



## ARAŞTIRMA YAZISI

### TESTİS SEMİNOMU VE İNTRAKRANYAL GERMINOMUN İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE HİSTOMORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ahmet Midi<sup>1</sup>, Süheyla Bozkurt<sup>1</sup>, Aydın Sav<sup>1</sup>, M Memet Özek<sup>2</sup>, Necmettin Pamir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Talia Balı Aykan Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye <sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

#### ÖZET

**Amaç:** Kranyal germinom, testis seminomu ve over disgerminomu histolojik olarak benzer özelliklere sahip ancak farklı lokalizasyonlarda yerleşen tümörlerdir. Bu çalışmada testis seminomu ile kranyal germinomlar tümör içerisindeki lenfosit ve eozinofillerin oranı, Ki-67, PLAP, vimentin immünhistokimyasal boyanma özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** M.Ü. Nörolojik Bilimler Enstitüsünde 1995–2002 yılları arasında tanı almış 10 adet intrakranyal germinom ve 2 adet testis seminomuyla Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1998–2003 yılları arasında tanı almış 6 adet testis seminomu olgusu çalışma kapsamına alınmıştır. Olgulara PLAP, vimentin, Ki-67, tümör içerisindeki lenfosit yoğunluğunu saptamak için CD45 immünhistokimyasal boyamalar yapılmıştır.

**Bulgular ve Sonuç:** Germinom olgularının yaş aralığı 9–30 olup ortalama yaş 17 dir. Seminom olgularının yaş aralığı 15–49 olup ortalama yaş 32,6'dır. Çalışmamızda kranyal germinom ve seminomlarda tümör içi lenfosit ve eozinofil varlığı yanısıra PLAP ve vimentin immünhistokimyasal boyanma özellikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. MIB-1 (Ki-67) proliferasyon indeksi seminomda %44, germinomda %25 olarak bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kranyal germinom, Testis seminomu, Lenfosit, Eozinofil, Ki-67, PLAP

### COMPARING OF THE IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE TESTICULAR SEMİNOMA AND INTRACRANIAL GERMNOMA

#### ABSTRACT

**Objective:** Cranial germinoma, testicular seminoma and ovarian dysgerminoma are tumours with similar histological features but located at different localizations. In this study; cranial germinoma and testicular seminoma, has been compared for the ratio of the tumor infiltrating lymphocytes, eosinophils, and immunohistochemical staining features for the Ki-67, PLAP, and vimentin.

**Materials and Methods:** Cases were obtained from the archives of the Pathology Laboratory, Marmara University Hospital, Institute of Neurological Science (10 IKG and 2 testicular seminoma in the time period of 1995 to 2002 ), and Pathology Laboratory, Marmara University Hospital (6 testicular seminoma, in the time period of 1998 to 2003 ). We performed immunohistochemical staining for PLAP, vimentin, CD45 and Ki-67.

**Results and Conclusion:** The germinoma cases were aged between 9–30, (median age 17). The seminoma cases were aged between 15–49, (median age 32, 6).

**Keywords:** Cranial germinoma, Testicular seminoma, Lymphocyte, Eosinophils, Ki-67, PLAP

## GİRİŞ

Seminoma ve kranyal germinom (KG) benzer histolojik özellikler gösteren farklı yerlerde oluşan germ hücreli tümörlerdir<sup>1-4</sup>. Kaynaklarda seminoma ve germinom'u

morfolojik ve immünhistokimyasal olarak karşılaştıran 2 çalışma bulunmaktadır<sup>5,6</sup>.

Germinom primer intrakranyal tümörlerin yaklaşık % 0,5-2'ini oluşturan en sık görülen intrakranyal germ hücre kaynaklı tümördür.

#### İletişim Bilgileri:

Ahmet Midi

e-mail: [ahmetmidi@yahoo.com](mailto:ahmetmidi@yahoo.com)

Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Talia Balı Aykan Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Marmara Medical Journal 2006;19(3);116-120



En sık pineal bölge ve suprasellar bölgede yerleşirler<sup>2,3,7</sup>. KG seminomlar gibi radyoterapiye oldukça duyarlı tümörlerdir<sup>4</sup>.

Germinom iri, yuvarlak veziküler nükleuslu, düzensiz, pleomorfik nükleolu olan, PAS pozitif boyanan geniş sitoplazmalı, iri neoplastik hücreler ile değişen yoğunlukta lenfositlerden meydana gelen iki hücre popülasyonundan oluşmaktadır<sup>2</sup>. Germ hücreleri alkalin fosfataz pozitif olup nadir olgularda "β-human chorionic gonadotrophin" (β-HCG) pozitif boyanan sinsisyotrofoblastlarda bulunabilir<sup>2</sup>.

Seminoma tüm germ hücreli tümörler arasında en sık görülen germ hücreli tümördür. Mikroskopik olarak birbirlerine benzeyen hücreler tabakalar oluşturur ve fibröz septumlarla lobüllere ayrılır. Hücreler iri, yuvarlak ya da çok kenarlı olup belirgin hücre membranlı olan sitoplazmaları berrak görünümündedir. Hücrelerin büyük kısmının 1 ila 3 belirgin nükleolu olan iri ve merkezi yerleşimli nükleusları bulunur<sup>6,8</sup>.

Kaynaklarda ekstra gonad kökenli germ hücreli tümörlerin kemoterapiye testisin germ hücreli tümörlerinden daha az yanıt verdiği belirtilmektedir<sup>2</sup>. Bu durum iki farklı lokalizasyonla yerleşmiş germ hücreli tümörün morfolojik ve immünohistokimyasal özelliklerinin farklı olabileceği ihtimalini akla getirmektedir. Bu nedenle bu çalışmada testis seminomu ile KG'nin tümör içi lenfosit, eozinofil yoğunluğu bakımından karşılaştırılması ve immünohistokimyasal olarak PLAP, vimentin Ki-67 immünoekspresiviteilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

On KG ve sekiz testis seminomu olgusu çalışmaya alınmıştır. Olgulara PLAP, vimentin ve Ki-67 immünohistokimya boyaları uygulanmıştır. Değerlendirmeler kalitatif yapılmıştır. Buna göre PLAP, vimentin ve Ki-67 boyalarının boyanan hücre yaygınlığına göre (negatif, fokal pozitif, dağınık pozitif, yaygın pozitif) ve boyanma şiddetine göre 0-3 arasında sayısal değerlendirme yapılmıştır. (0: boyanma izlenmedi, 1: zayıf boyanma, 2: orta şiddette boyanma, 3: şiddetli boyanma). Tüm

olgularda tümör içi lenfosit, eozinofil yoğunluğu kantitatif değerlendirilmiştir ve 0-3 arası sayısal değere dönüştürülmüştür. (0: yok, 1: seyrek, 2: orta yoğunlukta, 3 yoğun). Sonuçların değerlendirmesinde istatistiksel olarak Mann-Whitney U-testi kullanılmıştır.

## İmmünohistokimya

### İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Rezeksiyon materyalleri %4'lük tamponlanmış formaldehitte fikse edildikten sonra parafinle bloklanmıştır. Parafin bloklardan 3 aminopropyltriethoxysilane kaplı lamlara 2µ kalınlıkta kesitler alınarak immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Boyamada sırası ile şu işlemler yapılmıştır.

1. Kesitler etüvde 60°C de 1 saat deparafinize edildi.
2. Daha sonra ksilende 10 dakika, %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi ve su ile yıkandı.
3. %10'luk sitratla tamponlanmış solüsyon içine yerleştirilen lamlar mikrodalgada maksimum güçte (800 watt) 15 dakika bekletildi.
4. Daha sonra güç yarıya düşürülerek 20 dakika daha mikrodalgada bekletildi.
5. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
6. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek giderildi.
7. Distile su ile yıkanan lamlar 3x5 PBS ile muamele edildikten sonra üzerlerine protein blokajı damlatıldı.
8. Beş dakika sonra blokaj yıkanmadan lamların üzerine PLAP, vimentin, Ki-67 antikoru damlatıldı.
9. Primer antikorda 30 dakika bekletildikten sonra PBS'e alınarak 5 dakika yıkandı.
10. Daha sonra biyotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve PBS'te 5 dakika yıkandı.
11. Peroksidaz konjuge antikor ile 20 dakika bekletildi. Daha sonra 5 dakika PBS'te yıkandı.
12. Kromojende (DAB) 5 dakika bekletildi.
13. Musluk suyu altında yıkanan lamlar hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı.
14. Dehidrate edildi, kurutuldu ve entellan ile kapatıldı.



## BULGULAR

KG olgularının yaş aralığı 9–30 olup ortalama yaş 17 dir. Olguların 1'i kadın 9' u erkektir. Seminom olgularının yaş aralığı 15–49 olup ortalama yaş 32 dir.

Tablo-1'de germinomların (Resim 1,2,3), Tablo-2'de seminomların (Resim 4,5) demografik, immünohistokimyasal özellikleri, lenfosit ve eozinofil yoğunlukları belirtilmiştir.

CD45 immünohistokimya boyası ile saptanan lenfosit her iki grupta tüm olgularda değişik yoğunlukta (+ veya +++) izlenmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır ( $p=0.14$ ). Eozinofil germinoma olgularının 7'sinde değişik yoğunlukta (+ veya ++) saptanırken 3 olguda izlenmemiştir. Seminoma olgularının ise 6'sında değişik oranda izlenirken (+ veya ++) 2 tanesinde görülmemiştir. Eozinofil

yoğunluğu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır ( $p=0.96$ ). Ki-67 ortalama değeri seminomda %44 (%15-%76), germinomda %25 (%0-%62) olarak bulunmuştur ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0.026$ ). PLAP immünohistokimya boyası ile 3 germinoma ve 1 seminoma olgusunda boyanma olmazken, 7 germinoma (%70) ve 7 (%87) seminoma olgusunda değişen yoğunlukta boyanma izlenmiştir. PLAP boyanma özelliği bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır ( $p=0.49$ ). Vimentin ile 4 (%40) germinoma, 2 (%25) seminoma olgusunda fokal ya da dağınık boyanma izlenmiştir. Altı germinoma ve 6 seminoma olgusunda boyanma olmamıştır. Vimentin boyanma özelliği bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.57$ ).

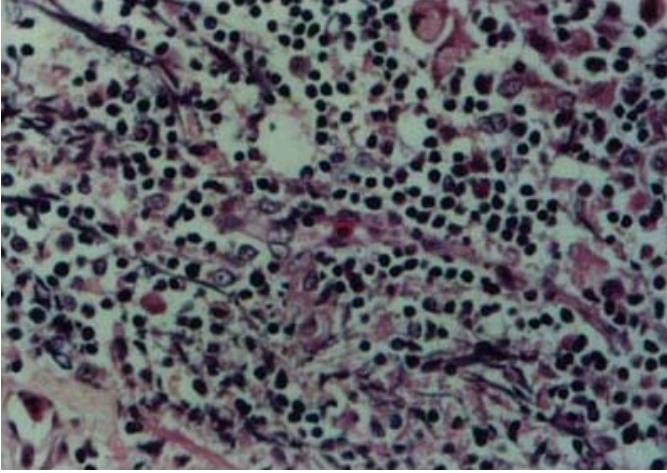
**Tablo 1:** Germinomaların demografik, morfolojik ve İHK özellikleri

| No | Yaş/Cin<br>siyet | Lenfosit | Eozinofil | Ki-67<br>(%) | PLAP       | Vimentin   |
|----|------------------|----------|-----------|--------------|------------|------------|
| 1  | 15/E             | +++      | +         | 7            | Diffüz ++  | -          |
| 2  | ?/E              | +++      | +         | 28           | -          | Fokal +++  |
| 3  | ?/E              | ++       | +         | 50           | Diffüz +++ | -          |
| 4  | 28/E             | +        | -         | 1            | Diffüz +++ | -          |
| 5  | 11/E             | +++      | +         | 55           | Diffüz ++  | -          |
| 6  | 12/E             | ++       | -         | 1            | Fokal ++   | -          |
| 7  | 12/E             | +++      | +         | 0            | -          | Dağınık ++ |
| 8  | 19/E             | ++       | -         | 20           | Diffüz +++ | Dağınık ++ |
| 9  | 30/E             | ++       | ++        | 62           | Dağınık ++ | -          |
| 10 | 9/K              | +++      | ++        | 28           | -          | Dağınık ++ |

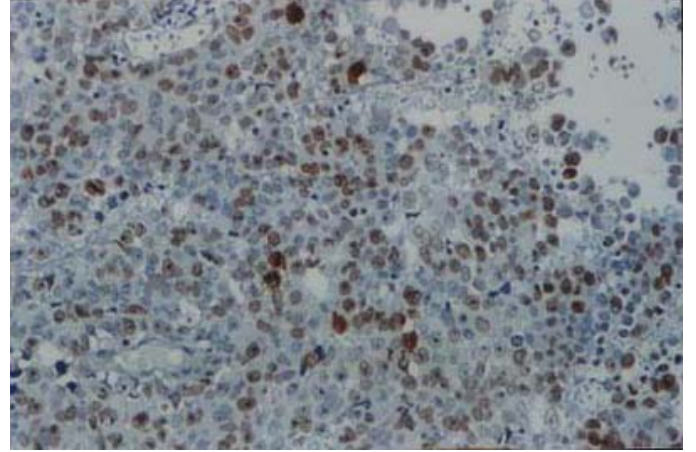
**Tablo 2:** Seminomaların demografik, morfolojik ve İHK özellikleri

| No | Yaş | Lenfosit | Eozinofil | Ki-67<br>(%) | PLAP       | Vimentin   |
|----|-----|----------|-----------|--------------|------------|------------|
| 1  | ?   | ++       | +         | 76           | Diffüz ++  | -          |
| 2  | 21  | +++      | ++        | 48           | Diffüz +++ | -          |
| 3  | 40  | +        | +         | 52           | Diffüz ++  | -          |
| 4  | 15  | +        | +         | 36           | Diffüz +++ | -          |
| 5  | 38  | ++       | -         | 46           | Diffüz ++  | -          |
| 6  | 35  | +++      | +         | 15           | -          | Dağınık ++ |
| 7  | 49  | +        | -         | 29           | Diffüz +++ | Dağınık ++ |
| 8  | 31  | +        | +         | 50           | Diffüz +++ | -          |

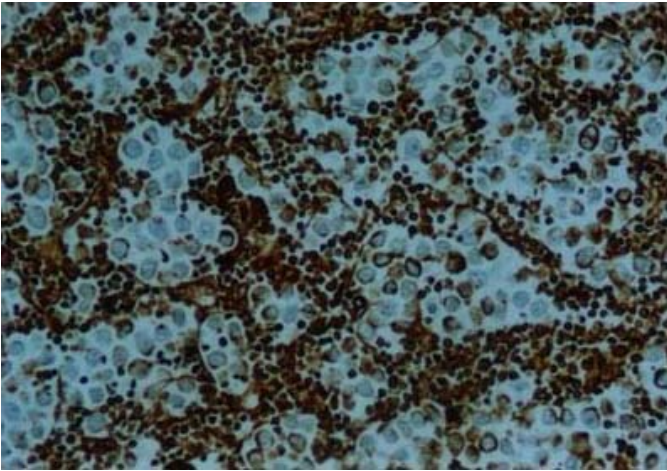




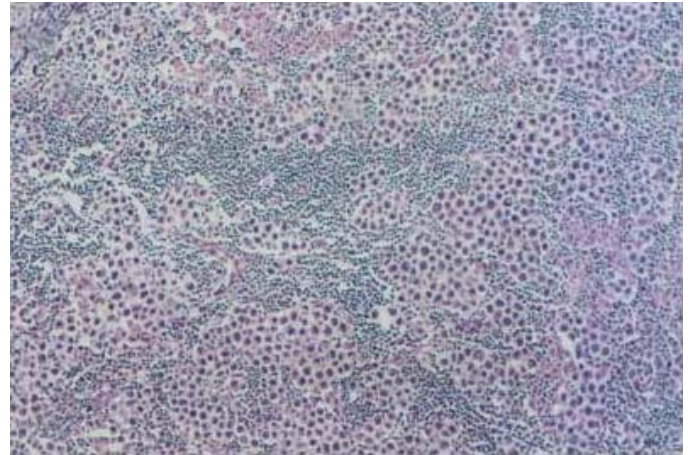
**Resim 1:** Germinoma H&E X 400; germ hücreleri, lenfosit ve eozinofiller.



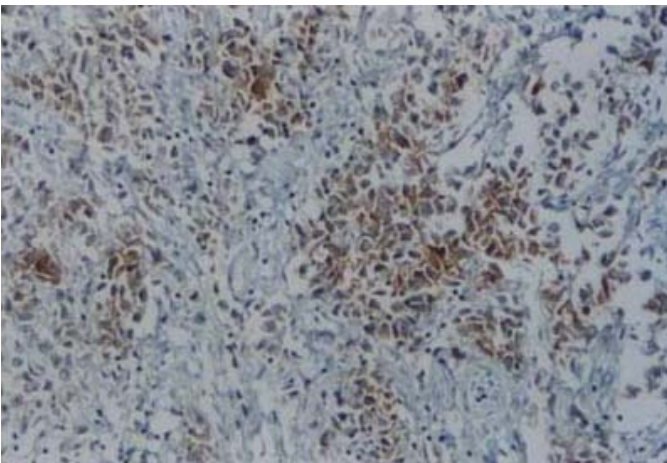
**Resim 2:** Germinoma Ki-67 X 200; germ hücrelerinde nükleer boyanma.



**Resim 3:** Germinoma CD45 X 400; lenfositlerde yoğun boyanma.



**Resim 4:** Seminoma H&E X 100; lenfositik zeminde tabakalar halinde germ hücreleri.



**Resim 5:** Seminoma PLAP X 200; germ hücrelerinde boyanma.

## TARTIŞMA

KG histolojik olarak over disgerminomu ve testis seminomuna benzer. Nispeten düşük dereceli bir malignite özellikleri gösterir. Ancak çevre yapıları infiltre edebilir. Ependim boyunca ventriküllere ve subaraknoid alana yayılma eğilimi gösterirler<sup>7</sup>. Yüksek proliferatif aktiviteye sahip olabilirler. Martinazzi M ve ark.'nın çalışmasında Ki-67 proliferatif indeksi seminomada %23,8 bulunmuştur<sup>8</sup>. Mevcut çalışmada 3 KG ve 3 seminoma olgusunda Ki-67 proliferatif indeksi %50 veya üstünde bulunmuştur.



Vimentin Nakagawa Y ve ark'nın çalışmasında 7 germinomanın 3'ünde pozitif iken, gonadal germ hücreli tümörlerde negatif olarak bulunmuştur<sup>5</sup>. Bentley AJ ve arkadaşlarının çalışmasında germinoma ve seminoma olgularında vimentin ile boyanma izlenmemiştir<sup>6</sup>. Mevcut çalışmada vimentin ile 4 (%40) germinoma, 2 seminoma (% 25) olgusunda fokal ya da dağınık boyanma izlenmiştir.

Hattab EM ve ark.'nın çalışmasında KG'de PLAP % 92 olguda pozitif izlenmiştir<sup>9</sup>. Klasik seminomada ise %100 pozitif boyanma bildirilmiştir<sup>10</sup>. Mevcut çalışmada PLAP ile 7 germinoma (%70) ve 7 (%87) seminoma olgusunda değişen yoğunlukta boyanma izlenmiştir.

Kaynaklarda KG ve seminomada eozinofil yoğunluğu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda KG'da %70 olguda değişen yoğunlukta eozinofil izlenmiştir. KG ayırıcı tanısına giren histiositozis x'de yoğun eozinofil izlenir. Bir çalışmada eozinofil varlığının histiositozis x'e spesifik olmadığı KG'da da bulunabilmesi nedeniyle bu lezyonların ayırıcı tanısında, özellikle iğne biyopsilerinde eozinofil varlığının histiositozis x'e spesifik bir bulgu olarak yorumlanmaması gerektiği vurgulanmıştır<sup>11</sup>.

İngilizce literatürde seminom ve KG'da lenfositlerin immünohistokimyasal özellikleri ile ilgili çalışmalar olmakla birlikte lenfosit yoğunluğu ile ilgili 1 çalışmaya rastlanmıştır<sup>1,12,13</sup>. Mevcut çalışmada değişen yoğunlukta lenfosit tüm olgularda izlenmiş olup lenfosit yoğunluğu bakımından seminom ve KG benzer özellikler göstermiştir.

İntrakranyal germinomun ve testis seminomunun aynı hücreden köken almaları nedeniyle Ki-67 proliferatif indeksinin mevcut çalışmada farklı çıkmasının anlamı açık değildir. Hsu YJ ve arkadaşlarının çalışmasında ekstra gonad kökenli germ hücreli tümörlerin kemoterapiye testisin germ hücreli tümörlerinden daha az yanıt verdiği belirtilmektedir<sup>2</sup>. Her ne kadar seminomda Ki-67 proliferatif indeksin germinomdan yüksek çıkması tedavilere farklı yanıt vermelerini destekleyen bulgu olarak gözükse de, serimizin az sayıda olgudan oluşması

nedeniyle bu farklılığı seminomdaki hücre proliferasyonunun fazlalığına ve bu nedenle kemo-radyoterapiye duyarlılığının artışına bağlanamamıştır. Bu konuda bölgesel ve çevresel etkenlerin proliferatif indeksin üzerine etkisinin araştırılmasına gerek vardır.

## KAYNAKLAR

1. Parker C, Milosevic M, Panzarella T, Banerjee D, Jewett M, Catton C, et al. The prognostic significance of the tumor infiltrating lymphocyte count in stage I testicular seminoma managed by surveillance. *Eur J Cancer* 2002; 38 (15):2014-9.
2. Hsu YJ, Pai L, Chen YC, Ho CL, Kao WY, Chao TY. Extragonadal germ cell tumors in Taiwan: an analysis of treatment results of 59 patients. *Cancer* 2002; 95:766-74.
3. El Abbadi N, Maagili MR, Arkha Y, Amarti A, Bellakhdar F. Cerebellar primary germinom. Case report. *Neurochirurgie* 2002; 48:351-4.
4. Wolden SL, Wara WM, Larson DA, Prados MD, Edwards MSB, Sneed PK. Radiation therapy for primary intracranial germ-cell tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995; 32:943-47.
5. Nakagawa Y, Perentes E, Ross GW, Ross AN, Rubinstein LJ. immunohistochemical differences between intracranial germinomas and their gonadal equivalents. An immunoperoxidase study of germ cell tumors with epithelial membrane antigen, cytokeratin, and vimentin. *J Pathol.* 1988; 156(1):67-72.
6. Bentley AJ, Parkinson MC, Harding BN, Bains RM, Lantos PL. A comparative morphological and immunohistochemical study of testicular seminomas and intracranial germinomas. *Histopathology.* 1990;17(5):443-9.
7. Tekkok IH, Sav A. Aggressive spinal germinom with ascending metastases. *J Neurooncol.* 2005;75(2):135-41.
8. Martinazzi M, Zampieri A, Martinazzi S, Crivelli F, Mauri MF, Calandra C. Proliferative activity of stage I testicular neoplasms: evaluation by image analysis of immunoreactive MIB-1. *Pathologica.* 1998; 90(6):783-7.
9. Hattab EM, Tu PH, Wilson JD, Cheng L. OCT4 immunohistochemistry is superior to placental alkaline phosphatase (PLAP) in the diagnosis of central nervous system germinoma. *Am J Surg Pathol.* 2005 ;29(3):368-71.
10. Bailey D, Marks A, Stratis M, Baumal R. Immunohistochemical staining of germ cell tumors and intratubular malignant germ cells of the testis using antibody to placental alkaline phosphatase and a monoclonal anti-seminoma antibody. *Mod Pathol.* 1991; 4(2):167-71.
11. Midi A, Bozkurt S, Yapıcıer Ö, Sav A.. Langerhans Cell Histiocytosis and Intracranial Germinoma: Are Immunohistology Techniques Helpful in Distinguishing Two Entities?. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)* . 2006; 23 (3): 209-214
12. Bell DA, Flotte TJ, Bhan AK. Immunohistochemical characterization of seminoma and its inflammatory cell infiltrate. *Hum Pathol.* 1987; 18(5):511-20.
13. Grobholz R, Verbeke CS, Schleger C, Kohrmann KU, Hein B, Wolf G, et al. Expression of MAGE antigens and analysis of the inflammatory T-cell infiltrate in human seminoma. *Urol Res.* 2000; 28(6):398-403.