advanced lung cancer and relationship with clinicopathologic parameters. *Pathol Oncol Res*. 2010 Dec;16(4):553-61.
 136. Bolat F, Gumurdulu D, Erkanli S, Kayaselcuk F, Zeren H, Ali Vardar M, Kuscü E. Maspin overexpression correlates with increased expression of vascular endothelial growth factors A, C, and D in human ovarian carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2008;204(6):379-87.
 137. Lonardo F, Li X, Siddiq F, Singh R, Al-Abbadi M, Pass HI, Sheng S. Maspin nuclear localization is linked to favorable morphological features in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2006 Jan;51(1):31–39.
 138. Cher ML, Biliran HR Jr, Bhagat S, Meng Y, Che M, Lockett J, Abrams J, Fridman R, Zachareas M, Sheng S. Maspin expression inhibits osteolysis, tumor growth, and angiogenesis in a model of prostate cancer bone metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jun 24;100(13):7847-52.
 139. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004;54:8–29.
 140. Friedrich MG, Toma MI, Petri S, Cheng JC, Hammerer P, Erbersdobler A and Huland H: Expression of maspin in non-muscle invasive bladder carcinoma: correlation with tumor angiogenesis and prognosis. *Eur Urol* 45: 737-743, 2004.
 141. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y, Sato K, Minei S, Zhang M, Hoshikawa Y, Junemann KP, Jonat W and Nagasaki K: Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. *Cancer Lett* 203: 209-215, 2004.
 142. Beecken WD, Engl T, Engels K, Blumenberg C, Oppermann E, Camphausen K, Shing Y, Reinecke G, Jonas D and Blaheta R: Clinical relevance of maspin expression in bladder cancer. *World J Urol* 24: 338-344, 2006.