

Germ Hücreli Testis Tümörlerinde Tümör Belirleyiciler*

Suzan ZORLUDEMİR
İlhan TUNCER
Seyhan VARİNLİ

TUMOR MARKERS IN GERM CELL TESTIS TUMORS

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı. A D A N A

Geliş Tarihi: 18 Temmuz 1988

Kabul Tarihi: 9 Eylül 1989

ÖZET

Germ hücreli testis tümörlerinde hücre köken ve fonksiyonunu belirlemek için dokuda Alfafetoprotein (AFP) ve Human Chorionic Gonadotropin (HCG) varlığını araştırmayı amaçlayan bu çalışmada, 27 olguya ait parafin doku kesitleri kullanılmıştır.

Formalin tespitli parafin doku kesitlerine Peroksidaz Antiperoksidaz (PAP) yöntemiyle AFP ve HCG tıyılanmıştır; toplam 13 olguda (%48.1) AFP, dört olguda (%14.8) HCG pozitif reaksiyon saptanmıştır. Pür seminom tanısı alan dokuz olgunun hepsinde HCG ve AFP negatiftir. Embriyona! karsinom tanısı alan iki olgunun ikisinde ise AFP iie fwzitif, HCG ile negatifreaksiyon elde edilmiştir. Yolk sak tümörü komponenti bulunan tüm tnikst genn hücreli tümörlerde ve embriyona! karsinom komponenti bulunan II olgunun dokuzunda AFP pozitif bulunmuştur. HCG'nin bir olguda kariokarsinom komponentinde, üç olguda ise tümör stromast içine serilmiş sinsityotrofoblast dev hücrelerde lokalize olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler Testis tümörleri, tümör belirleyicileri, AH', HCXI.

TKITıp »il Araş Dergisi C:B, S:2. 1990,75-79

Genelde tümörler, hücrelerin morfolojik özellikleri değerlendirilerek tanımlanmaktadır. Ancak, testis ve over gibi bazı organ tümörlerinde histolojik verilere dayanan tanı yeterli olmamaktadır. Bu eksikliği ortadan kaldırmak amacıyla, hücre

SUMMARY

Tumor markers Alphafetoprotein (AFP) and Human Chorionic Gonadotropin (HCG) have been widely evaluated for the diagnosis and the follow up of the testicular genn cell ttunors. These markers were examined by Peroxidase Antipemxsidase Techniques (PAP) on the paraffin tissue sections of 27 germ cell testicular cancer cases, diagnosed at Çukurova University Foatfty of Medicine Department of Pathology. AFP and HCG were found negative in alt of the nine cases of pure seminoma, two of thee emryonat carcinomas (ECa) and two Yolk sac tumors showed positive AFP, but negative HCG reaction, alt of the mixed germ ceil tumors with Yolk sac component and nine of the eleven cases with embryonal component were AFP positive and four of 27 cases positive for HCG.

Key Words: Testicular tumors, tumor markers, AFP, HCCJ.

T J Research Med Sei V: 8. R 2, 1990,75-79

köken ve fonksiyonunu belirlemeye yönelik çeşitli araştırmalar yapılmış ve yapılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı, tümör belirleyicilerinin immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılmasıdır. Belirli kanser hücrelerinde özel protein froksiyonları

* VII. Ulusal Kanser Kongresi ve IV. Pediatrik Tümörler Simpozyumu, 15-18 Nisan 1987, Ankara 'da tebliğ edilmiştir.

sentezlediği ve vücut sıvılarına salındığı son yıllarda bilinen bir gerçektir. Tümör belirleyicisi olarak isimlendirilen tümöre özgü veya tümörle ilişkili bu antijenler immunohistokimyasal yöntemlerle dokuda gösterilirken, duyarlı radioimmunoassay yöntemlerle de serumda ölçülebilmektedir (1-3,7,8,13, 14).

Testis germ hücreli tümörlerinde plasental ve embriyonik komponentlerden salgılanan çeşitli tümör belirleyicileri bildirilmiştir. Bunların içinde en geçerli olanları AFP ve HCG'dir (6,8,9,12, 13,14,18). Bu tümör belirleyicilerinin radioimmunoassay yöntemleriyle serumda ölçülmesi,

Tablo -1

27 Germ Hücreli Testis Tümörü Olgusunun Mostofi-WHO'ya Göre Klasifikasyonu

Histolojik Tanı	Olgu Sayısı	Oran (%)
I-Tefe Histolojik Tip		
S	9	33.3
ECa	3	11.1
YST	2	7.4
II-Birden Fazla Histolojik Tip		
ECa + T	3	11.1
ECa + YST	3	11.1
S + STGC	2	7.4
ECa + S	2	7.4
ECa + T + S + CCA	1	3.7
ECa+T + S	1	3.7
ECa + YST + S + STGC	1	3.7

S: Seminom, ECa: Embriyona Carcinoma, YST: Yolk Sac Tumor, T: Teratom, STGC: Sinyotrophoblastic Germ Cell Component, CCA: Choriocarcinoma

tümör tanısında, tedavi sonrası hastaların izlenmesinde ve erken rekürrenslerin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. AFP ve HCG'nin dokuda araştırılması ise; biyolojik davranışları, tedavileri ve prognozları farklı testis tümörlerinde hücre kökenlerinin belirlenmesiyle tamda, fonksiyonel sınıflandırmada ve mikst gerin hücreli tümörlerin aydınlatılmasında etkili olmaktadır (6,8,9,12,13,15, 16,18,19).

Çalışmamızda, daha önce ışık mikroskopunda testis germ hücreli tümörü tanısı almış olgularımıza ait parafin kesitlerde Peroksidaz-Antiperoksidaz (PAP) yöntemi uygulayarak AFP ve HCG araştırılmayı, bulgularımızı kaynaklar ışığında değerlendirmeyi amaçladık.

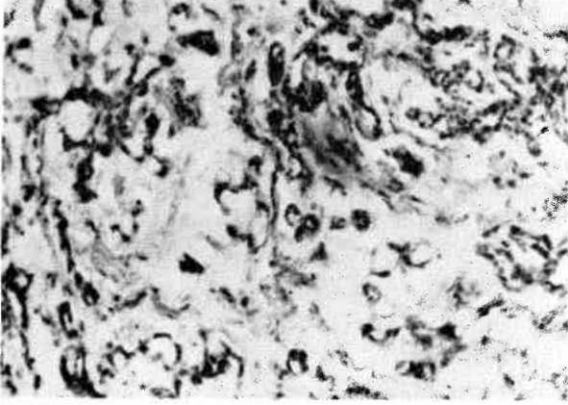
MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Ocak 1979 ile Temmuz 1986 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında testis germ hücreli tümör tanısı almış 27 olgunun parafin blokları kullanıldı. En küçük hasta iki, en büyük hasta ise 54 yaşında olup, hastaların altı tanesini çocuklar oluşturmakta idi. Hastaların hematoxylin-eozin (H-E) ile boyalı prepaatları ışık mikroskopunda tekrar incelendi ve olgular Mostofi-WHO klasifikasyonuna göre sınıflandırıldı (8,13) (Tablo 1). Her olguya ait seçilen bir ya da iki örneğin parafin bloklarından hazırlanan kesitlerde, tümör hücrelerinde PAP yöntemi (17) ile AFP ve HCG araştırıldı. PAP yöntemi için "Ortho" firmasına ait immunoperoksidaz boyama kiti kullanıldı (Katalog No: HCG; 586020, AFP; 584010).

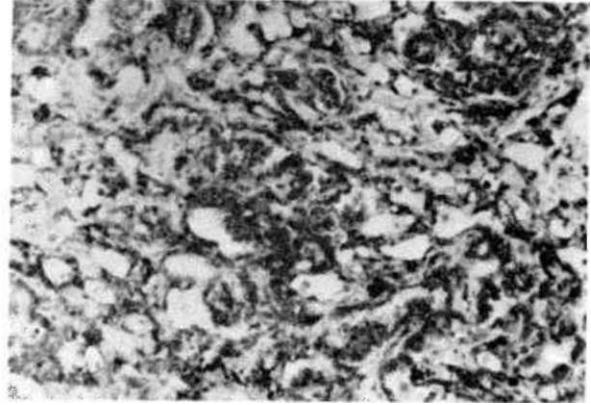
Tablo - II

Germ Hücreli Testis Tümörü Tanısı Alan 27 Olguda AFP ve HCG Dağılımı (PAP Yöntemiyle)

Işık Mikroskopla İnceleme Sonucu Histolojik Tanı	Olgu Sayısı	AFP	HCG	PAP Yöntemi Sonucu Histolojik Tanı
S	9	0	0	s
ECa	3	2	0	ECa
YST	2	2	0	YST
ECa+T	3	2	0	ECa + T
ECa + YST	3	3	0	ECa + YST
S+STGC	2	0	0	S
ECa + S	2	2	1	ECa + S ve ECa + S = STGC
ECa + S + T + CCA	1	0	1	ECa + S + T + CCA
ECa+YST+S+STGC	1	1	1	ECa + YST + S + STGC
ECa + S+T	1	1	1	ECa + S+T + STGC



Şekil 1. Olgu No: 16, Yol sak tümöründe asiner, trabeküler ve tubuler yapılar oluşturan hücre -sitoplazmalarının AFP ile kahverengi-kırmızı renkte şiddetli pozitif boyanışı, PAPx120.



Şekil 2. Olgu No. 15; EST tanısı alan olguda glandüler, alveoler, tubuler yapılar oluşturan hücrelerin AFP ile şiddetli pozitif boyanışı, PAPx120.

BULGULAR

Çalışmamızda 27 olgunun parafin kesitlerine ait AFP ve HCG dağılımı Tablo H'de özetlenmiştir. Buna göre:

1. a) "Tek tip histolojik yapıya sahip germ hücreli tümörler" den saf seminom tanısı alan dokuz olgunun hepsinde parafin doku örneklerinde AFP ve HCG ile negatif reaksiyon saptanmıştır. ECa tanısı alan üç olgudan ikisinde AFP ile pozitif, birinde negatif reaksiyon alınmış, her üç olguda da HCG negatif bulunmuştur. YST tanısı alan iki olgunun ikisinde ise AFP ile pozitif, HCG ile negatif reaksiyon elde edilmiştir.

b) "Birden fazla histolojik yapı içeren germ hücreli testis tümörleri"nden ECa + T tanısı alan üç olgunun ikisinde AFP pozitif, birinde negatif iken, HCG üç olguda da negatif bulunmuştur. ECa + YST tanısı alan üç olgunun üçünde de AFP ile pozitif, HCG ile negatif reaksiyon saptanmıştır. S + STGC tanısı alan iki olguda AFP ve HCG ile negatif reaksiyon alınmıştır. ECa + S tanısı alan iki olguda AFP pozitif iken, HCG bir olguda pozitif, bir olguda ise negatif bulunmuştur. ECa + S + T + CCa tanısı alan bir olguda AFP ile negatif, HCG ile pozitif; ECa + YST + S + STGC ve ECa + S = T tanısı alan birer olguda hem AFP hem de HCG ile pozitif reaksiyon saptanmıştır. Çalışma kapsamına giren 27 olgunun 13'ünde (%48.1) AFP, dördünde (%14.8) ise HCG pozitif bulunmuştur. Işık mikroskobu incelemelerinde S + STGC tanısı alan iki olgumuzda sin-

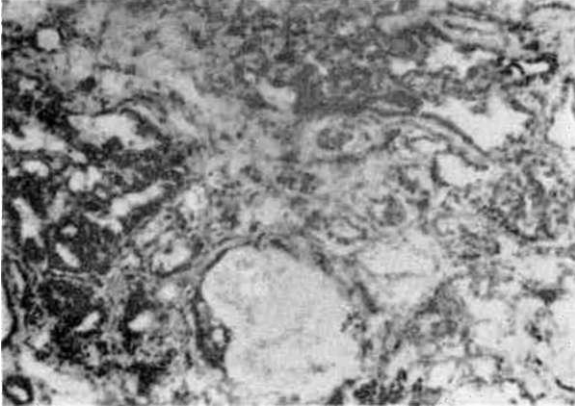
sityotrofoblastları andır dev hücrelerde HCG ile negatif reaksiyon saptanmış, PAP yöntemi sonucunda bu iki olgu saf seminom olarak düşünülmüştür. Mikst germ hücreli testis tümörlü iki olgumuzda PAP yöntemiyle HCG ile pozitif reaksiyon veren hücreler görülmüş, sonuçta bu iki olguda STGC komponentinin varlığı kabul edilmiştir (Tablo II).

Olguların negatif kontrol preparatlarına uygulanan normal tavşan serumu ile, tümör hücrelerinde boyanma görülmemiştir.

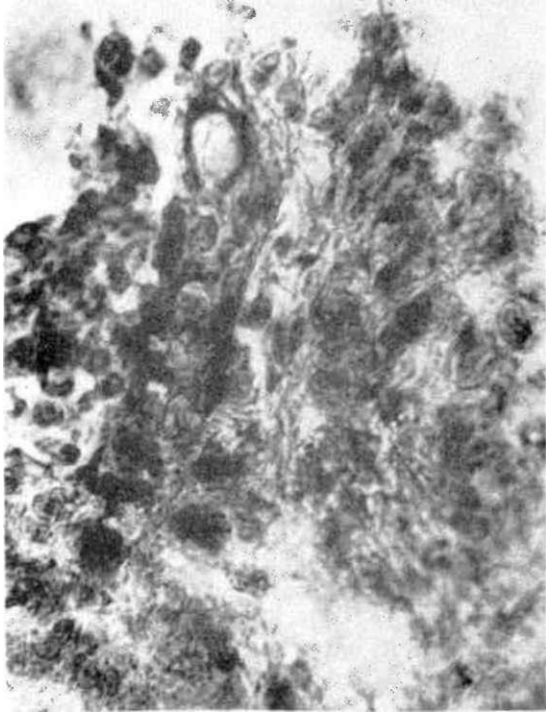
II. Pozitif olgularda AFP ve HCG lokalizasyonu:

a) AFP lokalizasyonu: Saf YST tanısı alan iki olgunun ve YST komponenti bulunan dört olgunun parafin kesitlerine uygulanan PAP yöntemi ile, AFP'nin tümörde asiner, retiküler ve trabeküler yapılar oluşturan hücre sitoplazmalarına lokalize olduğu görülmüştür. Bu hücre sitoplazmalarında granüler kahverengi-kırmızı renkte AFP pozitif reaksiyon saptanmıştır (Şekil 1,2). Ayrıca bu olguların ikisinde intra ve ekstra-sitoplazmik hyalen damlacıklarında da AFP ile pozitif boyanma görülmüştür. Saf ECa tanısı alan üç olguya ve ECa komponenti bulunan on olguya ait parafin kesitlere uygulanan PAP yöntemi ile AFP'nin yer yer glandüler, yer yer ise mikrokistik yapıları döşeyen hücrelere lokalize olduğu izlenmiştir (Şekil 3).

b) HCG lokalizasyonu: Dört olguda HCG pozitif reaksiyon saptanmış olup, HCG'nin bir olguda ECa komponentinin sınırsız sityotrofoblastik



Şekil 3.. Olgu No.20; ECa+T tanısı alan olguda glandüler, tubuler ve mikrokistik yapıları döşeyen hücrelerin AFP ile şiddetli kahverengi-kırmızı renkte pozitiif boyanışı, PAPx120.



Şekil 4. Olgu No: 24; ECa+T+CCa tanısı alan olguda sinsityotrofoblastik dev hücrelerin HCG ile pozitif boyanışı, PAPx400.

hücrelerinde lokalize olduğu görülmüştür (Şekil 4). Diğer üç olguda ise tümör stromasına serpilmüş az sayıdaki sinsityotrofoblastik hücrelerde HCG ile

kahverengi-kırmızı renkte pozitif boyanma saptanmıştır.

TARTIŞMA

Germ hücreli testis tümörü tanısında, H-E ile boyalı preparatların ışık mikroskobu incelemelerine dayanan veriler tanıda yeterli olmamaktadır (13). Preoksidaz Antiperoksidaz yöntemi ile AFP ve HCG'nin araştırılması, germ hücreli testis tümörlerinin tanısında ve sınıflandırılmasında çok önemli aşamalar kaydetmiştir (4,5,10,11,13). Yöntemin, formalin ile tespit edilmiş dokuların parafin kesitlerine uygulanması, verilerin ışık mikroskobuyla değerlendirilebilmesi çalışmayı kolaylaştırmaktadır. Ayrıca zıt boyama yapılarak, tümör belirleyicilerinin dokudaki yeri de ayrıntılı olarak gösterilebilmekte ve preparallar sürekli olarak saklanabilmektedir.

Morinaga ve ark. (11)'nin 57, Kurman ve ark (8)'nin 17 olguluk serilerinde; AFP'nin ECa ve YST'deki mononükleer embriyonal hücrelerde, HCG'nin ise CCa'nın yanısıra sıklıkla ECa'da, nadir olarak ta YST ve S ile birlikte olan sinsityotrofoblastik dev hücrelerde pozitif boyandığı saptanmış, pür T ve S olgularında her iki belirleyicinin de negatif olduğu bildirilmiştir. Her iki çalışmada da HCG ile pozitif boyanma saptanan STGC komponentinin ışık mikroskobu incelemelerinde gözden kaçtığı vurgulanmıştır (8,11).

Çalışmamızda pür YST tanısı alan veya YST komponenti içeren mikst testis germ hücreli tümörlerin hepsinde, pür ECa tanısı alan üç olgudan ikisinde, ECa komponenti içeren 11 olgunun dokuzunda AFP ile pozitif reaksiyon saptanmıştır. CCA ve STGC komponenti bulunan iki mikst testis germ hücreli tümöründe HCG ile pozitif reaksiyon alınırken, ışık mikroskobu ile gözden kaçmış diğer iki mikst tümörde de PAP yöntemi ile STGC komponentinin varlığını göstermiştir. Dokuz pür seminom olgusunun dokuzunda da her iki belirleyici ile boyanma saptanmamış, ışık mikroskobu ile "S+STGC" tanısı alan iki olgumuzda ise HCG ile negatif reaksiyon alınmıştır. Işık mikroskobu incelemelerinde her iki olguda da görülen, sinsityotrofoblastları anımsatan hücrelerin, PAP yöntemi sonucunda, seminomda %6-10 oranında görülen nonspesifik tümör dev hücresi olduğu kabul edilmiştir (4). Böylece serimizde pür

S tanısı alan olgularımızın sayısı dokuzdan 11'e yükselmiştir.

Mostofi ve Sesterhenn (13), pür CCA'nın az görülmesine karşın, tümör hücrelerinde HCG varlığının araştırılması ile testisin germ hücreli tümörlerinde %42.5 oranında STGC komponenti görüldüğünü bildirmiştir. Serimizde üç olguda (%11.1) STGC komponentinin varlığı saptanmıştır. Bu oranın düşüklüğünü olgu sayımızın azlığına, retrospektif olarak tümörün tamamını iriceleyemeyişimize ve az sayıda parafin bloğu değerlendirebilmemize bağlamaktayız.

Çeşitli yazarlar tarafından AFP'nin; YST'lerde glandüler, tubuler, retiküler veya trabeküler yapılar oluşturan hücrelerde, intra ve ekstrasitoplazmik hyalin globüllerinde lokalize olduğu, ECa ve ECa+T'da glandüler ve mikrokistik yapıları döşeyen hücrelerde bulunduğu, HCG'nin ise CCA veya STGC komponentindeki sinsityotroblastik hücrelerde görüldüğü bildirilmektedir (8,11,14). Serimizde 13 olguda AFP ile pozitif reaksiyon saptanmış, AFP'nin; YST tanısı alan olgularda asiner,

trabeküler, retiküler yapılar oluşturan hücrelerde, ECa tanısı alan olgularda ise glandüler ve mikrokistik yapıları döşeyen hücrelerde lokalize olduğu görülmüştür. Dört olguda HCG ile pozitif reaksiyon bulunmuş, bir olguda CCA, diğer üç olguda ise STGC komponentindeki sinsityotroblastik hücrelerde HCG ile pozitif boyanma saptanmıştır. Olgularımızdaki AFP ve HCG lokalizasyonu kaynaklarla benzerlik göstermektedir.

Sonuç Olarak;

1. Bu çalışma, bundan önceki çalışmalar (4,8,11,14,16,19) gibi, AFP sentezinin yolk sak dokusuna ait okluğunu, HCG'nin ise sinsityotroblastik dev hücrelerden sahndığını bir kez daha vurgulamaktadır.

2. Teslis germ hücreli tümörlerinin tanı ve sınıflandırılmasında AFP ve HCG'nin dokuda araştırılmasının önemli yeri bulunduğunu, ancak araştırmaların, çok sayıda parafin blok ve kesitlere uygulanmasının gerekliliğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Bosl GJ, Fange PII, Nochomowitz LE, Goldmann A, Fraley EE, Rosai J, Johnson K, Kennedy BJ: Tumor markers in advanced nonseminomatous testicular cancer. *Cancer* 47: 572-576,1981.
2. Javadpour N: The role of biologic tumormarkers in testicular cancer. *Cancer* 45: 1755-1761, 1980.
3. Javadpour N: Pathology of tumors of testis. In: Principles and Management of Urologic Cancer, edited by Javadpour N, 1st ed., Baltimore-London, Williams-Wilkins Company, pp. 102-119, 1980.
4. Javadpour N: Immunobiology of the genitourinary cancers and their biologic markers. In: Principles and Management of Urologic cancer, edited by Javadpour N, 1st ed., Baltimore, London. Williams-Wilkins Company, pp. 181-203, 1980.
5. Javadpour N: Tumor markers in testicular cancer and other Tumors of the Genitourinary Tract, edited by Pavone-Macaluso M, PH Smith, MA Bagshaw, 1st ed, New York-London, Plenum Press, pp. 63-87, 1985.
6. Javadpour N, McIntire KR, Waldmann TA: Human chorionic gonadotropin (HCG) and alpha-fetoprotein (AFP) in sera and tumor cells of patients with testicular seminoma. A prospective study. *Cancer* 42: 2768-2772, 1978.
7. Kansu E: Tumor markers in testis tumors. *Türk. J. Pediatr.* 26:277-283, 9184.
8. Kurman RJ, Scardino PT, McIntire KR, Waldmann TA and Javadpour N: Cellular localization of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in germ cell tumors of the testis using an indirect immunoperoxidase technique. A new approach to classification utilizing tumor markers. *Cancer* 40:2136-2151, 1977.
9. Fange PH. and EE, Fraley Serum alphafetoprotein and human chorionic gonadotropin in the treatment of patients with testicular tumors. *Urol. Clin. North Am.* 4:393406, 1977.
10. Fange PII, McIntire KR, Waldmann TA, Hakala TR and Fraley EE: Serum alpha fetoprotein and human chorionic gonadotropin in the diagnosis and management of nonseminomatous germ-cell testicular cancer. *N.Engl.J.Med.* 295:1237-1240,1976.
11. Morinaga S, Ojima M and Sasano: Human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein in testicular germ cell tumors. An immunohistochemical study in comparison with tissue concentrations. *Cancer* 52: 1281-1289, 1983.
12. Mostofi FK: Proceedings: Testicular tumors. Epidemiologic, etiologic and pathologic features. *Cancer* 32: 1186-1201, 1973.
13. Mostofi FK, Sesterhenn IA: Histopathological classification of testicular tumors. In: Testicular cancer and other tumors of the genitourinary tract, edited by Pavone-Macaluso PH, MA Smith, Bagshaw, New York-London, Plenum Press, pp. 9-27, 1985.
14. Mukai K, Rosai J: Applications of immunoperoxidase techniques in surgical pathology. In: Progress in Surgical Pathology, edited by Fenoglio CM, and M Wolff, 1st ed, New York, Paris, Barcelona, Milano, Mexico City, Rio de Janeiro. Masson Publishing USA, Inc, Vol. I., pp. 15-49, 1980.
15. Özen H, Akdaş A, Altuğ U, Remzi D: Non-Seminomatöz testis tümörlerinde tümör belirleyicilerinin tanı, evrendirme ve tedaviyi izlemedeki rolü. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi* 3: 262-265, 1985.

16. Scardino FT, Cox HD, Waldmann TA, McIntire KR, Mittermeyer M, Javadpour N: The value of serum tumor markers in the staging and prognosis of germ cell tumors of the testis. *J. Urol.* 118:994-999, 1977.
17. Sternberger LA, Jr Hardy PH, Cucuhs JJ, Meyer GH: The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 18:315, 1970.
18. Talerman A, WG Haije: Alpha-fetoprotein and germ cell tumors: A possible role of yolk sac tumor in production of alpha-fetoprotein. *Cancer* 34:1722-1726, 1974.
19. Waldmann TA, McIntire KR: The use of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein in the diagnosis of malignancy. *Cancer* 34:1510-1515, 1974.