

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

MERAM TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRÜ'NDE MİKRORNA-371a-3p SEVİYESİ İLE
KLİNİK EVRE, PATOLOJİK RİSK FAKTÖRLERİ VE METASTATİK HASTADA
PROGNOSTİK RİSK GRUPLARI İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Muzaffer Tansel Kılınç

UZMANLIK TEZİ

KONYA,2021

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRÜ'NDE MİKRORNA-371a-3p SEVİYESİ İLE
KLİNİK EVRE, PATOLOJİK RİSK FAKTÖRLERİ VE METASTATİK HASTADA
PROGNOSTİK RİSK GRUPLARI İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Muzaffer Tansel Kılınç

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Yunus Emre Göger

KONYA,2021

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimi sürecimde teorik, pratik ve akademik deneyimlerinden yararlandığım, hoşgörü ve bilgi birikimlerini hiçbir zaman bizlerden esirgemeyen değerli bölüm hocalarım Sayın Prof. Dr. Giray Karalezli, Sayın Prof. Dr. Ahmet Öztürk, Sayın Prof. Dr. Selçuk Güven, Sayın Prof. Dr. Mehmet Mesut Pişkin, Sayın Doç. Dr. Mehmet Balasar, Sayın Doç. Dr. Mehmet Giray Sönmez, Sayın Doç. Dr. Arif Aydın, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan Hakkı Taşkapu, değerli tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yunus Emre Göger'e,

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Emil Civazada, Uzm. Dr. Mehmet Serkan Özkent, Uzm. Dr. Gökhan Ecer, Uzm. Dr. Ahmet Atıcı, Dr. Harun Uçmak, Dr. Eren Erol, Dr. Nurullah Altinkaya, Dr. Haider Alalam, Dr. İbrahim Göksoy, Dr. Mert Metehan Arslaner, Dr. Veli Memedov, Dr. Ömer Faruk Çavdar, Dr. Nurmanbet Turaliev, Dr. Abdullah Altunhan'a,

Covid-19 süreci dahil, gece ve gündüz özveriyle çalışan klinik hemşirelerimiz nezdinde sorumlu hemşiremiz Gül Koraş'a ve hasta bakıcı personellerimiz nezdinde Hüseyin Vurgun'a,

Her zaman koşulsuz desteklerini hissettiğim ve beni yetiştirip sonsuz emek veren değerli aileme,

Sabır ve sevgisiyle bu meşakkatli süreçte hep yanımda olan kıymetli eşim Kübra Kılınç'a ve babalığın sevincini bana yaşatan sevgi dolu kızım Elif Asya Kılınç'a

En samimi şekilde teşekkür ederim.

Dr. Muzaffer Tansel Kılınç

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	14
2. GENEL BİLGİLER.....	16
2.1. TESTİS ANATOMİSİ ve HİSTOLOJİSİ.....	16
2.2. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ.....	18
2.3. TESTİS TÜMÖRÜ.....	19
2.3.1. EPİDEMİYOLOJİ.....	19
2.3.2. RİSK FAKTÖRLERİ.....	19
2.3.3. PATOGENEZ VE BİYOLOJİ.....	20
2.3.4. HİSTOLOJİK SINIFLAMA.....	20
<u>2.3.4.1. TÜMÖR TİPLERİ</u>	22
2.3.4.1.1. Germ Cell Tümör Neoplazi in Situ (GCNIS).....	22
2.3.4.1.2. Seminom.....	22
2.3.4.1.3. Spermatositik Tümör.....	22
2.3.4.1.4. Embriyonal Karsinoma.....	22
2.3.4.1.5. Koryokarsinoma.....	23
2.3.4.1.6. Yolk Sac Tümör.....	23
2.3.4.1.7. Teratom.....	23
2.3.5. TANISAL DEĞERLENDİRME.....	23
<u>2.3.5.1. SEMPTOM VE BULGULAR</u>	23
<u>2.3.5.2. FİZİK MUAYENE</u>	24
<u>2.3.5.3. GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ</u>	24

2.3.5.3.1. Skrotal Ultrason (USG)	24
2.3.5.3.2. Bilgisayarlı Tomografi (BT)	24
2.3.5.3.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR)	25
2.3.5.3.4. Fluorodeoksiglukoz-Pozitron Emisyon Tomografi (FDG-PET)	25
2.3.5.3.5. Kemik Taraması.....	25
<u>2.3.5.4. SERUM TÜMÖR BELİRTEÇLERİ</u>	25
2.3.5.4.1 Klasik Serum Tümör Belirteçleri.....	25
2.3.5.4.2. MikroRNA-371a-3p.....	27
<u>2.3.5.5. İNGÜİNAL EKSPLOASYON VE ORŞİEKTOMİ</u>	28
2.3.5.5.1. Radikal İnguinal Orşiektomi.....	28
2.3.5.5.2. Testis Koruyucu Cerrahi (Parsiyel Orşiektomi)	28
2.3.5.5.3. Testis Protezi Yerleştirilmesi.....	29
2.3.5.5.4. Karşı Testis Biyopsisi.....	29
2.3.5.5.5. Sperm Kriyoprezervasyonu.....	29
2.3.6. EVRELEME VE KLASİFİKASYON	30
<u>2.3.6.1. EVRELEME</u>	30
<u>2.3.6.2. PROGNOTİK GRUPLAR</u>	32
2.3.6.2.1. UICC (Union Internationale Contre le Cancer) Prognostik Grubu.....	32
2.3.6.2.2. Metastatik Testis Kanseri International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) Sınıflaması.....	32
2.3.7. PROGNOZ	34
<u>2.3.7.1. EVRE 1 HASTALIKTA METASTATİK RELAPS İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ</u>	34
2.3.8. HASTALIK YÖNETİMİ	34
<u>2.3.8.1. EVRE 1 GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNİN YÖNETİMİ</u>	34
2.3.8.1.1. Germ Cell Neoplazi in Situ (GCNIS)	34
2.3.8.1.2. Evre 1 Seminom.....	34
2.3.8.1.2.1. İzlem.....	35
2.3.8.1.2.2. Adjuvan Kemoterapi (KT)	35
2.3.8.1.2.3. Adjuvan Radyoterapi (RT)	35
2.3.8.1.2.4 Risk Bazlı Tedavi.....	36
2.3.8.1.3. Evre 1 Non-Seminom.....	36

2.3.8.1.3.1. İzlem.....	37
2.3.8.1.3.2. Retroperitoneal Lenf Nodu Diseksiyonu (RPLND)	37
2.3.8.1.3.3. Adjuvan Kemoterapi.....	38
2.3.8.1.3.4. Risk Bazlı Tedavi.....	38
<u>2.3.8.2. METASTATİK GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNİN YÖNETİMİ</u>	39
<i>2.3.8.2.1. Klinik Evre 1S Hastalarda Tedavi</i>	39
<i>2.3.8.2.2. Evre 2A/2B Seminom</i>	39
<i>2.3.8.2.3. Evre 2A/2B Non Seminom</i>	40
<i>2.3.8.2.4. Evre 2C ve Evre 3 Hastalık</i>	40
2.3.8.2.4.1. İyi prognostik grup seminom.....	40
2.3.8.2.4.2. İntermediate prognostik grup seminom.....	41
2.3.8.2.4.3. İyi prognostik grup Non Seminom.....	41
2.3.8.2.4.4. İntermediate prognostik grup Non Seminom	41
2.3.8.2.4.5. Kötü prognostik grup Non Seminom	41
<u>2.3.8.3. KEMOTERAPİ SONRASI DEĞERLENDİRME</u>	41
<i>2.3.8.3.1 Tedavi Değerlendirilmesi</i>	41
<i>2.3.8.3.2 Rezidü Tümör Rezeksiyonu</i>	42
2.3.8.3.2.1. Seminomlar.....	42
2.3.8.3.2.2. Non Seminomlar.....	42
<u>2.3.8.4. RELAPS TEDAVİSİ</u>	43
2.3.9. TEDAVİ SONRASI TAKİP	43
3. MATERYAL-METOD	45
3.1. Hastalar.....	45
3.2. Laboratuvar Metodu.....	46
3.3. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ	60
KAYNAKLAR	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a.: Arter

AFP: Alfa-fetoprotein

AJCC: The American Joint Committee on Cancer

AUA: Amerikan Üroloji Derneği

BEP: Bleomisin, Etoposid, Cisplatin

bHCG: beta human chorionic gonadotropin

BT: Bilgisayarlı tomografi

cDNA: Complementary DNA

cm: Santimetre

dk: Dakika

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EAU: Avrupa Üroloji Derneği

EORTC: European Organisation for Research and Treatment of Cancer

EP: Etoposid, Cisplatin

Ext: Eksternal

FDG-PET: Fluorodeoksiglukoz-Pozitron Emisyon Tomografi

FGF-9: Fibroblast Growth Factor

FSH: Folikül Stimulan Hormon

GCNIS: Germ hücreli neoplazi in situ

GCT: Germ hücreli tümör

Gy: Gray

IGCCCG: International Germ Cell Cancer Collaborative Group

Inf: Inferior

Int: Internal

ITGCN: İntratübüler germ hücreli neoplazi

IU/L: Uluslararası ünite bölü litre

KT: Kemoterapi

LDH: Laktat dehidrogenaz

LH: Luteinizan hormon

LVI: Lenfovasküler invazyon

mcg/L: Mikrogram bölü litre

mg/m²: Miligram bölü metrekare

MHz: Megahertz

miRNA/miR: Mikro ribonükleik asit

ml: Mililitre

mm³: Milimetreküp

MR: Manyetik rezonans görüntüleme

MRC: Medical Research Council

ng/ml: Nanogram bölü mililitre

NSGCT: Non seminomatöz germ hücreli tümör

PCR: Polymerase Chain Reaction

PEİ: Cisplatin, Etoposid, Ifosfamid

PLAP: Plasental alkalen fosfataz

PTEN: Phosphatase and tensin homolog gene

RNA: Ribonükleik asit

RNU6 snRNA: Small nuclear RNA gen 6

RPLND: Retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu

RT: Radyoterapi

Sox-9: SRY-Box Transcription Factor 9

SRY: Sex Determining regi- on Y gene

Sup: Süperior

TNM: Tümör, Lenf Nodu, Metastaz

UICC: International Union Against Cancer / Union Internationale Contre le Cancer

USG: Ultrason

v: Ven

vb.: Ve benzeri

VIP: Etoposid, Cisplatin, Ifosfamid

%: Yüzde

° C: Celsius

µl: Mikrolitre

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Testis Tümörlerinin Patolojik Sınıflaması.....	21
Tablo 2 International Union Against Cancer (UICC) 2016 Tümör, Lenf Nodu, Metastaz (TNM) sınıflandırması.....	31
Tablo 3 UICC (Union Internationale Contre le Cancer) Prognostik Grubu-Evreme.....	32
Tablo 4 Metastatik Testis Kanseri International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) Sınıflaması.....	33
Tablo 5 Evre 1 hastalıkta Metastatik Relaps İçin Patolojik Risk Faktörleri.....	34
Tablo 6 İzlem veya adjuvan tedavi (RT- Karboplatin KT) Sonrası Evre 1 Seminomda Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu'na Göre).....	43
Tablo 7 İzlem Sırasında Evre 1 Non-Seminomda Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu'na Göre).....	44
Tablo 8 İlerlemiş Hastalıkta Adjuvan Tedavi ya da Tam Remisyon Sonrası Kötü Prognoz ve Tam Remisyon Olmayan Hastalar Hariç Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu'na Göre).....	44
Tablo 9 �alışmaya Dahil Edilen Hastaların Demografik, Patolojik, Klinik Evre ve IGCCCG Prognostik Grup Verileri.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Testisin Gross Anatomisi.....	17
Şekil 2 Testisin Arteriyel ve Venöz Yapısı.....	17
Şekil 3 Tanı Anında miR-371a-3p'in Kontrol Grubu, Non Germ Hücreli Tümör ve GCT'deki Seviyesi.....	49
Şekil 4: Tüm Germ Hücreli Tümör Hastalarında Seminom-Non Seminom Histolojik Tipleri Arasında miR-371a-3p Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılması.....	49
Şekil 5 Kontrol Grubuyla Kıyaslandığında miR-371a-3p ROC Eğrisi.....	50
Şekil 6 Preoperatif ve Postoperatif Dönemde Germ Hücreli Tümör Grubunda Ortalama AFP, bHCG, LDH Düzeyleri.....	51
Şekil 7: Klinik Evre 1'de Tümör Boyutu miR-371a-3p Ekspresyon Düzeyi İlişkisi.....	52
Şekil 8: Lenf Nodu Metastazı Olan Hastalarla Klinik Evre 1 Hastaların Preoperatif ve Postoperatif 2. hafta miR-371a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	53
Şekil 9: Metastazı Olan Hastalarla Klinik Evre 1 Hastaların Preoperatif ve Postoperatif 2. hafta miR-371a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	53
Şekil 10 Çeşitli Evrelerde Preoperatif ve Postoperatif 2. Haftada miR-371a-3p Seviyeleri...54	
Şekil 11 Metastatik Hasta Grubunda miR-371a-3p IGCCCG Prognostik Grup İlişkisi.....	55

ÖZET

Giriş ve Amaç: Genomun epigenetik regülasyonunda rol oynayan Mikro ribonükleik asit'lerin (miR/miRNA) klasik serum tümör belirteçlerine göre Germ hücreli testis tümörü (GCT)'ye daha sensitif ve spesifik olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda GCT saptanan hastalarda tanı anındaki miR-371a-3p seviyeleri ile hastalığın klinik evresi, evre 1 hastalarda patolojik risk faktörleri ve metastatik hastalarda International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) sınıflamasına göre prognostik gruplarla olan korelasyonu araştırmayı amaçladık.

Materyal-Metod: Ocak 2019-Mayıs 2021 tarihleri arasında kliniğimizde GCT saptanan 60 hastanın ameliyat öncesi-sonrası, 40 sağlıklı katılımcının serum miR-371a-3p seviyeleri ölçüldü. GCT hastalarının preoperatif kontrastlı toraks ve abdomen tomografi (BT)'leri çekilerek klinik evreleme yapıldı. Hastalarda patolojik risk faktörleri ve IGCCCG prognostik gruplar belirlendi. miRNA-371a-3p ekspresyon ölçümü kantitatif real time PCR ile yapıldı. Hastaların tanı anında miRNA-371a-3p düzeyleri ile evre ilişkisi, evre 1 hastalarda patolojik risk faktörleri; metastatik hastalarda ise prognostik gruplarla olan ilişki istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol grubu ile kıyaslandığında GCT'de tanı anında miR-371a-3p'nin sensitivitesi % 98.3, spesifitesi % 95 olarak saptandı (AUC:0.997 (% 95 CI 99-100) $p<0.001$). Tanı anında; klinik evre 1 hastalıkta ortalama 38, klinik evre 2 hastalıkta ortalama 57, klinik evre 3 hastalıkta ortalama 86 kat daha fazla eksprese edilmekteydi. Tüm evrelerdeki hastalar göz önünde bulundurulduğunda tanı anında ortalama miR-371a-3p ekspresyon düzeyi non seminom hastalarında seminom hastalarına göre 1.5 kat daha yüksekti ($p:0.008$).

Preoperatif dönemde 21 hastada Alfa-fetoprotein (AFP), 17 hastada Beta human chorionic gonadotropin (bHCG), 12 hastada Laktat dehidrogenaz (LDH) artışı mevcuttu. Postoperatif 2. haftada 13 (% 61) hastada AFP, 11 (% 64.7) hastada bHCG, 8 (% 66.6) hastada LDH değerlerinde düşüş mevcuttu. Belirtecin ekspresyon seviyeleri hastalığın klinik evresi, primer tümör boyutu ve IGCCCG kötü prognostik grupla ilişkili idi. Evre 1 hastalıkta ise tümör boyutuyla ilişkili olup, seminom hastalarında Rete testis invazyonu ve nonseminom hastalarında Lenfovasküler invazyonla ilişkili değildi.

Sonuç: miR-371a-3p klasik serum tümör belirteçlerine göre daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Belirteç primer tümör boyutu, klinik evre ve IGCCCG kötü prognostik risk grubuyla koreledir.

Anahtar kelimeler: Germ hücreli testis tümörü, mikrona, miR-371a-3p

ABSTRACT

Introduction: Microribonucleic acids (miR), which play a role in the epigenetic regulation of the genome, were found to be more sensitive and specific for Germ cell testicular tumor (GCT) than classical serum tumor markers. In our study, we aimed to investigate the correlation between miR-371a-3p levels at the time of diagnosis and the clinical stage of the disease, pathological risk factors in stage 1 patients, and prognostic groups according to the International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) classification in metastatic patients.

Methods: Between January 2019 and May 2021, serum miR-371a-3p levels were measured in 60 GCT patients, pre- and postoperatively, and 40 healthy participants. Clinical staging was performed by taking preoperative contrast-enhanced thorax and abdomen tomography of the GCT patients. Pathological risk factors and IGCCCG prognostic groups were determined in the patients. miRNA-371a-3p expression levels was measured by quantitative real time PCR. Relationship between miRNA-371a-3p levels and stage, pathological risk factors in stage 1 patients and the prognostic groups in metastatic patients was statistically evaluated.

Results: Compared with the control group, the sensitivity of miR-371a-3p at the time of diagnosis was 98.3% and the specificity was 95% in GCT (AUC:0.997 (% 95 CI 99-100) $p < 0.001$). The marker was expressed on average 38 fold in clinical stage 1 disease, 57 fold in clinical stage 2 disease, and 86 fold in clinical stage 3 disease. Considering patients at all stages, the mean miR-371a-3p expression level at the time of diagnosis was 1.5 times higher in non-seminoma patients than in seminoma patients ($p:0.008$).

In the preoperative period, Alpha-fetoprotein (AFP) increased in 21 patients, Beta human chorionic gonadotropin (bHCG) in 17 patients, and Lactate dehydrogenase (LDH) increased in 12 patients. In the postoperative 2nd week, there was a decrease in AFP in 13 (61%) patients, in bHCG in 11 (64.7%) patients, and in LDH values in 8 (66.6%) patients. While the expression levels of the marker are associated with the clinical stage of the disease, primary tumor size and IGCCCG poor prognostic group; it was not associated with pathological risk factors in stage 1 disease.

Conclusions: miR-371a-3p has higher sensitivity and specificity than classical serum tumor markers. The marker correlates with primary tumor size, clinical stage, and IGCCCG poor prognostic risk group.

Keywords: Germ cell tumor, microrna, miR-371a-3p

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Testis kanseri erkek neoplazmların % 1'ini ve ürolojik tümörlerin % 5'ini oluşturur. 20-40 yaş arası erkeklerde en sık görülen malignitedir (Howlader 2017). İnsidansı 3-10/100.000'dir. Tanı anında baskın histoloji % 95 Germ hücreli testis tümörü (GCT)'dir (Park 2018).

Alfa fetoprotein (AFP), Beta human chorionic gonadotropin (bHCG) ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) yaklaşık 50 yıldır GCT'nin tanı, evreleme ve takibinde rutin kullanılan temel serum belirteçleridir (Gilligan 2010, Albers 2015).

Bu belirteçler orşiektomi öncesinde tümörün histolojik tipi hakkında fikir verebilir ve orşiektomi sonrası belirteçlerin yarılanma kinetiğinin haftalık olarak takip edilmesi gerekir. Çünkü belirteçler orşiektomi sonrası histolojinin doğrulanmasına katkı sağlar ve seri ölçümlerde yükselmeye devam eder veya düşmezse mikrometastatik hastalığa işaret edebilir. Klinik evre 1 hastalıkta orşiektomi sonrası 2 hafta sonra bHCG, 4 hafta sonra AFP seviyelerinin hızla normal düzeye düşmesi tümörün ortadan kalktığını düşündürür. Ayrıca küratif tedavi sonrası tedavi yanıtının değerlendirilmesinde yol göstericidirler. Kür sonrası erken nüksün bazen tek belirtisi bu belirteçlerin tekrar yükselmeye başlamasıdır. Belirteçler hastalığın risk sınıflamasıyla ve prognozuyla da ilişkilidir (Nicholson 2019).

Mevcut belirteçlerin en önemli dezavantajları ise düşük sensitivite ve spesifiteleridir. Tüm GCT'lerin yalnızca % 50'si bu üç belirteçten birini eksprese ederler (Murray 2016, Dieckmann 2018). Non seminomatöz germ hücreli tümörlü (NSGCT) hastaların % 50-70'inde AFP artışı mevcutken; % 40-60'ında bHCG artışı mevcuttur (Germa-Lluch 2002, Barlow 2010). Saf seminomu olan hastalarda ise % 30 oranında hastalığın seyri sırasında bHCG artışı varken AFP ekspresyonu izlenmez (Gilligan 2010).

AFP hepatosellüler kanserde, mide, pankreas ve biliyer sistem kanserlerinde, karaciğerin enfeksiyöz, alkol ilişkili, ilaç ilişkili ve otoimmün inflamatuvar hastalıklarında yükselebilir. bHCG ise karaciğer, biliyer sistem, pankreas, mide, böbrek ve mesane kanserlerinde, esrar kullanımında yükselebilir (Bell1982, Nakanuma 1986, Fujimoto 1987). Tüm bu sebeplerden dolayı klasik serum tümör belirteçleri düşük sensitiviteye, yüksek yanlış pozitiflik oranlarına sahiptir ve belirteç seviyelerinin normal olması GCT tanısını dışlatmaz (Barlow 2010).

Klasik serum tümör belirteçlerinin düşük sensitivite ve spesifiteleri yeni biyobelirteçlerin araştırılmasına neden olmuştur. Genomun epigenetik regülasyonunda rol oynayan Mikro ribonükleik asit'lerin (miRNA/miR) kanserle olan ilişkisi ilk olarak 2002 yılında Kronik lenfositik lösemide ortaya konulmuştur (Calin 2002). İlerleyen zamanlarda ürolojik kanserler dahil birçok kanserde kanserli doku ve serumda saptanabiliyor olmaları miRNA'ları son 10 yılda

önemli biyobelirteçler haline getirmiştir (Schaefer 2010, Esteller 2011). miRNA-371-3 ve miRNA-302/367 kümelerinin GCT dokusunda tespit edilmesi ve sonraki çalışmalarla bu belirteçlerin yüksek serum seviyelerinin doğrulanması miRNA'ları GCT tanı ve takibinde odak noktası haline getirmeye başlamıştır (Looijenga 2007, Palmer 2010, Belge 2012, Bing 2012, Dieckmann 2012, Syring 2015).

miRNA-371a-3p'nin tanı ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde % 90'ın üzerinde sensitivite ve spesifiteye sahip GCT belirteci olduğu saptanmıştır (Dieckmann 2019, Lobo 2019, Almstrup 2020). Belirtecın diğer malignitelerde dolaşımda bulunmadığı ve testiküler vende periferik dolaşımdan çok daha yüksek seviyelerde mevcut olduğunun saptanması da belirtecın GCT için spesifik olduğunu göstermektedir (Spiekermann 2015, Dieckmann 2016). Dahası miRNA-371a-3p'nin germ hücreli olmayan testis tümörlerinde artmadığının gösterilmesi de belirtecın GCT'ye özgünlüğünü kanıtlamaktadır (Belge 2021).

Son 10 yılda yapılan çalışmalarla miRNA-371a-3p'nin GCT tanısı, tedavi cevabının takibi ve erken nükslerin saptanmasında sensitivitesi ve spesifitesi en yüksek biyobelirteç olduğu kanıtlanmış olup yeni nesil GCT belirteci olacağı düşünülmektedir (Leão 2021).

Biz de çalışmamızda GCT saptanan hastalarda tanı anındaki miRNA-371a-3p seviyeleri ile hastalığın klinik evresi, metastatik hastalarda International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) sınıflamasına göre prognostik gruplarla olan korelasyonu ve diğer çalışmalardan farklı olarak evre 1 hastalarda patolojik risk faktörleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

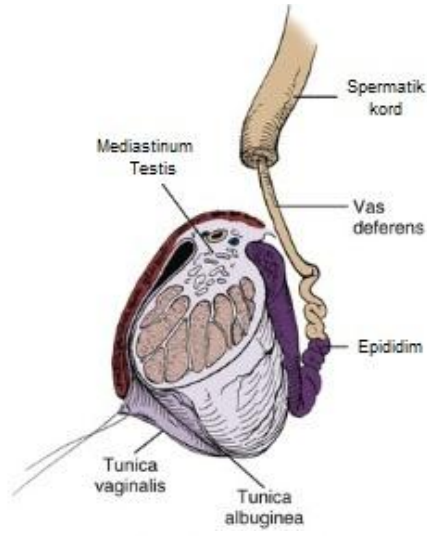
2.1. TESTİS ANATOMİSİ ve HİSTOLOJİSİ

Testis, ortalama 30 gram ağırlığında ve 4-5 cm boyutunda, dıştan içe doğru tunica vajinalisin viseral yaprağı, tunica albuginea ve tunica vasküloza ile çevrili skrotal organdır. Tunica albugineanın testis içerisine uzanarak oluşturduğu septalarla kompartmanlara ayrılır ve kompartmanlar içerisinde seminifer tübüller mevcuttur. Septalar testisin medialinde mediastinum testisi oluşturur. Seminifer tübüller mediastinum testiste birleşerek rete testisi oluştururlar. Rete testisten çıkan 12-20 adet eferent duktus, epididim başına girer. Testiste üretilen spermiler bu yolu takip ederek epididime ve oradan duktus deferense ulaşarak ejakülatta yer alırlar.

Seminifer tübüller içerisinde germ hücreleri ve Sertoli hücreleri bulunur. Sertoli hücreleri seminifer tübül bazal membranına yerleşirler ve peritübüler kontraktıl yapıdaki miyoid hücrelerle birlikte kan-testis bariyerini oluştururlar. Sertoloji hücreleri germ hücrelerinin beslenmesinden ve mikroçevrede oluşan atıkların fagositozundan sorumludurlar. Ayrıca androjen bağlayıcı protein, inhibin üretirler ve Folikül Stimulan Hormon (FSH) reseptörleri taşırlar. İnterstisyumda bulunan Leydig hücreleri ise Luteinizan hormon (LH) etkisiyle testosteron sentezler.

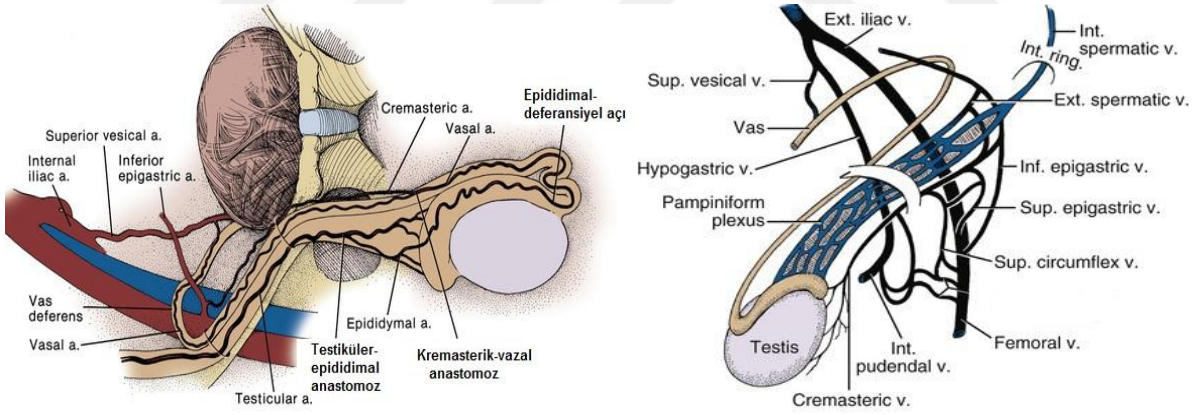
Testisin distalinde bulunduğu spermatik kord ise; vaz deferens, testiküler damarlar ve spermatik fasyalardan oluşur.

Testisin arterleri; aortadan köken alan a.spermatika interna, a.hipogastrikadan köken alan a.kremasterika ve a. deferensialistir. Testisin venleri ise testis etrafında pleksus pampiniformisi oluştururlar ve v.spermatika interna ile solda genellikle renal vene, sağda ise vena cava inferior'a dökülürler. Testisin lenfatikleri ise lomber lenf nodülleri yoluyla retroperitonda paraaortik ve interaortokaval lenf nodlarına ve mediastinal lenf nodüllerine drene olur. Testisin inervasyonunda rol oynayan aferent ve eferent sinirlerin bir kısmı renal ve aortik pleksuslardan köken alırken bir kısmı ise vas deferensle birlikte pelvik pleksustan köken alır. Genitofemoral sinirin genital dalı ise; tunica vajinalis ve skrotumun inervasyonundan sorumludur.



Şekil 1: Testisin gross anatomisi

(Campbell-Walsh Twelfth Edition FIG. 63.13'ten alınmıştır.)



Şekil 2: Testisin arteriyel ve venöz yapısı

(Campbell-Walsh Twelfth Edition FIG. 63.6'dan ve FIG. 63.8'den alınmıştır.)

2.2. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ:

Embriyoda cinsiyete özgü gonadal farklılaşma intrauterin 7. haftada ortaya çıkmaya başlar. Gonadlar karın arka duvarındaki mezodermden köken alan mezotelyum, mezenkim ve primordiyal germ hücrelerinden oluşur. Gonadlar 5. haftada mezonefroz üzerinde gonadal kabarıklık olarak adlandırılan çoğalmış hücre topluluğuna dönüşürler ve primer seks kordları olarak adlandırılan uzantılarla mezenkimle iletişime geçerler. Böylece korteks ve medulladan oluşan bir gonad ortaya çıkar. Y kromozomu üzerindeki SRY gen bölgesi (testis belirleyici faktör) sayesinde testis diferansiasyonu başlar. Bu bölgenin varlığı Sox-9 ve FGF-9 ekspresyonunu artırarak testisin farklılaşmasını sağlar. Erkek embriyoda korteks gerileyerek medulla testise farklılaşır. Testis belirleyici faktör sayesinde primer seks kordları oluşturur ve seminifer tübülleri ve rete testisi oluşturur. Seminifer tübüller içerisinde Sertoli hücreleri ve primordial germ hücrelerinden köken alan spermatogonia vardır. Tübüller arasındaki interstisyumda ise Leydig hücreleri oluşur ve 8. Haftadan itibaren testosteron üreteriler. Sertoli hücrelerinden salgılanan Müllerian inhibe edici faktör sayesinde paramezonefrik kanallar regrese olur. Testise yakın mezonefrik (Wolfian) kanallardan ise eferent duktuslar, epididim, vaz deferens, seminal veziküller ve ejakülatuar kanallar gelişir.

2.3. TESTİS TÜMÖRÜ

2.3.1. EPİDEMİYOLOJİ:

Testis kanseri erkek neoplazmların % 1'ini ve ürolojik tümörlerin % 5'ini oluşturur. 20-40 yaş arası erkeklerde en sık görülen malignitedir (Howlader 2017). İnsidansı 3-10/100.000'dir (Park 2018).

Tanı anında, vakaların % 1-2'si bilateraldir ve baskın histoloji % 95 oranla GCT'dir (Park 2018). Germ hücreli tümörler seminom ve non seminom olmak üzere ikiye ayrılır. İnsidans seminom için yaşamın 4. dekatında, non seminom için 3. dekatında pik yapar.

2.3.2. RİSK FAKTÖRLERİ:

Testis kanseri için belirlenmiş risk faktörlerinden ilki testiküler disgenezis sendromunun bir komponenti olan kriptorşidizmdir. Kriptorşidizmi olan erkeklerde testis tümörü riski gelişme riski 4 ila 6 kat daha fazladır. Puberte öncesi orşiopeksi yapılanlarda risk 2-3 kata düşer (Dieckmann ve Pichlmeier 2004, Wood ve Elder 2009).

Diğer risk faktörü; ailede testis kanseri öyküsü olmasıdır. Erkek kardeşinde testis tümörü olanlarda risk normal popülasyona göre 8-12 kat artmışken babasında testis tümörü öyküsü olanlarda 2 ila 4 katlık bir risk artışı mevcuttur (Westergaard 1996, Hemminki ve Chen 2006). Kişide testis kanseri öyküsü ve intratübüler germ hücreli neoplazi (ITGCN) olarak da adlandırılan germ hücreli neoplazi in situ (GCNIS) varlığı da riski artıran faktörlerdir (Stevenson 2015). Testis kanseri öyküsü olan erkeklerde kontralateral testiste tümör gelişme riski 12 kat daha fazladır (Fossa 2005).

GCT'lerin çoğu ITGCN olarak adlandırılan prekürsör bir lezyondan gelişir (Williamson ve ark. 2017). Testis biyopsisinde ITGCN saptanan hastalarda GCT gelişme riski 5 yılda % 50, 7 yılda % 70'tir (Dieckmann ve Skakkebaek 1999, Montironi 2002).

GCT ve GCNIS'in tüm histolojik tiplerinde spesifik bir genetik belirteç olan izokromozom 12p tanımlanmıştır ve saptanması testis tümörü için bir risk faktörüdür (Bosl 1997).

Ayrıca GCT öyküsü olan erkeklerde, ultrasonda karşı testiste mikrolitiazis bulgusu, artmış ITGCN riski ile ilişkilidir (Karellas ve ark. 2007). Ancak mikrolitiazisin genel popülasyondaki önemi net değildir. 1500 gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada mikrolitiazisin prevalansı % 5,6 olarak saptanmışken mikrolitiazisi olanların % 2'sinden azında 5 yıl içinde GCT gelişmiştir (DeCastro 2008).

Direkt olarak risk faktörü olmasa da infertilite ve subfertilitesi olan erkeklerde testis tümörü insidansı artmıştır (Hanson 2016).

Spesifik çevresel faktörler ise kesin olarak tanımlanmamıştır ancak endokrin bozucu kimyasallara erken maruz kalma ile testis GCT riskinde artış arasında bir ilişki saptanmıştır (Bonde 2016, Giannandrea 2017).

2.3.3. PATOGENEZ VE BİYOLOJİ:

GCT'lerin karsinogenezi tam olarak anlaşılamamıştır (Looijenga 2011, Sheikine 2012). Ancak testiküler GCT'lerin öncül bir lezyon olan GCNIS'den geliştiği ve bu lezyonun da maturasyon arrestine uğramış primordiyal germ hücrelerinden veya prespermatogoniya farklılaşamayan gonositlerden geliştiği saptanmıştır (Rajpert-de Meyts ve Hoei-Hansen 2007, Hussain 2008). 20. yüzyılın ilk yarısında testis kanseri insidansında artış yaşanmıştır. Bu artışa hipospadias, kriptorşidizm ve subfertilite gibi bozuklukların artışı eşlik etmiştir (Rajpert-de Meyts ve Hoei-Hansen 2007, Sonne 2008). Bu bulgular, testis kanseri ve bu diğer bozuklukların, çevresel, yaşam tarzı faktörleri ve genetik faktörlerden kaynaklanan testiküler disgenезis sendromundan geliştiği hipotezini oluşturmuştur (Xing ve Bai 2018). Bu hipotez tartışmalı olsa da testis tümörünün artan insidansı çevresel faktörlerin tümör gelişimine etkisi olduğunu desteklemektedir. İntrauterin dönemde kimyasal maruziyeti ile GCT riskinde artış saptanması bunu desteklemektedir (Bonde 2016).

Çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörler de GCT gelişiminde önemli bir yere sahiptir. İzokromozom 12 p spermatositik seminom hariç her türlü yetişkin GCT için patognomoniktir (Bosl GJ 1997). Ayrıca GCNIS vakalarının % 66'sında p53 gen lokusundaki değişiklikler tanımlanmıştır (Kuczyk 1996). PTEN tümör supresör genindeki genetik polimorfizm ile GCT gelişme riski arasında da ilişki mevcuttur (Andreassen 2013).

Sonuç olarak GCT; patogenezi net ortaya konamayan, genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bir tümördür.

2.3.4. HİSTOLOJİK SINIFLAMA:

Testis tümörlerinin patolojik sınıflaması 2016'da güncellenen Dünya Sağlık Örgütü patolojik sınıflamasına göre yapılmaktadır (Brierley 2016) (**Tablo 1**). Bu sınıflamaya göre GCT'ler GCNIS'tan köken alan ve almayan tümörler olarak ikiye ayrılırlar. Postpübertal GCT'lerin çoğu GCNIS'tan köken alır. GCNIS'tan köken alan tümörler ise seminom ve non seminomatöz GCT (NSGCT) olarak ikiye ayrılır. Seminomların görülme sıklığı % 52-56 arasında değişirken; non seminomların görülme sıklığı % 44-48 arasındadır (McGlynn 2005, Powles 2005).

Tablo 1: Testis Tümörlerinin Patolojik Sınıflaması

1.Germ Hücreli Tümörler • Germ cell neoplazi in situ (GCNIS)
2.Germ Cell Neoplazi İn Situ İlişkili Tümörler • Seminom • Embriyonel Karsinom • Yolk Sac Tümör (Post-Pübertal Tip) • Trofoblastik Tümörler • Teratom (Post-Pübertal Tip) • Somatik tip malignitelerle birlikte olan Teratom • Mikst Germ Hücreli Tümörler
3. Germ Cell Neoplazi İn Situ ile İlişkili Olmayan Tümörler • Spermatositik Tümör • Yolk Sac tümör (Pre-Pübertal Tip) • Mikst Germ Hücreli Tümör (Pre-Pübertal Tip)
4.Sex Kord/Stromal Tümörler • Leydig Hücreli Tümör -Malign Leydig Hücreli Tümör • Sertoli Hücreli Tümör -Malign Sertoli Hücreli Tümör -Büyük Hücreli Kalsifiye Sertoli Hücreli Tümör -İntratübüler Büyük Hücreli Hyalinize Sertoli Hücreli Neoplazi • Granüloza Hücreli Tümör -Yetişkin Tip -Juvenil Tip • Tekoma/Fibroma Grup Tümörler • Diğer Sex Kord/Gonadal Stromal Tümörler -Mikst -Sınıflandırılmamış • Germ Hücre ve Sex Kord/Gonadal Stroma İçeren Tümörler -Gonadoblastom
5.Non-Spesifik Stromal Tümörler • Ovaryan Epitelyal Tümörler • Toplayıcı Kanal ve Rete Testis Tümörleri -Adenom -Karsinom • Paratestiküler Tümörler -Adenomatoid Tümör -Mezotelyoma -Epididimal Tümör • Epididimal Kistadenom • Papiller Kistadenom • Epididimal Adenokarsinom • Spermatik Kord ve Testiküler Adneksin Mezenkimal Tümörleri

2.3.4.1. TUMÖR TIPLERİ

2.3.4.1.1. Germ Cell Tümör Neoplazi in Situ (GCNIS):

GCNIS seminifer tübüllerin tabanında lokalize, seminoma benzeyen undiferansiye germ hücrelerinden oluşur. Spermatositik tümör haricindeki postpubertal invaziv germ hücreli testis tümörleri GCNIS'dan kaynaklanır. İnvaziv germ hücreli tümörlerle % 85-100 birliktelikleri mevcuttur. Testis kanseri olan hastalarda orşiektomi spesmeninde saptanması tümörün nüksü ile ilgili prognostik önem taşımaz (von Eyben 2004).

2.3.4.1.2. Seminom:

GCT'lerin en sık görülen tipidir. En sık tanı konulma zamanı yaşamın 4. veya 5. dekadıdır (Cheville 1999). Human koryonik gonadotropin salgılayan sinsityotrofoblastlar vakaların % 15'inde tespit edilebilir (Cheville 1999). GCNIS'ten kaynaklanır ve diğer NSGCT alt tipleri için prekürsördür (Ulbright, 2004).

Prognostik önemi net olmamakla birlikte 3 alt histolojik tipi tanımlanmıştır. Klasik seminom tüm seminomların % 85'ini oluşturur. Anaplastik seminom ise tüm seminomların % 5-10'unu oluştururlar. Klasik tip seminomdan daha yüksek evreli olma eğilimindedirler. Ancak evre göz önünde bulundurulduğunda bu alt tip daha kötü prognozlu olma eğiliminde değildir. Spermatositik seminom ise 3. alt tip olup seminomların yaklaşık % 1'ini oluşturur.

2.3.4.1.3. Spermatositik Tümör:

GCNIS'tan köken almayan testisin benign tümörüdür ve hemen her zaman orşiektomi ile kür sağlanır (Chung 2004). Tüm seminomların yaklaşık % 1'ini oluşturur. İnmemiş testisle ilişkili değildir ve izokromozom 12p anomalisi izlenmez. Mikst GCT'lerin bir parçası değildir (Ulbright 2005). En sık görülme yaşı 60'lı yaşlardır (Chung 2004). Sarkomatoid diferansiasyon gösteren tipi malign olup yaygın metastatik hastalık ve kötü prognozla ilişkilidir.

2.3.4.1.4. Embriyonal Karsinoma:

NSGCT'ler içerisinde en andiferansiye tümör olup diğer NSGCT tiplerine dönüşebilir. Primer tümör alanında veya metastaz bölgesinde teratom dahil diğer NSGCT tiplerine dönüşmeyi sağlayan totipotent hücreler içerir. Normal serum tümör markerları seviyesine karşın yüksek metastaz oranına sahip agresif bir tümördür.

2.3.4.1.5. Koryokarsinoma:

Yüksek serum bHCG seviyeleri ve yaygın hastalıkla seyredabilen agresif bir tümördür. Genellikle hematojen yolla metastaz yapar ve en sık metastaz yaptığı organlar; akciğer, karaciğer ve beyindir (Yokoi 2008, Alvarado-Cabrero 2014). Mikroskopik olarak sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast içerdikleri için serum bHCG yüksekliğine sebep olabilirler. Saf koryokarsinom oldukça nadir görülür (% 1). Mikst tümörlerin yaklaşık % 10'unda saptanırlar.

2.3.4.1.6. Yolk Sac Tümör:

Endodermal Sinüs Tümörü olarakta adlandırılan bu tümörler erişkin GCT'lerin küçük bir kısmını oluşturuken; mediastinal ve pediatrik GCT'lerin yaygın bir kısmını oluşturur (Rossen 2009, Cao ve Humphrey 2011). Tümör markerlarından AFP üretirlerken; bHCG salgılamazlar. Mikroskopide Hyalen globülleri karakteristik olup vakaların % 84'ünde saptanır. Diğer bir karakteristik mikroskopik özellik olan Schiller-Duval cisimciği vakaların yaklaşık yarısında görülür. Mikst tümörlerin yaklaşık % 40'ında bulunurlar.

2.3.4.1.7. Teratom:

3 germ hücre yaprağı olan endoderm, mezoderm ve ektodermden en az ikisini veya tam diferansiye olmamış elemanlarını içeren tümörlerdir. İyi diferansiye bileşenleri olan tümörler matür teratom olarak adlandırılırken; iyi diferansiye olmamış fetal ve embriyonel dokulara benzer dokular içerenler immatür teratom olarak adlandırılır. Genellikle serum tümör markerlerini yükseltmezler ancak serum AFP düzeylerinin nadiren yükselmesine neden olurlar. Histolojik olarak benigndirler ancak malign GCT'lerde yaygın görülen anöplöidi, izokromozom 12p gibi genetik anormallikleri içerirler ve yaygın metastatik NSGCT'si olan hastaların metastatik alanlarında saptanırlar (Sella 1991). Kemoterapiye dirençlidirler. Genetik instabiliteleri nedeniyle kontrolsüz büyüyebilirler ve nadir olarak rabdomyosarkom, adenokarsinom, nöroektodermal tümör gibi somatik malignitelere transforme olabilirler (Logothetis 1982, Comiter 1998, Motzer 1998). Malign transformasyon gösteren tümörler agresif tümörler olup; kemoterapiye dirençlidirler ve kötü prognozla ilişkilidirler (Comiter 1998, El Mesbahi 2007).

2.3.5. TANISAL DEĞERLENDİRME:

2.3.5.1. SEMPTOM VE BULGULAR:

Testis kanserinde en sık başvuru semptomu ağrısız, ele gelen testiküler kitledir. Akut başlangıçlı testis ağrısı nadirdir ve genellikle hızlı büyüyen tümörlerde tümör içi hemoraji ve infarkt nedeniyle olur (Germa-Lluch 2002). Palpabl abdominal kitle, üreter obstrüksiyonuna

bağlı yan ağrısı, psoas kası veya sinir kökü basısına bağlı bel-sırt ağrısı, tümör basısına bağlı gastrointestinal semptomlar, pulmoner metastaza bağlı dispne, göğüs ağrısı, hemoptizi ele gelen supraklavikular kitle gibi metastatik semptomlar tanı anında hastaların % 10-20'sinde görülür (Moul 2007).

2.3.5.2. FİZİK MUAYENE:

Tümörlü ve normal olan karşı testis boyut, kıvam ve ekstratestiküler kitle varlığı, inmemiş testis açısından dikkati şekilde muayene edilmelidir. Supraklavikular, aksiller, inguinal lenf nodları dahil lenf nodu muayenesi detaylı olarak yapılmalıdır. Palpabl kitle varlığı açısından batin muayenesi, akciğer metastazına bağlı bulguların olup olmadığının değerlendirilebilmesi için torasik muayene yapılmalıdır.

2.3.5.3. GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ:

2.3.5.3.1. Skrotal Ultrason (USG):

Skrotal kitle nedeniyle başvuran hastada seçilecek ilk görüntüleme yöntemi yüksek frekanslı (>10 MHz) skrotal ultrasondur (Moul 2007, Shaw 2008). Ultrasonda GCT'ler genelde hipoekoik lezyonlar şeklinde görülürler. Ultrason sayesinde intra-ekstratestiküler kitle ayrımı yapılabilir, tümörün hacmi ve testisteki lokalizasyonu saptanabilir ve karşı testis de non invaziv şekilde değerlendirilebilir. Ayrıca ultrasonla B modu, dinamik kontrastlı çekim, eş zamanlı elastografi, enine dalga elastografi gibi çekim modaliteleriyle benign ve malign lezyonların ayrımı hakkında fikir sahibi olunabilir (Maizlin 2004, Isidori 2014, Pedersen 2019, Rocher 2019).

2.3.5.3.2. Bilgisayarlı Tomografi (BT):

Kontrastlı BT toraks, abdomen ve pelvisin evrelemesi için en sensitif görüntüleme yöntemidir (Pierorazio 2020). GCT'de bütün hastalarda evreleme için rutin olarak kullanılmalıdır. Abdominal BT'nin GCT evrelemesinde ortalama sensitivitesi % 66.7 (37-100), ortalama spesifitesi % 95.2 (58-100) olarak saptanmıştır (Pierorazio 2020).

Toraks BT'nin ise GCT evrelemesinde ortalama sensitivitesi % 100 (95-100), ortalama spesifitesi % 92.7 (89-97) olarak saptanmıştır (Pierorazio 2020).

Kontrastlı beyin BT ise NSGCT olan, multiple akciğer metastazlı ve IGCCCG kötü prognostik gruptaki bHCG değeri > 5,000 UI/L olan veya klinik semptomları olan hastalarda önerilir (Feldman 2016).

2.3.5.3.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR):

Skrotumun MR görüntülemesi testis kanseri tanısı koymada USG'den daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir ancak maliyeti nedeniyle tanı amaçlı rutin kullanımı önerilmez (Cassidy 2010, Manganaro 2015). Skrotal MR'ın en önemli kullanım yeri USG ile intra ve ekstratestiküler kitlelerin ayrımının yapılamadığı kitlelerdir.

Abdominal evrelemede kontrastlı BT ile benzer sonuçlar verir. Abdominal evrelemede % 78-96 arasında sensitiviteye sahiptir (Pierorazio 2020). Kontrast alerjisi durumunda lenf nodu değerlendirmesi için kullanılabilir ve evreleme içi rutin kullanımı önerilmez.

MR görüntülemenin en önemli rol oynadığı nokta beyin metastazlarının değerlendirilmesidir. Beyin görüntülemesinde kontrastlı BT ve MR kullanılabilir ancak MR'ın sensitivitesi BT'den yüksektir (Pope 2018). Kontrastlı BT'nin alerji vb. durumlar için kontrendike olduğu durumlarda kullanılabilir.

2.3.5.3.4. Fluorodeoksiglukoz-Pozitron Emisyon Tomografi (FDG-PET):

GCT'de FDG-PET'in evrelemede ve takipte rutin kullanımını öneren yeterli kanıt yoktur (de Wit 2008, Oechsle 2008). GCT'de kullanıldığı en önemli nokta; kemoterapi sonrası 3 cm'den büyük rezidü retroperitoneal kitlesi olan seminom hastalarının değerlendirilmesidir (Beyer 2013). Kemoterapi sonrası ilk 2 aydan sonra çekilmesi gerekmektedir. Aktif rezidü tümörde negatif prediktif değeri % 90'ın üzerinde iken; pozitif prediktif değeri % 23-69 arasında değişmektedir (De Santis 2004, Bachner 2012). Bu sebeple PDG-PET'te pozitif tutulum gösteren retroperitoneal rezidü kitlenin seminom olma olasılığı % 20 iken; lezyonların % 80'i nekrotik dokudur (Cathomas 2018).

2.3.5.3.5. Kemik Taraması:

GCT'de FDG-PET'in evrelemede rutin kullanımını öneren yeterli kanıt yoktur.

2.3.5.4. SERUM TÜMÖR BELİRTEÇLERİ

2.3.5.4.1 Klasik Serum Tümör Belirteçleri:

AFP, bHCG ve LDH; seviyelerine orşiektomi öncesi ve sonrasında, kemoterapiye yanıtı izlemede, takipte ve tedavi sonrası nüks izleminde mutlaka bakılması gereken serum tümör belirteçleridir.

AFP; yarılanma ömrü 5-7 gün olan, yolk sac tümörü ve embriyonel karsinomda seviyesi artabilen bir belirteçtir. Erkeklerdeki normal seviyesi 10-15 mcg/L'dir. Seminom ve koryokarsinomda salgılanmaz. Hepatosellüler kanserde, mide, pankreas ve biliyer sistem

kanserlerinde, karaciğerin infeksiyöz, alkol ilişkili, ilaç ilişkili ve otoimmün inflamatuvar hastalıklarında, hereditör tirozinemi, ataksi-telenjektazi gibi kalıtsal hastalıklarda seviyesi artabilir.

bHCG; yarılanma ömrü 1-3 gün olan, seminom, embriyonel karsinom ve koryokarsinomda seviyesi artabilen bir belirteçtir. Erkeklerdeki normal seviyeleri 5-10 IU/L'dir. Karaciğer, biliyer sistem, pankreas, mide, böbrek ve mesane kanserlerinde, esrar kullanımında seviyesi artabilir.

LDH ise GCT'ye spesifitesi düşük olan, seviyesi tümör volümüyle artan, yarı ömrü 24 saat olan bir belirteçtir (Barlow 2010). Metastatik hastalıkta hastaların % 20-60'ında yükselmiştir. 5 izoenzim formu mevcut olup, LDH-1 GCT'de en sık artan izoenzimdir. Çünkü LDH-1 GCT'de amplifikasyonu artan izokromozom 12p sayısı ile ilişkilidir.

Plasental alkalen fosfataz (PLAP) ise saf seminom takibinde kullanılabilen opsiyonel bir belirteçtir ancak sigara içen hastalarda kullanılması önerilmez (Koshida 1996).

Bu belirteçler orşiektomi öncesinde tümörün histolojik tipi hakkında fikir verebilirken; orşiektomi sonrasında yarılanma kinetiği takip edilmesi gereken, orşiektomi sonrası artışı metastatik hastalığa işaret olabilen ve seviyesi hastalığın risk sınıflamasıyla ve prognozuyla ilişkili olan belirteçlerdir (Nicholson 2019).

NSGCT'li hastaların % 50-70'inde AFP artışı mevcutken; % 40-60'ında bHCG artışı mevcuttur. Ayrıca tanı anında NCGCT'li hastaların % 90'ında tanı anında AFP veya bHCG artışı mevcuttur (Germa-Lluch 2002, Barlow 2010). Saf seminomu olan hastaların % 30'unda ise hastalığın seyri sırasında bHCG artışı vardır (Gilligan 2010). Serum tümör belirteçleri düşük sensitiviteye ve yüksek yanlış pozitiflik oranlarına sahiptir ve belirteç seviyelerinin normal olması GCT tanısını dışlatmaz (Barlow 2010).

Mevcut veriler hastalığın tanı ve takibinde kullanılan klasik serum tümör belirteçlerinin sensitivite ve spesifitelerinin düşük olduğunu göstermektedir. Bu sebeple GCT'lerin tanı ve takibinde kullanılacak yeni biyobelirteçlere ihtiyaç doğmuştur.

Yakın dönemde miRNA'ların klasik serum tümör belirteçlerine göre GCT'ye daha sensitif ve spesifik olan potansiyel yeni biyomarkerlar olabileceği belirtilmiştir. Bu markerların hastalığın tanısı, metastatik hastalığın tanısı, tedavi yanıtı değerlendirmesi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Murray 2016, Dieckmann 2017, Dieckmann 2019, Nappi 2019).

2.3.5.4.2. MikroRNA-371a-3p (miRNA/miR):

miRNA'lar genomun epigenetik regülasyonunda rol oynayan, insan genomunun yaklaşık 3'te birinin ekspresyonunu düzenleyerek hücre döngüsü, hücre büyümesi, proliferasyon, apoptoz ve diferansiasyon gibi hücresel fonksiyonları düzenleyen, yaklaşık 20 baz çiftinden oluşan tek sarmallı RNA molekülleridir (Bartel DP 2004, Farazi 2013) .

Ürolojik kanserler dahil bir çok kanserde kanserli doku ve serumda saptanabiliyor olmaları miRNA'ları önemli biyobelirteçler haline getirmiştir (Schaefer 2010, Esteller 2011). miRNA-371-3 ve miRNA-302/367 kümelerinin GCT dokusunda tespit edilmesi ve sonraki çalışmalarla bu belirteçlerin yüksek serum seviyelerinin doğrulanması miRNA'ları GCT tanı ve takibinde odak noktası haline getirmeye başlamıştır (Looijenga 2007, Palmer 2010, Belge 2012, Bing 2012, Dieckmann 2012, Syring 2015).

Sonrasında yapılan çalışmalarla miRNA-371a-3p'nin GCT'lerin % 60'ından azında salgılanan klasik tümör belirteçlerinin aksine % 90'a varan sensitivite ve % 94'e varan spesifiteye sahip, en duyarlı GCT belirteci olduğu saptanmıştır (Dieckmann 2019, Lobo 2019, Almstrup 2020).

Bu belirtecin diğer malignitelerde dolaşımda bulunmadığı ve testiküler vende periferik dolaşımdan çok daha yüksek seviyelerde mevcut olduğunun saptanması da belirtecin GCT için spesifik olduğunu göstermektedir (Spiekermann 2015, Dieckmann 2016). Dahası miRNA-371a-3p'nin germ hücreli olmayan testis tümörlerinde artmadığının gösterilmesi de belirtecin GCT'ye özgünlüğünü kanıtlamaktadır (Belge 2020).

miRNA-371a-3p'nin GCT'de hastalığın yaygınlığı, tedaviye yanıt, tedavi sonrası nüks ve tedavi sonrası rezidü kitlelerde canlı tümör varlığının belirlenmesi için tanı ve takipte güvenle kullanılabilecek yeni bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir (Dieckmann 2019). Rutin pratikte kullanılması ile alakalı karşılaşılan güçlükler; maliyet, standart bir ölçüm yönteminin olmayışı ve miRNA çalışılan laboratuvarların dünyanın her yerinde yaygın olmamasıdır. Ayrıca rutin kullanımı yönünde yeterli düzeyde kanıt halen oluşmamıştır. Bu sebeple güncel EAU ve AUA testis tümörü kılavuzlarında rutin kullanımları hakkında randomize prospektif çalışmaların beklenmesi gerektiği yönünde öneriler mevcuttur.

Mevcut kanıtlar dahilinde gelecekte GCT tanı ve tedavinin takibinde rutin kullanılması beklenen biyobelirteçtir.

2.3.5.5. İNGÜİNAL EKSPLOASYON VE ORŞİEKTOMİ:

2.3.5.5.1. Radikal İnguinal Orşiektomi:

İnternal ingüinal ringden itibaren spermatik kord, testis ve eklerinin cerrahi eksizyonunu içeren radikal ingüinal orşiektomi testiküler tümörü olan hastaların tanı ve tedavisinin standart ilk aşamasıdır. Skrotal orşiektomi veya testis biyopsisi spermatik kordun ingüinal kısmı sağlam kalacağından ve testisin lenfatik drenajını değiştirerek pelvik veya ingüinal lenf nodu metastazı riskini artırabileceğinden kontrendikedir.

Radikal ingüinal orşiektomi hastalığın T evresi ve tümör histolojisi ile ilgili bilgiler vermesinin yanında Evre 1 Seminomda % 80-85, Evre 1 NSGCT'de ise % 70-80 kür sağlayan bir cerrahidir.

Histopatolojik değerlendirme sonunda patoloğ tarafından tümörün histolojik tipi, tümör boyutu, multifokalite, lokal tümör invazyonu (rete testis, tunica albuginea, tunica vajinalis, epididim, spermatik kord, skrotum), T evresi, GCNIS varlığı, lenfatik/vasküler invazyon (LVI), cerrahi sınır durumu, mikst GCT'lerin tümör oranları ve tümör subtipleri hakkında bilgi verilmelidir.

Nadir durumlarda genel durumu stabil olmayıp doku tanısının beklenemeyeceği durumlarda serum tümör belirteçlerinin yüksek olması GCT olarak kabul edilebilir ve hastaya orşiektomi öncesi kemoterapi verilebilir. Bu durumda kemoterapi tamamlandıktan sonra hastaya yine orşiektomi yapılmalıdır. Çünkü kan testis bariyerinden dolayı testis primer tümör için bir sığınak olabilir ve tümör invaziv GCT tiplerine dönüşebilir (Geldart 2002).

2.3.5.5.2. Testis Koruyucu Cerrahi (Parsiyel Orşiektomi):

Soliter testisi olan hastalarda hormonal fonksiyon ve fertilitiyi korumak için kullanılabilecek bir tedavidir. Normal karşı testisi olan hastalarda önerilmez.

Karşı testisin normal olmaması ve testosteron seviyesinin normal olması kaydıyla; soliter testiste tümör veya senkron bilateral testis tümörü olan hastalarda tümör boyutu 2-3 cm'den küçük ve testis hacminin % 30'unu aşmayan tümörlerde uygulanabilir.

Tümör belirteçleri negatif olan potansiyel olarak benign olan küçük boyutlu lezyonların aşırı tedavisinden kaçınmak ve testis fonksiyonunu korumak için de testis koruyucu cerrahi önerilebilir. 6 aydan uzun süredir olan 3 cm'den küçük kitlelerde % 80'in üzerinde benign histoloji ile karşılaşma ihtimali vardır (Ginnarini 2010).

Nihai patoloji ile korelasyonu yüksek olduğu için işlem sırasında frozen section inceleme yapılmalıdır (Matei 2017). Bu sırada komşu testis parankiminden GCNIS varlığını araştırmak için testis biyopsisi alınması gereklidir. GCNIS raporlanan hastalarda 20 Gy'lik radyoterapi GCT gelişiminin önlenmesi için verilmelidir. Çünkü bu hasta popülasyonunda radyoterapi verilmediği takdirde % 80'e varan oranda nüks testis kanseri gelişebileceği belirtilmiştir (Heidenreich, 2001). Ancak radyoterapi alan hastalarda da Leydig hücre disfonksiyonu, % 40'a varan oranda testosteron replasman tedavisi gerektirebilecek hipogonadizm ve infertilite geliştiği bildirilmiştir (Petersen 2002). Bu sebeple çocuk sahibi olmak isteyen ve testis koruyucu cerrahi yapılan bu hasta popülasyonunda dikkatli izlem şartı ile radyoterapi bir süre ertelenebilir (Giannarini 2010).

2.3.5.5.3. Testis Protezi Yerleştirilmesi:

Tek taraflı veya bilateral orşiektomi önerilen hastalara orşiektomi sırasında veya takip sırasında testis protezi önerilmelidir (Skoogh 2011).

2.3.5.5.4. Karşı Testis Biyopsisi:

GCNIS varlığını dışlamak için önerilmektedir (Dieckmann 1996). Bazı ülkelerde orşiektomi sırasında rutin uygulama olsa da (Ruf 2015) karşı testiste GCNIS insidansının maksimum % 9 olması ve metakron testis tümörü ihtimalinin % 2.5 civarında olması (Harland 1998, Andreassen 2011) ayrıca metakron tümörlerin genellikle düşük evreli olması rutin karşı testis biyopsisini tartışmalı hale getirmektedir (Taberner 2004). Ancak testis hacminin 12 ml'den küçük olması, inmemiş testis öyküsü, infertilite veya subfertilite olması ve hastanın 40 yaş altında olması kontralateral GCNIS için risk faktörleri olduğundan bu hastalara karşı testis biyopsisi önerilmelidir (Giwercman 1989, Heidenreich 2002, Dieckmann 2007).

2.3.5.5.5. Sperm Kriyoprezervasyonu:

GCT'li erkeklerin yaklaşık % 52'sinde tanı anında oligospermi saptanırken hastaların % 10'unda ise azospermi mevcuttur (Williams 2009). Ayrıca testisin germinal epiteli platin bazlı kemoterapi ve radyoterapiye hassas olduğundan, kemoterapi sonrası hastaların neredeyse tamamı tedavi sonrası azospermik hale geleceklerdir. Bu hastaların % 80'inde sperm parametreleri 5 yıl sonunda tedavi öncesi seviyeye dönecektir (Bokemeyer 1996, Feldman 2008). Ayrıca retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu % 80'e varan oranda hastalarda ejakülatuar disfonksiyona neden olmaktadır. Tüm bu sebeplerden ötürü çocuk sahibi olmak isteyen GCT hastalarına sperm kriyoprezervasyonu önerilmelidir.

2.3.6. EVRELEME VE KLASİFİKASYON:

2.3.6.1. EVRELEME:

Güncel Avrupa Üroloji Derneği (EAU) kılavuzuna göre testis kanserinin evrelemesi için tanı anında kan tetkiklerinden AFP, bHCG, LDH; görüntüleme yöntemlerinden testis USG, toraks ve abdominopelvik BT'nin rutin olarak yapılması önerilir (Laguna 2019). Ayrıca başvuru anında bulgulara göre kemik taraması, vertebral ve kranial MR'da yapılması önerilen tetkiklerdir.

International Union Against Cancer (UICC)'nin 2016 Tümör, Lenf Nodu, Metastaz (TNM) sınıflandırması hastalığın anatomik yayılımını değerlendirmek için kullanılır (Brierley 2016) **(Tablo 2)**.



Tablo 2:International Union Against Cancer (UICC) 2016 Tümör, Lenf Nodu, Metastaz (TNM) sınıflandırması

pT-Primer Tümör			
pTx	Primer tümör değerlendirilemiyor		
pT0	Primer tümör lehine kanıt yok		
pTis	ITGCN		
pT1	Tümör vasküler/lenfatik invazyon olmaksızın testis ve epididimde sınırlı; tümör tunica albugineaya invaze olabilmesine karşın tunica vaginalis invazyonu yok*		
pT2	Tümör vasküler/lenfatik invazyon mevcut iken testis ve epididimde sınırlı veya tümör tunica albugineayı aşarak tunica vaginalisi invaze etmiş**		
pT3	Tümör vasküler/lenfatik invazyon olsun veya olmasın spermatik korda invaze**		
pT4	Tümör vasküler/lenfatik invazyon olsun veya olmasın skrotuma invaze		
N-Bölgesel Lenf Nodu-Klinik			
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor		
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
N1	En büyük çapı ≤ 2 cm olan tek lenf noduna veya çapı < 2 cm birden fazla lenf noduna metastaz		
N2	En büyük çapı 2- ≤ 5 cm olan tek lenf noduna veya en büyük çapı < 5 cm olan 5'ten fazla lenf noduna metastaz veya ektranodal tümör invazyonu kanıtı olması		
N3	En büyük çapı > 5 cm olan lenf noduna metastaz		
pN-Bölgesel Lenf Nodu-Patolojik			
pNx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor		
pN0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
pN1	En büyük çapı ≤ 2 cm olan tek lenf noduna veya hiçbirinin çapı >2 cm olmayan 5 veya daha az sayıda lenf noduna metastaz		
pN2	En büyük çapı 2- ≤ 5 cm olan tek lenf noduna veya hiçbirinin en büyük çapı >5 cm olmayan 5'ten fazla lenf noduna metastaz veya ektranodal tümör invazyonu kanıtı olması		
pN3	En büyük çapı > 5 cm olan lenf noduna metastaz		
M-Uzak Metastaz			
Mx	Uzak metastaz değerlendirilemiyor		
M0	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
M1a	Bölgesel olmayan lenf nodu/nodları veya akciğer metastazı		
M1b	Bölgesel olmayan lenf nodu ve akciğer dışı organ metastazı		
S-Serum Tümör Belirteçleri (Kemoterapi Öncesi)			
Sx	Serum tümör belirteçlerine bakılmamış		
S0	Serum tümör belirteçleri normal sınırlarda		
	LDH(U/l)	bHCG(mIU/ml)	AFP (ng/ml)
S1	< 1.5 x normalin üst sınırı ve	<5.000 ve	<1.000
S2	1.5-10 x normalin üst sınırı veya	5.000-50.000 veya	1.000-10.000
S3	>10 normalin üst sınırı veya	>50.000 veya	>10.000

*: The American Joint Committee on Cancer (AJCC) T1 seminomu, en büyük çapı 3 cm'den büyük olmayan ve büyük olan olmak üzere T1a ve T1b olarak iki alt gruba ayırmıştır. **: The American Joint Committee on Cancer (AJCC) hiler yumuşak doku invazyonunu pT2 olarak, spermatik korddaki düzensiz tümörü ise pM1 olarak değerlendirmiştir.

2.3.6.2. PROGNOTİK GRUPLAR:

2.3.6.2.1. UICC (Union Internationale Contre le Cancer) Prognostik Grubu

UICC, 2016 TNM kalsifikasyonuna göre testis tümörlerini tablodaki prognostik gruplara ayırmıştır (Brierley 2016) (**Tablo 3**).

Tablo 3: UICC (Union Internationale Contre le Cancer) Prognostik Grubu-Evreleme

Evre 0	pTis	N0	M0	S0
Evre 1	pT1-T4	N0	M0	Sx
Evre 1A	pT1	N0	M0	S0
Evre 1B	pT2-pT4	N0	M0	S0
Evre 1S	Herhangi pT/Tx	N0	M0	S1-3
Evre 2	Herhangi pT/Tx	N1-N3	M0	Sx
Evre 2A	Herhangi pT/Tx	N1	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N1	M0	S1
Evre 2B	Herhangi pT/Tx	N2	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N2	M0	S1
Evre 2C	Herhangi pT/Tx	N3	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N3	M0	S1
Evre 3	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1	Sx
Evre 3A	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S0
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S1
Evre 3B	Herhangi pT/Tx	N1-N3	M0	S2
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S2
Evre 3C	Herhangi pT/Tx	N1-N3	M0	S3
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S3
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1b	Herhangi S

Bu evreleme sistemine göre tanı anında seminom hastalarının % 75-80'inde, NSGCT hastalarının % 55-64'ünde evre 1 hastalık vardır (Klepp 1990, Verhoeven 2014).

2.3.6.2.2. Metastatik Testis Kanserinde International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) Sınıflaması

Bu sınıflama 1997'de IGCCCG tarafından geliştirilen, metastatik testis tümöründe klinik risk faktörlerini temel alan bir sınıflamadır. Bu sınıflamaya göre tümörün histolojisi, primer konumu, metastazların yeri ve kemoterapi öncesi serum tümör belirteci düzeyleri kullanılarak hastalar "iyi", "orta" ve "kötü" prognozlu olarak kategorize edilir (Mead 1997) (**Tablo 4**).

Tablo 4: Metastatik Testis Kanserinde International Germ Cell Cancer Collaborative (IGCCCG) Sınıflaması

İyi Prognostik Grup	
<u>Non-Seminom</u> 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım % 90 5 yıllık sağ kalım % 96	Aşağıdaki kriterlerin tümü sağlanmalıdır: • Primer yerleşim testis veya retroperiton • Akciğer dışı visseral metastaz yok • AFP<1.00 ng/ml • bHCG < 5,000 IU/L (1,000 ng/mL) • LDH < 1.5 kat
<u>Seminom</u> 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım % 89 5 yıllık sağ kalım % 95	Aşağıdaki kriterlerin tümü sağlanmalıdır: • Herhangi bir primer yerleşim bölgesi • Akciğer dışı visseral metastaz yok • Normal AFP • Herhangi bHCG • Herhangi LDH
Orta Prognostik Grup	
<u>Non-Seminom</u> 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım % 78 5 yıllık sağ kalım % 89	Aşağıdaki kriterlerin herhangi biri olmalıdır: • Primer yerleşim testis veya retroperiton • Akciğer dışı visseral metastaz yok • AFP 1,000 - 10,000 ng/ml veya • bHCG 5,000 - 50,000 IU/L veya • LDH 1.5 - 10 kat
<u>Seminom</u> 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım % 79 5 yıllık sağ kalım % 88	Aşağıdaki kriterlerin tümü sağlanmalıdır: • Herhangi bir primer yerleşim bölgesi • Akciğer dışı visseral metastaz • Normal AFP • Herhangi bHCG • Herhangi LDH
Kötü Prognostik Grup	
<u>Non-Seminom</u> 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım % 54 5 yıllık sağ kalım % 67	Aşağıdaki kriterlerin herhangi biri olmalıdır: • Primer yerleşim mediasten • Akciğer dışı visseral metastaz • AFP > 10,000 ng/ml veya • bHCG > 50,000 IU/L (10,000 ng/mL) veya • LDH > 10 kat
<u>Seminom</u>	Seminom hastalarında kötü prognostik grup yoktur.

2.3.7. PROGNOZ:

2.3.7.1. EVRE 1 HASTALIKTA METASTATİK RELAPS İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ:

Evre 1 seminomda tümör boyutu ve rete testis invazyonu relaps için belirlenen risk faktörleridir (Warde 2002). Risk faktörlerinin yokluğunda rekürrens % 6'dır (Aparicio 2005).

Evre 1 nonseminomda ise Lenfovasküler invazyon (LVI) gizli metastatik hastalık için en güvenilir tek risk faktörüdür (Albers 2003, Verrill 2018, Blok 2020). LVI yokken 5 yılda relaps ihtimali % 15 iken; LVI mevcut olduğunda bu ihtimal % 50'ye çıkmaktadır (**Tablo 5**).

Tablo 5: Evre 1 hastalıkta Metastatik Relaps İçin Patolojik Risk Faktörleri

Histolojik Tip	Seminom	Non Seminom
Patolojik Risk Faktörleri	-Tümör Boyutu -Rete Testis İnvazyonu	-Lenfovasküler İnvazyon

2.3.8. HASTALIK YÖNETİMİ:

Testis tümörlerinin kemosensitivitesi nedeniyle Cisplatin bazlı kemoterapiyle mükemmel kür sonuçları sağlanmaktadır (Hoffmann 2014). Hayatı tehdit eden yaygın hastalıkta klinik tablo testiküler kanseri güçlü bir şekilde destekliyorsa ve/veya tümör belirteçleri yüksekse orşiektomi öncesi kemoterapi derhal başlanmalıdır. Bu durumda klinik stabilizasyon sağlanana kadar orşiektomi ertelenebilir.

2.3.8.1. EVRE 1 GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNİN YÖNETİMİ:

2.3.8.1.1. Germ Cell Neoplazi in Situ (GCNIS):

Soliter testiste GCNIS saptanması durumunda 2 Gy'lik fraksiyonlarla 18-20 Gy lokal radyoterapi önerilmelidir (Classen 2003, Dieckmann 2013). Ancak bu tedavi infertilite ve uzun dönemde Leydig hücre yetmezliği ve hipogonadizm riskinde artışa neden olur. Bu sebeple çocuk isteği olan hastalarda düzenli USG ile kontrol şartıyla tedavi ertelenebilir (Dieckmann 2007).

Karşı testisin sağlam olduğu durumda GCNIS saptanırsa tedavi seçenekleri orşiektomi veya yakın takiptir. Çünkü 5 yılda kanser gelişme ihtimali % 50'dir (Hoei-Hansen 2005).

2.3.8.1.2. Evre 1 Seminom:

Klinik evre 1 seminom hastalarının yaklaşık % 15'inde genellikle retroperitonda subklinik metastatik hastalık vardır ve yalnızca orşiektomiden sonra nüks olacaktır (Chung 2015,

Tandstad 2016). İzlem, adjuvan kemoterapi, adjuvan radyoterapi ve risk bazlı tedavi seçenekleridir.

2.3.8.1.2.1. İzlem:

Evre 1 seminomda relaps riski 5 yılda % 12-20 arasındadır ve çoğu relaps ilk 2 yıl içerisinde retroperitoneal lenf nodlarında meydana gelir (Aparicio 2003, Nayan 2017). Relaps için belirtilen risk faktörlerinden rete testis invazyonu olmayan ve tümör boyutu <4 cm olan düşük riskli hastalarda relaps oranı % 6'dır (Aparicio 2014). Relaps için belirtilen risk faktörlerinin yokluğunda retroperitoneal lenf nodlarının görüntüleme ile daha sık takip edilmesi koşuluyla izlem; uzmanlaşmış merkezlerde % 99'un üzerinde kansere özgü sağkalım oranıyla uygulanabilecek bir yöntemdir (Aparicio 2003, Groll 2007, Nayan 2017). Bu yöntemde amaç sadece orşiektomi ile tedavi edilebilen hasta grubunu kemoterapinin yan etkilerinden korumaktır.

2.3.8.1.2.2. Adjuvan Kemoterapi (KT):

Medical Research Council (MRC) ve European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) tarafından düzenlenen bir çalışmada klinik evre 1 seminomda tek kür karboplatin kemoterapisiyle (KT) adjuvan radyoterapi (RT) karşılaştırılmış ve 4 yıllık izlemde rekürrensiz sağkalımda anlamlı fark saptanmamıştır (KT için % 95, RT için % 96) (Oliver 2005, Mead 2011).

Non-randomize, riske göre uyarlanmış, popülasyon tabanlı çalışmalarda 5 yıllık relaps oranları tek kür karboplatin KT alan hastalarda % 3 ve % 4 olarak belirtilirken; izlem uygulanan hastalarda bu oran % 14 ve % 16 olarak saptanmıştır (Aparicio 2003, Tandstad 2011).

Bu sebeplerle adjuvan tek kür karboplatin tedavisi evre 1 seminomda radyoterapi (RT) ve aktif izleme alternatif bir tedavi seçeneğidir.

2.3.8.1.2.3. Adjuvan Radyoterapi (RT):

Seminomlar son derecede radyosensitif tümörlerdir. Radyoterapi sonrası relaps % 5'ten azdır (Altan 2016). Optimal radyasyon dozu tanımlanmamış olsa da genellikle 25-35 Gy günlük 15-20 fraksiyonda verilmektedir. Bu tedavinin uzun dönem kansere özgü sağkalım oranının % 100, progresyonsuz sağkalım oranının % 95 -97 olduğu belirtilmiştir (Fossa 1999, Kollmannsberger 2010, Tandstad 2011).

Klinik evre 1 seminomda paraaortik alana ve ipsilateral iliak lenf nodlarına 20-24 Gy RT relapsı % 1-3'e düşürür (Fossa 1999, Jones 2005, Melchior 2001).

Ancak adjuvan RT ile ilgili temel endişe radyasyona bağlı olarak uzun dönemde % 19'a varan oranda sekonder non-germ hücreli malignitelerin olmasıdır. Bu durum, Klinik evre 1 seminomda adjuvan RT'nin rolünün adjuvant KT veya aktif izleme uygun olmayan hastalar ve yaşlı hastalarla sınırlandırılmasına neden olmuştur (Horwich 2014, van den Belt-Dusebout 2007). Bunların sonucunda RT'nin uygulanma oranının 2000 yılında % 74.7 iken; 2009 yılında % 37.7'ye gerilediği görülmektedir (Thong 2013).

2.3.8.1.2.4 Risk Bazlı Tedavi:

Radikal orşiektomi sonrası klinik evre 1 seminom hastaları tümör boyutunun >4 cm olup olmaması ve stromal rete testis invazyonunun olup olmamasına göre relaps için düşük ve yüksek riskli gruba ayrılırlar. Risk faktörü olan hastalarda relaps riski % 32 iken; risk faktörü olmayanlarda bu oran % 6'dır. Risk bazlı tedavinin değerlendirildiği 2 prospektif çalışma vardır. 227 hastayı içeren İspanyol çalışmasında risk faktörü olmayan veya 1 risk faktörü olan hastalar izlemle takip edilirken; 2 risk faktörü olan hastalara 2 kür adjuvan karboplatin KT'si uygulanmıştır. 34 aylık takip süresi sonunda relaps oranının adjuvan KT alan grupta % 1.4 olduğu raporlanmıştır (Aparicio 2014).

897 hastanın değerlendirildiği SWENOTECA çalışmasında ise risk faktörü olmayan veya 1 risk faktörü olan hastalar izlemle takip edilirken; 2 risk faktörü olan hastalara 1 kür adjuvan karboplatin KT'si uygulanmıştır. 5.6 yıllık takip sonunda risk faktörü olmayan ve izlemle takip edilen hastalarda relaps oranı % 4 saptanırken; bu oran adjuvan Karboplatin alan grupta % 2 olarak saptanmıştır. Genel olarak bir veya iki risk faktörü mevcut olduğunda izlemdeki hastaların % 15.5'inde relaps izlenirken; adjuvan KT alanların % 9'unda relaps saptanmıştır (Tandstad 2016).

Bu sebeplerle risk bazlı tedaviye göre risk faktörü olmayan hastalara yakın takip ile izlem önerilebilirken; risk faktörü olan hastalarda adjuvan tek doz karboplatin kemoterapisi, kemoterapiye uygun olmayan hastalarda ise adjuvan RT tedavi seçeneği olarak önerilebilir.

2.3.8.1.3. Evre 1 Non-Seminom:

Evre 1 non-seminomda tedavi seçenekleri; izlem, adjuvan KT veya retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu (RPLND)'dur. NSGCT'ler radyosensitif değildirler. Genellikle sadece orşiektomi ile evre 1 NSGCT'lerin % 70'inde kür sağlanır. Relaps için risk faktörü olan LVI yokluğunda relaps % 15 iken; LVI varlığında relaps % 50'ye yükselmektedir. Bu sebeple tedavinin şekli risk faktörleri göz önüne alınarak hasta ile birlikte belirlenmelidir.

2.3.8.1.3.1. İzlem:

Görüntüleme yöntemleri ve takip protokolündeki gelişmelerle birlikte izlem evre 1 NSGCT yönetiminde yer alan bir modalitedir. İzlem uygulanan hastaların % 14-28'inde orşiektomi sonrası ilk 2 yıl içerisinde relaps meydana gelir. 5 yıllık takipte kümülatif relaps riski ortalama % 30'dur. LVI yokluğunda bu risk % 17 iken; LVI varlığında risk % 42'ye çıkmaktadır. Relapsların % 92'si ise ilk 2 yılda olmaktadır (Groll 2007, Kollmannsberger 2015). Hastaların % 35'i relaps sırasında normal seviyede serum tümör belirteçlerine sahip olup nükslerin % 60'ı retroperitonda meydana gelir. Yakın takibe rağmen nüksü olan hastaların % 11'inde büyük hacimli metastaz söz konusudur (van den Belt-Dusebout 2007, Kollmannsberger 2015).

Genel olarak izlem, sıkı gözlem şartıyla uyumlu olan ve beklenen nüks oranına göre kurtarma tedavisi ihtiyacı hakkında bilgi sahibi olan LVI olmayan hastalara sunulabilecek bir hastalık yönetim seçeneğidir (Kollmannsberger 2010, Nichols 2013, Hamilton 2019).

2.3.8.1.3.2. Retroperitoneal Lenf Nodu Diseksiyonu (RPLND):

Klinik evre 1 NSGCT de RPLND uygulanabilir bir tedavi yöntemidir. RPLND sonrası genel relaps oranı % 14 olarak belirtilmiştir. RPLND sonrası patolojik evre 2 hastalığı olanlarda ise nüks oranı % 36 olarak belirtilmiştir (Donohue 1993).

Daha güncel bir seride ise RPLND uygulanmış klinik evre 1 hastaların % 18-30'unda retroperitoneal lenf nodu metastazı olduğu, yani patolojik evre 2 hastalık olduğu belirtilmiştir. Bu hasta popülasyonunda adjuvan kemoterapi uygulaması olmazsa aktif nodal tutulumu olan hastaların % 31'inde RPLND sonrası nüks gelişeceği belirtilmiştir (Heidenreich 2003, Nicolai 2010). LVI, embriyonal karsinomanın baskın patoloji olması, pT evresi ve tutulum olan lenf nodlarında ektranodal yayılım olmasının rekürrensi artıran risk faktörleri olduğu belirtilmiştir.

Ancak RPLND büyük damar yaralanması, viseral organ yaralanması, postoperatif dönemde ejekülatuar bozukluklar, erektil disfonksiyon gibi morbiditeleri olabilen bir cerrahidir. Morbiditeyi azaltmak için klinik evre 1 NSGCT'de sinir koruyucu RPLND uygulanması önerilmektedir. Ancak sinir koruyucu yaklaşımla yapılan cerrahide daha yüksek rekürrens oranları olabileceği için cerrahinin uzman bir merkezde deneyimli cerrahlar tarafından yapılması önerilmektedir (Heidenreich 2003, Albers 2008).

RPLND sonrası takip görüntüleme ihtiyacının azalması nedeniyle kemoterapi KT ve izleme göre daha az maliyetli ve daha kolay bir yöntemdir (Foster 1998). Ayrıca kemorefrakter malign tümörler için tedavi edici cerrahidir. Ancak KT'nin yüksek sağkalım oranları ve daha düşük relaps oranları nedeniyle evre 1 NSGCT'de RPLND'nin rolü azalmaktadır. Bu sebeple

günümüzde genellikle adjuvan kemoterapi için kontrendikasyonu olan hastalarda tercih edilmektedir.

2.3.8.1.3.3. Adjuvan Kemoterapi:

Adjuvan KT klinik evre 1 NSGCT'de 1 veya 2 kür Bleomisin, Etoposid, Cisplatin (BEP) verilerek uygulanabilir. 1996'da raporlanan bir prospektif çalışmada LVI mevcut olan yüksek riskli hastalara 2 kür olarak uygulanmış ve minimal uzun dönem yan etki ile % 2.7'lik relaps oranı bildirilmiştir (Cullen 1996). Ayrıca iki kür sisplatin bazlı adjuvan kemoterapinin doğurganlığı ve cinsel aktiviteyi olumsuz etkilemediği saptanmıştır (Böhlen 2001). Ancak 2 kür BEP KT'sinin sorgulanan yönü yan etkileridir. 2 kür BEP tedavisi alan 58 hastanın dahil edildiği çalışmada 116 kürün 9'unda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) skorlama sitemine göre 4.derece yan etki görülmüştür (Böhlen 1999).

Daha güncel çalışmalarda ise 1 kür adjuvan BEP kemoterapisinin %2-3 rekürrens oranlarını sağladığı belirtilmiştir. Kemoterapinin 2 kürden 1 küre indirilmesi daha düşük yan etkiye katkı sağlamaktadır. Bu çalışmalarda LVI olan hastalar için %3, LVI olmayan hastalar için %2'lik 5 yıllık relaps oranı gösterilmiş olup bu veriler nükslerin % 90'dan fazlasının adjuvan kemoterapi ile önlendiğini ve 3.3 yıldan sonra hiç relaps gözlenmediğini göstermektedir (Tandstad 2009, Tandstad 2014).

Ayrıca 1 kür BEP kemoterapisiyle RPLND karşılaştırıldığında 2 yıllık relapssız sağkalım % 99.5 e % 91 olarak kemoterapi lehine saptanmıştır (Albers 2008).

Tüm bu sebeplerle klinik evre 1 NSGCT'de 1 kür BEP, KT rejmi olarak önerilen güncel tedavi modalitesidir.

2.3.8.1.3.4. Risk Bazlı Tedavi:

Risk bazlı tedavi klinik evre 1 NSGCT'de hasta ile avantajlar ve dezavantajlar paylaşarak karar verilen alternatif bir tedavi yöntemidir. Bu evredeki hastalarda LVI mevcudiyeti relaps için en güçlü prediktif faktör olup tedavi tipi seçiminde en önemli kriterdir.

LVI pozitif olan komorbiditeleri olan ve kemoterapi ile ilgili endişeleri olan hastalar izleme alınabilir. LVI pozitif olan hastalarda % 42-50 arasında relaps riski olduğu için bu hastalara 1 kür adjuvan BEP kemoterapisi önerilebilir. Bu tedavi ile relaps oranı %2-3 'e düşer.

Sıkı takip için engelleri olan veya kemoterapi için kontrendikasyonu LVI pozitif olan hastalarda RPLND uygulanabilir ancak cerrahi sonrası lenf nodu tutulumu saptanan patolojik evre 2 hastalarda 3 kür BEP ihtiyacının olduğu ve RPLND sonrası takipte % 10 oranında sistemik relaps riski olduğu hasta ile paylaşılmalıdır.

2.3.8.2. METASTATİK GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLERİNİN YÖNETİMİ:

Metastatik GCT'lerin tedavi seçeneğine; primer tümörün histolojisine, IGCCCG prognostik grubuna, kötü prognostik gruptaki hastalarda ilk kür kemoterapi sonrası serum tümör belirteçlerinin yarınlama kinetiğine göre karar verilir.

2.3.8.2.1. Klinik Evre 1S Hastalarda Tedavi:

Klinik ve radyolojik olarak metastaz saptanmamasına karşın serum tümör belirteçleri orşiektomi sonrası düşmeyen veya yükselen hastalar evre 1S olarak sınıflandırılırlar.

Orşiektomiye takiben APF veya bHCG beklenen sürede normale dönmezse karşı testis USG ile değerlendirilmelidir. Kontralateral tümör saptanmazsa son görüntüleme 3 haftadan eskiyse metastaz taraması için ekstra-abdominal alanları da içeren görüntüleme yapılmalıdır (Krege 2008).

15 hastanın değerlendirildiği çalışmada RPLND yapılan 11 hastanın tamamında progresyon ve serum tümör belirteci seviyesinin yüksekliğinin devam etmesi, KT alan 4 hastanın 1'inde RPLND yapılması gerektiği için tedavide KT ilk seçenektir (Davis 1994). 3 kür BEP veya 4 kür Etoposid, Cisplatin (EP) KT'si önerilen tedavidir. Bu tedavi ile 5 yılda % 87, 10 yılda % 85'lik hastalıksız sağ kalım sağlanmaktadır (Aparicio 2019).

2.3.8.2.2. Evre 2A/2B Seminom:

2 cm'den küçük retroperitoneal lenf nodları olan ve serum tümör belirteçleri normal olan hastalar metastatik olmayabileceği için tekrar evreleme için görüntüleme yapılması şartıyla 6-8 hafta takip edilebilir. Bu hasta grubunda biyopsi, lenf nodu boyut veya sayısının artması veya serum tümör belirteci artışı gibi metastazı destekleyen kesin bulgular gelişmedikçe tedaviye başlanmamalıdır (Krege 2008, Aparicio 2019).

Evre 2A/2B seminomun standart tedavisi paraaortik ve ipsilateral iliak lenf nodlarına sırasıyla 30 ve 36 Gy radyoterapi olup bu tedavi ile 5 yıllık relapssız sağ kalım oranları % 92 ve % 90'dır (Classen 2003, Chung 2004). Ancak bu tedavi ile ilişkili en önemli kaygılar uzun dönemde artmış kardiyovasküler olay riski ve sekonder malignitelerdir. 19 yıllık takip süresi olan bir çalışmada radyoterapi sonrası tüm sebeplere bağlı mortalitenin seminomdan 7 kat yüksek olduğu raporlanmıştır (Hallemeier 2013).

Bu sebeplerle günümüzde 3 kür BEP veya Bleomisin kontrendikasyonu olan ve/veya yaşlı hastalarda 4 kür EP radyoterapiye tercih edilen alternatif tedavi metodudur (Culine 2007). Radyoterapi ve kemoterapiyi karşılaştıran randomize çalışma yoktur. Ancak bir metaanalizde RT ve KT'nin her iki evrede de benzer etkinlikte olduğu, akut toksisitenin genellikle KT'yi

takiben, barsak toksisitesi ve sekonder maligniteler gibi uzun dönem yan etkilerince genellikle ışınlanmış alanlarda RT'yi takiben görüldüğü belirtilmiştir (Giannatempo 2015). Bu sebeple günümüzde RT'nin KT için kontrendike durumu olan, sistemik tedaviyi tolere edemeyecek olan yaşlı hasta popülasyonuna uygulanabileceği önerilmektedir.

2.3.8.2.3. Evre 2A/2B Non Seminom:

Evre 2 NSGCT'de tedavi seçimi serum tümör belirteci seviyesine göre RPLND ve/veya KT'dir. Klinik evre 2A NSGCT'de serum tümör belirteçleri normal ise uzman merkezde deneyimli cerrah tarafından yapılan sinir koruyucu RPLND önerilen başlangıç tedavisidir (Baniel 1995, Stephenson 2007). 2 cm'den küçük, non nodüler şekilli lenf nodu olan serum tümör belirteçleri normal seviyedeki hastalarda orşiektomiden 6 hafta sonra yeniden görüntüleme ile değerlendirme şartıyla izlem uygulanabilir. Lezyon boyutu ilerleyecek olursa hasta evre 2 olarak kabul edilmeli ve serum tümör belirteci seviyesine göre 3 kür BEP KT'si veya RPLND ile tedavi edilmelidir.

Klinik evre 2 olup serum tümör belirteci seviyesi normal olduğu için RPLND uygulanan hastalarda hastalığın patolojik evre 1 olduğu saptandığında ek tedavi ihtiyacı yoktur. Patolojik evre 2 hastalığı olanlarda bile ek adjuvan KT uygulanmaksızın hastaların % 81'inde kür sağlanmış olur (Douglawi 2020). Ancak retroperitonda veya viseral organlarda nüks tek başına RPLND ile tedavi edilenlerin % 30'unda ortaya çıkar ve risk grubuna göre KT gerekir. Patolojik evre 2 hastalıkta nüks riskini azaltmak için 2 kür adjuvan BEP KT'si uygulanabilir. Böylelikle kür oranı % 98'e kadar yükseltilebilir (Horwich 1994, Donohue 1995).

Serum tümör belirteci seviyesi yüksek olan klinik evre 2 NSGCT'de ise standart tedavi 3 kür BEP KT'sidir.

Tanıdan en az 2 yıl sonra belirteçler negatifken evre 2A/2B nüksü tespit edildiğinde tedaviye başlamadan önce GCT nüksü tanısını doğrulamak için BT veya USG kılavuzluğunda biyopsi önerilir. Biyopsinin uygulanamadığı durumlarda RPLND tanı ve tedavi için uygulanabilir.

2.3.8.2.4. Evre 2C ve Evre 3 Hastalık:

2.3.8.2.4.1. İyi prognostik grup seminom:

Bu grupta standart tedavi 3 kür BEP veya 4 kür EP KT'sidir (Fizazi 2014). Bleomisin kontrendikasyonu olan durumlarda 4 kür EP verilmelidir. 4 kür EP ile 3 yıllık progresyonsuz sağ kalımın % 93 olduğu bildirilmiştir (Fizazi 2014).

2.3.8.2.4.2. Intermediate prognostik grup seminom:

Orta riskli seminomda önerilen tedavi 4 kür BEP veya 4 kür etoposid, cisplatin, ifosfamid (VIP) KT'sidir. 4 kür VIP'in 3 yıllık progresyonsuz sağ kalım oranı % 83'tür (Fizazi 2014).

2.3.8.2.4.3. İyi prognostik grup NSGCT:

Bu grupta birincil tedavi seçeneği 3 kür BEP KT'sidir. Bleomisin için kontrendikasyonu olan hastalara 4 kür EP KT'si uygulanabilir (de Wit 2001). 4 kür EP uygulanan hastalarda kemoterapiye bağlı yan etkiler azalabilir ancak bu rejimle KT sonrası RPLND yapılan hasta grubunda aktif kanser insidansı 3 kür BEP uygulanan hastalarda % 8 iken; 4 kür EP uygulanan hastalarda % 32 olarak saptanmıştır (Cary 2015). Bu sebeple tedavi seçiminde hastanın komorbiditeleri ve genel durumu göz önüne alınmalıdır.

İlaç dozları ele alınacak olursa; Cisplatin'in 20 mg/m² dozunda 1-5 günlük periyotlarla, Etoposid'in 100 mg/m² dozunda 1-5 günlük periyotlarla, Bleomisin'in ise 30 mg dozda 1,8 ve 15. Günlerde uygulanması önerilmektedir. Tedavi 21 günlük döngülerle verilmelidir. Granülositopeni (<1000/mm³) veya trombositopeni (<100.000/IU) olduğunda tedavi ertelenebilir.

2.3.8.2.4.4. Intermediate prognostik grup NSGCT:

Bu grupta 4 kür BEP KT'si standart tedavidir (deWit 1998). Bu tedavi ile 5 yıllık sağkalım % 90'a yakındır (Olofsson 2011, Seidel 2018).

2.3.8.2.4.5. Kötü prognostik grup NSGCT:

Bu grupta 4 kür BEP KT'si standart tedavidir. Bu tedavi ile 5 yıllık progresyonsuz sağkalım % 67'dir (Gillesen 2019). 4 kür Cisplatin, Etoposid, Ifosfamid (PEİ)'de benzer etkinliğe sahiptir ancak myelotoksisite daha fazladır (Nichols 1998). Yaygın pulmoner infiltrasyonu olan hastalarda Bleomisin'in ilk kür kemoterapiden çıkarılmasının akut akciğer komplikasyonlarına bağlı mortaliteyi azalttığı belirtilmektedir (Gillesen 2010).

2.3.8.3. KEMOTERAPİ SONRASI DEĞERLENDİRME:

2.3.8.3.1 Tedavi Değerlendirilmesi:

Hastanın evresine göre yukarıda bahsedilen indüksiyon tedavileri uygulandıktan sonra serum tümör belirteçleri ve görüntülemelerle tedavi değerlendirilmesi yapılmalıdır. Belirteç düşüşüyle birlikte radyolojik olarak stabil tümörlerde indüksiyon kemoterapisi tamamlanmalıdır (Gerl 1993, Murphy 1994). Belirtecın düşmesine rağmen radyolojik olarak progresyon söz konusuysa indüksiyon tedavisi tamamlanarak metastazların erken

rezeksiyonu planlanmalıdır. İndüksiyonu takiben ilk progresyonda hastalar deneysel ilaç denemelerine yönlendirilmelidir (de Wit 1998).

2.3.8.3.2 Rezidü Tümör Rezeksiyonu:

2.3.8.3.2.1. Seminomlar:

Tedavi sonrası rezidü seminomlar için KT'den 8 hafta sonra tarama görüntülemesi yapılmalı ve serum tümör belirteçleri kontrol edilmelidir. AFP yüksekliği durumunda yükselmeye sebep olabilecek karaciğer toksisitesi dışlanırsa kitle NSGCT gibi düşünülmeli ve cerrahi rezeksiyon düşünülmelidir.

3 cm'den büyük rezidü kitlesi olan ve seminom düşünülen vakalarda FDG-PET çekilmeli ve tümörün canlılığı hakkında fikir sahibi olunmalıdır. 3 cm'den küçük kitlesi olanlarda FDG-PET opsiyoneldir (Bachner 2012).

3 cm'den büyük kitlelerde FDG-PET'in pozitif prediktif değeri % 11-38 arasında olduğu için KT sonrası stabil kalan kitlelerde 6 hafta sonra tekrar FDG-PET çekilebilir (Cathomas 2018). Radyolojik olarak progresyon gösteren hastalarda kurtarma KT veya RT'si; KT-RT için kontrendikasyonu olanlarda cerrahi tedavi seçeneği sunulmalıdır.

İndüksiyon KT'sinden sonra bHCG yüksekliği devam eden hastalarda salvage KT uygulanmalıdır. bHCG yükselmeksizin progresyonu olan hastalarda ise salvage KT'si verilmeden önce perkütan veya açık biyopsi ile histoloji doğrulanmalıdır. RPLND kararı alındığında KT sonrası yoğun fibrozis olabileceği akılda tutulmalıdır (Mosharafa 2003).

2.3.8.3.2.2. Non-Seminomlar:

İndüksiyon BEP KT'sini takiben rezidüel kitlelerin % 6-10'u aktif tümör, % 50'si postpubertal teratom ve % 40'ı nekrotik doku içerir (Carver 2007). Bu hastalarda FDG-PET endike değildir ve KT sonrası görüntülemelerde radyolojik remisyon sağlandığında RPLND endikasyonu yoktur (de Wit 2008, Kollmannsberger 2010).

KT 'yi takiben yapılan görüntülemelerde çapı 1 cm'den büyük rezidü kitlesi olan serum tümör belirteçleri yükselmeyen tüm hastalara KT'den 6-8 hafta sonra RPLND yapılmalıdır (Hendry 2002, Sheinfeld 2002, Akdogan 2017).

Çapı 1 cm'den küçük rezidü kitlelerde ise belirsizlik mevcuttur. RPLND endike olduğu gibi, % 6-9 arasında değişen rekürrens riskiyle birlikte izlem alternatif tedavi seçeneğidir (Erhlich 2010, Kollmannsberger 2010).

2.3.8.4. RELAPS TEDAVİSİ:

Evre 1 tümörlerde izlem sırasında veya Evre 2 tümörlerde RPLND sonrasında KT almayan hastalarda relapslar IGCCCG risk grubuna göre tedavi edilir.

KT sonrası relapslar genellikle ilk 2 yıl içerisinde meydana gelmekte ve salvage KT ile tedavi edilebilmektedir. 2 yıldan daha uzun sürede meydana gelen relapslarsa geç relaps olup seminomlarda geç relaps tedavisi cerrahidir. Çünkü relapsların neredeyse tamamı canlı tümör dokusu içerir. NSGCT’de de çıkarılabilen geç relapsların cerrahi olarak eksize edilmesi gerekir. Bu hastalarda serum tümör belirteçlerinden bağımsız olarak komplet rezeksiyon ön planda düşünülmelidir (George 2003). Komplet rezeksiyon mümkün değilse kurtarma KT’si uygulanabilir.

Salvage KT’sini takiben yanıtız veya progresif hale gelen hastalarda çaresizlik cerrahisi yapılabilir. Rezeksiyon sağlanan hastalarda ciddi sağkalım avantajı yakalanabilir (Beck 2005).

2.3.9. TEDAVİ SONRASI TAKİP:

GCT hastalarının tedavi sonrası takip protokolleri hastalığın evresine, histopatolojisine ve uygulanan tedaviye göre farklılıklar gösterir (Laguna 2019, Gillgan 2020). Küratif tedaviler sonrası rekürrenslerin büyük çoğunluğu ilk 2 yıl içerisinde ortaya çıktığı için bu süre zarfında daha sıkı takip şartıyla takip şemaları 5 yıla kadar hatta yaşam boyu uzatılabilmektedir.

Takipler öykü, fizik muayene, serum tümör belirteçleri, akciğer grafisi, BT veya MR ile yapılmaktadır.

Tablo 6: İzlem veya adjuvan tedavi (RT- Karboplatin KT) Sonrası Evre 1 Seminomda Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu’na Göre)

İşlem	1. yıl	2.yıl	3.yıl	4 ve 5. yıl	5. yıldan sonra
Fizik Muayene	2	2	2	1	Tedavi planına göre takip protokolü ayarlanır
Serum Tümör Belirteçleri	2	2	2	1	
Akciğer Grafisi	-	-	-	-	
Abdominopelvik BT/MR	2	2	36. ayda 1 kez	60. ayda 1 kez	

Tablo 7: İzlem Sırasında Evre 1 Non-Seminomda Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu'na Göre)

İşlem	1. yıl	2.yıl	3.yıl	4 ve 5. yıl	5. yıldan sonra
Fizik Muayene	4	4	2	1-2	Tedavi planına göre takip protokolü ayarlanır
Serum Tümör Belirteçleri	4	4	2	1-2	
Akciğer Grafisi	2	2	1, LVI+ ise	1, LVI+ ise	
Abdominopelvik BT/MR	2	24. ayda 1 kez	36. ayda 1 kez	60. ayda 1 kez	

Tablo 8: İlerlemiş Hastalıkta Adjuvan Tedavi ya da Tam Remisyon Sonrası Kötü Prognoz ve Tam Remisyon Olmayan Hastalar Hariç Takip Programı (EAU 2021 Kılavuzu'na Göre)

İşlem	1. yıl	2.yıl	3.yıl	4 ve 5. yıl	5. yıldan sonra
Fizik Muayene	4	4	2	2	Tedavi planına göre takip protokolü ayarlanır
Serum Tümör Belirteçleri	4	4	2	2	
Akciğer Grafisi	1-2	1	1	1	
Abdominopelvik BT/MR	1-2	24. ayda 1 kez	36. ayda 1 kez	60. ayda 1 kez	
Toraks BT	Akciğer metastazı varsa Abdominopelvik BT/MR ile aynı zamanda				

3. MATERYAL-METOD

3.1. Hastalar:

Ocak 2019-Mayıs 2021 tarihleri arasında kliniğimizde yapılan tetkiklerde testis kanseri ön tanısı olan, 18 yaş üstü hastalar çalışmaya dahil edildi. Bütün hastalardan bilgilendirilmiş onam alındı.

Kontrol grubuna GCT hastalarıyla benzer yaşta 16'sı hidrosel, varikosel gibi benign skrotal patolojileri olan, bilgilendirilmiş toplam 40 kişi dahil edildi.

18 yaş altı, herhangi bir malignite ve kemoterapi almış olma öyküsü olan, onam formu imzalamayan, tetkiklerinde testiküler kitlesi olup tetkiklerde benign (kist, abse, vb.) patoloji saptanan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların fizik muayenesinde ele gelen testiküler kitle saptandı ve preoperatif testiküler USG'lerinde kitle varlığı gösterildi. Hastalardan preoperatif rutin tetkikler ve AFP, bHCG, LDH alındı. Klinik evreleme amaçlı kontrastlı toraks ve abdomen BT'leri çekildi. Kontrast alerjisi, kreatinin yüksekliği gibi durumlarda klinik evreleme için MR çekildi.

Muayene ve tetkiklerinde testis tümörü saptanıp radikal ingüinal orşiektomi yapılmasına karar verilen bilgilendirilmiş 64 erkek hastanın serum örnekleri radikal ingüinal orşiektomi öncesinde miRNA-371a-3p düzeylerinin ölçülmesi için alındı. Orşiektomi sonrası 2. haftada 60 hastanın serum örnekleri miRNA-371a-3p ve AFP, bHCG, LDH düzeylerinin ölçülmesi için alındı.

Patoloji ve görüntüleme tetkiklerine göre hastaların klinik evrelemesi yapıldı. Klinik evre 1 GCT hastalarında nüksü artıran patolojik risk faktörlerine göre de sınıflandırıldı. Metastatik hastalar ise IGCCCG sınıflamasına göre prognostik gruplara ayrıldı.

GCT hastalarında tanı anında miRNA-371a-3p sensitivite ve spesifitesi hesaplandı. miRNA-371a-3p ve AFP, bHCG, LDH düzeyleri ile klinik evre ilişkisi, klinik evre 1 hastalarda patolojik risk faktörleri; metastatik hastalarda ise prognostik gruplarla olan ilişki istatistiksel olarak değerlendirildi. Postoperatif 2. haftada preoperatif döneme göre miRNA-371a-3p ekspresyonun kaç kat azaldığı, AFP, bHCG, LDH düşüşleri, klinik evre 1 hastalarda seminom ve non seminom hastalarında miRNA-371a-3p ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı.

3.2. Laboratuvar Metodu:

Serum numunesi orşiektomiden önce ve orşiektomi sonrası 2. hafta Cubital venden alındı. Numuneler çalışmanın son aşamasına kadar – 80° C’de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Total RNA izolasyonu; 100 µl, koagüle olmamış ve EDTA’lı tüpte muhafaza edilen serum örneğinden Total RNA Purification Kit (Norgen Biotek Corp., Thorold, Canada) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre yapıldı.

Reverse transcription reaksiyonu ile complementary DNA (cDNA) sentezi; 1 µl total RNA’dan 9 µl miR-cDNA Synthesis Kit (A.B.T.™ Laboratory Industry, Ankara, Turkey) kullanılarak yapıldı. Son hacmi 10 µl olan reaksiyon AGS Thermal Cycler’da (AGS MedTech, Hangzhou, China) 25 °C’de 10 dk, 37 °C’de 20 dk, 85 °C’de 5 dk olacak şekilde inkübe edildi. Preamplifikasyon; cDNA ve miR-371a-3p spesifik miR-qPCR Master Mix (A.B.T.™ Laboratory Industry, Ankara, Turkey) kullanılarak yapıldı.

Real time PCR; 95 °C’de 10 dk ilk denatürasyon, 95 °C’de 10 sn 40 döngülük denatürasyon, 60 °C’de 25 sn 40 döngülük tespit koşullarında LightCycler® 480 Real-Time PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

Serum miRNA-371a-3p rölatif seviyeleri ölçümü için internal kontrolde RNU6 snRNA kullanıldı. Rölatif ekspresyon seviyesi 2-ΔΔCT metodu kullanılarak hesaplandı (Livak 2001).

3.3. İstatistiksel Analiz:

Hastaların demografik verilerinin tanımlanmasında Descriptive analiz kullanıldı. İki bağımsız grup arasındaki değişkenlerin analizinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tekrarlayan ölçümlerin analizi için Wilcoxon signed rank test kullanıldı. 2’den çok grupta nicel verilerin karşılaştırılması için ANOVA testi uygulandı. Nicel verilerin korelasyon analizi için Pearson korelasyon analizi uygulandı. P değeri <0.05 anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz SPSS, v.23.0 statistical software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Preoperatif dönemde testis tümörü saptanan 64 hastanın 60'ında Germ hücreli testis tümörü (GCT), 4'ünde GCT dışı testis tümörü tespit edildi. GCT hastalarının patolojileri; 32 hastada seminom, 28 hastada non seminomatöz GCT idi. Non seminomu olan hastaların 2'sinin patolojisi teratomdu. GCT dışı olanların 1'inde leiomyom, 3'ünde benign leydig hücreli tümör saptandı. GCT hastalarının yaş ortalaması 35 (21-56) yıl iken; kontrol grubunun yaş ortalaması 37.8 (19-56) yıl olup gruplar arasında anlamlı fark yoktu (p:0.16) **(Tablo 9)**.

Klinik evre 1 olan hastaların 15'inde seminom, 12'sinde nonseminom mevcuttu. Seminom hastalarının ortalama tümör boyutu 46.6 (18-86) mm iken; 5 hastada rete testis invazyonu saptandı. Non-seminom hastalarının ortalama tümör boyutu 42.4 (17-65) mm iken; 6 hastada lenfovasküler invazyon saptandı.

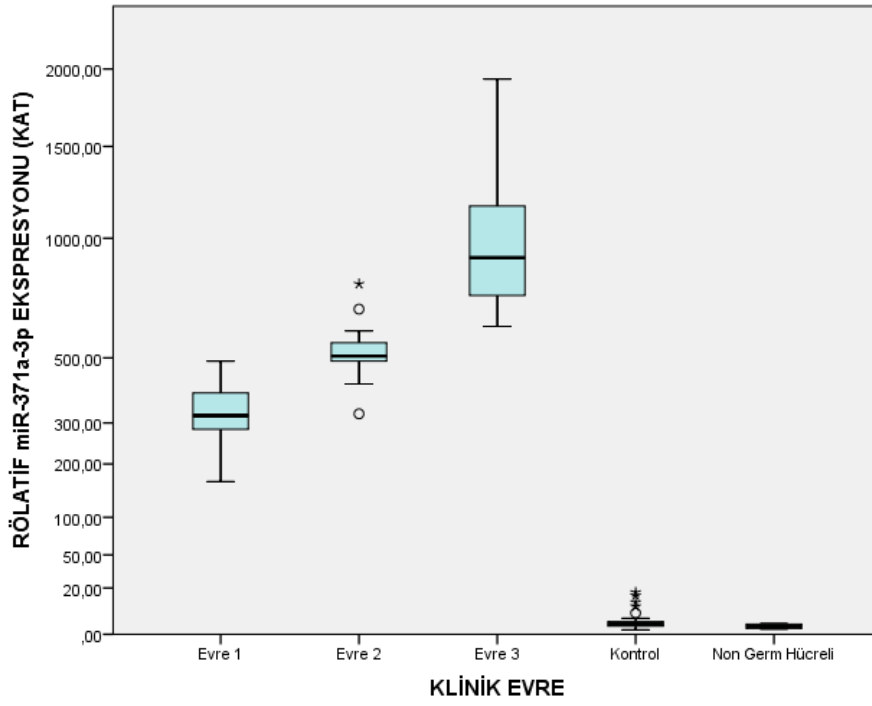
Klinik evre 2 olan hastaların 12'sinde seminom, 5'inde nonseminom mevcuttu. Bu grupta ortalama primer tümör boyutu 53.3 (35-90) mm idi.

Klinik evre 3 hastaların 5'inde seminom, 11'inde nonseminom mevcuttu. IGCCCG prognostik grularına göre iyi gruptaki 3 hastada akciğer, orta gruptaki 3 hastada akciğer, kötü gruptaki 6 hastada akciğer, 6 hastada karaciğer, 1 hastada beyin, 2 hastada kemik ve yumuşak doku metastazı mevcuttu **(Tablo 9)**.

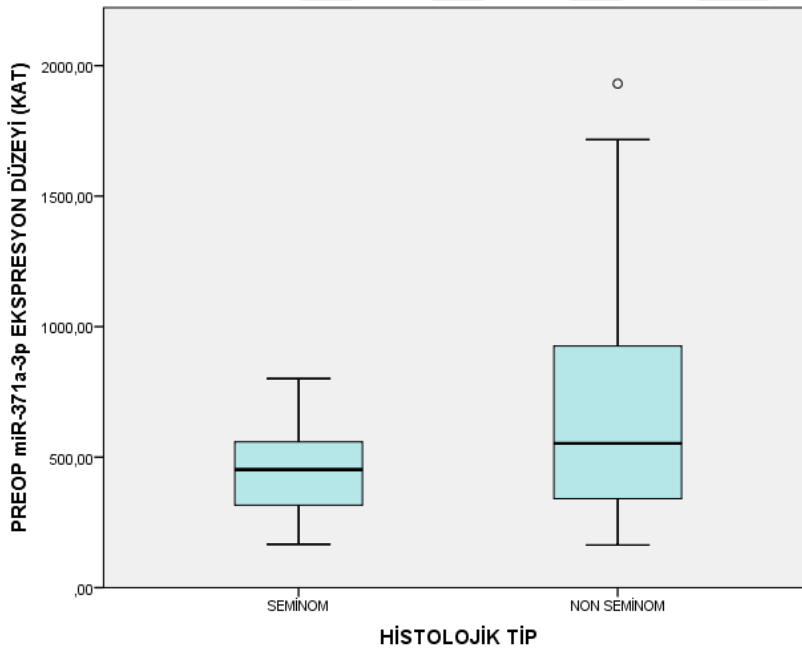
Tablo 9: Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Demografik, Patolojik, Klinik Evre ve IGCCCG Prognostik Grup Verileri

	Germ Hücreli Tümör Grubu			Kontrol Grubu	Germ Dışı Tümör Grubu	Hücre Tümör	p
	<u>Klinik Evre 1</u>	<u>Klinik Evre 2</u>	<u>Klinik Evre 3</u>				
Yaş (yıl)	31.3 (21-50)	38.4 (24-52)	37.1 (24-56)	37.8 (19-56)			(0.16)
Germ Hücre Dışı Tümör Sayısı ve Patolojisi (n)					3 Leydig Hücreli Tümör, 1 Leiomyom		
Seminom hastaları (n,%)	15 (46.8)	12 (37.5)	5 (15.6)				
Non-Seminom Hastaları (n,%)	12 (42.8)	5 (17.8)	11 (39.3)				
Ortalama Primer Tümör Çapı (mm)	44.9 (17-86)	53.3 (35-90)	60.6 (15-120)				
IGCCCG Prognozu (n)							
<i>İyi</i>	4						
<i>Orta</i>	4						
<i>Kötü</i>	8						
Uzak Metastaz	12 hastada akciğer, 6 hastada karaciğer, 1 hastada beyin, 2 hastada kemik ve yumuşak doku						
Lenf Nodu Tutulumu Olan Hastalar (n)	13						

miR-371a-3p'nin median ekspresyonu GCT'de tüm klinik evrelerde kontrol grubuna kıyasla yüksekti ($p < 0.001$). 2 teratom hastasında ve 4 GCT olmayan hastada miR-371a-3p ekspresyonu saptanmadı. miR-371a-3p kontrol grubuna göre klinik evre 1 hastalıkta ortalama 38, klinik evre 2 hastalıkta ortalama 57, klinik evre 3 hastalıkta ortalama 86 kat daha fazla eksprese edilmekteydi (**Şekil 3**). Tüm evrelerdeki hastalar göz önünde bulundurulduğunda tanı anında ortalama miR-371a-3p ekspresyon düzeyi non seminom hastalarında seminom hastalarına göre ortalama 1.5 kat daha yüksekti ($p: 0.008$) (**Şekil 4**).

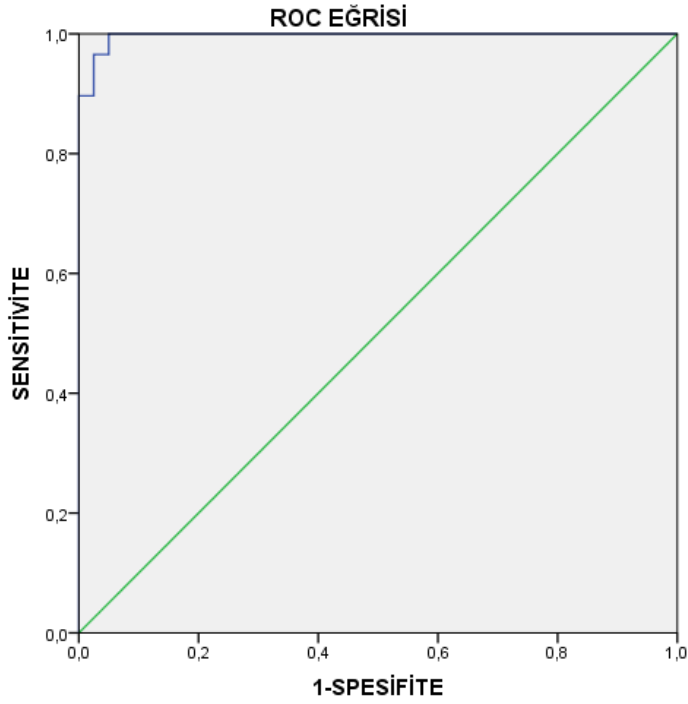


Şekil 3: Tanı Anında miR-371a-3p'in Kontrol Grubu, Non Germ Hücreli Tümör ve GCT'deki Seviyesi



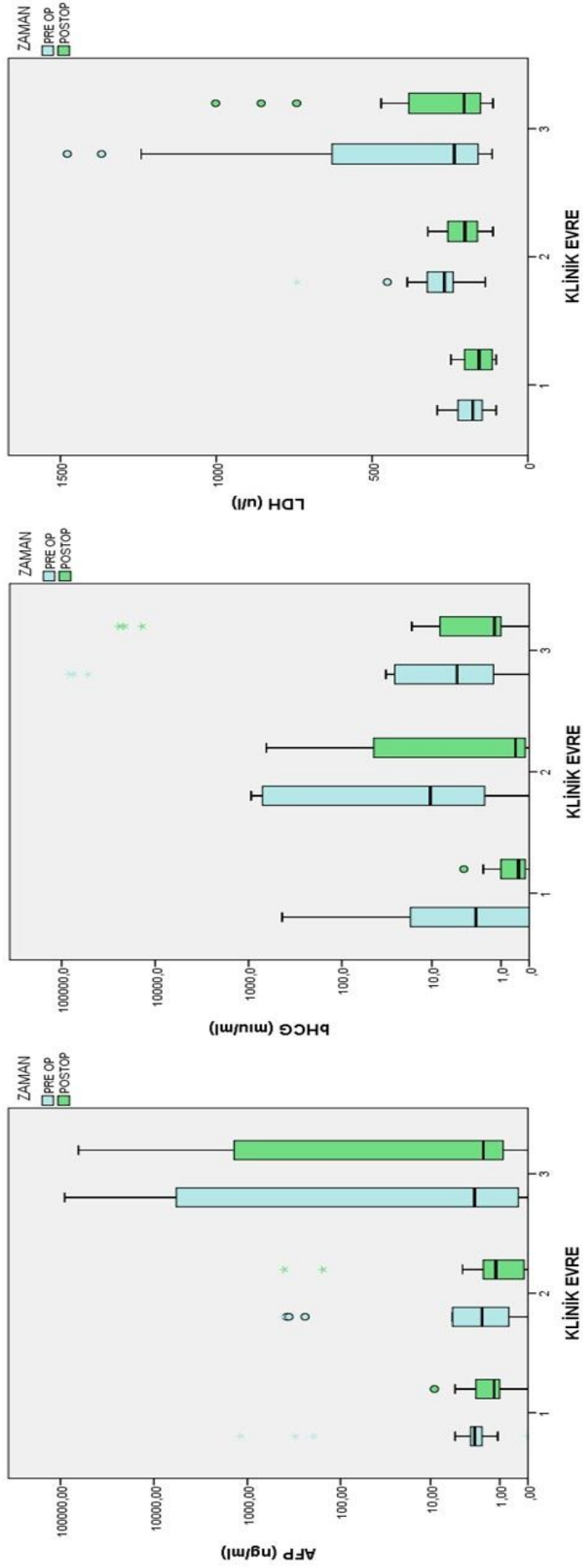
Şekil 4: Tüm Germ Hücreli Tümör Hastalarında Seminom-Non Seminom Histolojik Tipleri Arasında miR-371a-3p Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılması

Kontrol grubu ile kıyaslandığında GCT'de miR-371a-3p'nin sensitivitesi % 98.3 spesifitesi % 95 olarak saptandı (AUC:0.997 (% 95 CI 99-100) $p<0.001$) (**Şekil 5**).



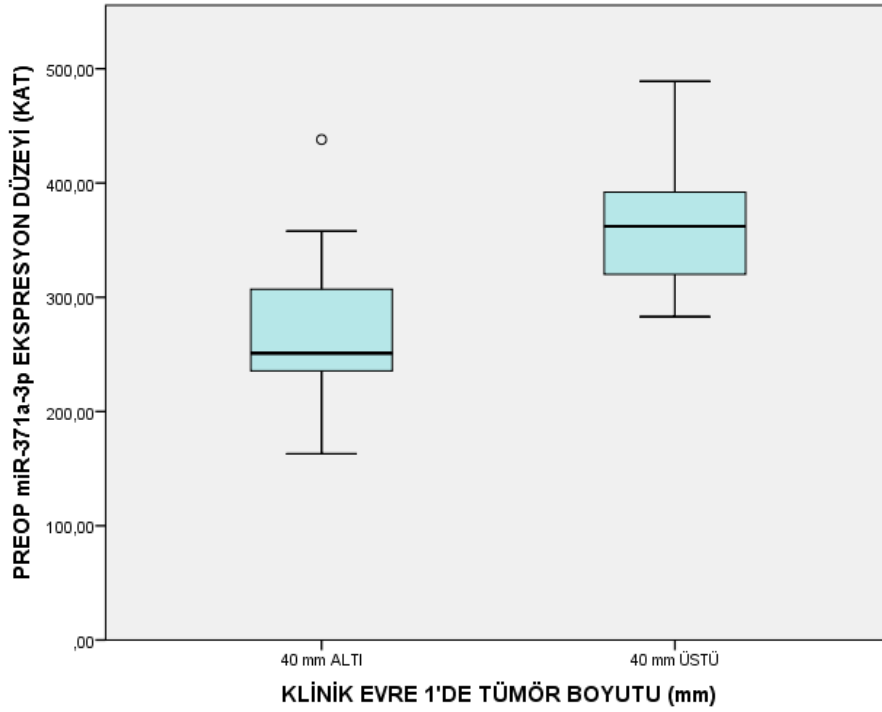
Şekil 5: Kontrol Grubuyla Kıyaslandığında miR-371a-3p ROC Eğrisi

GCT hastalarının % 58.3'ünde AFP veya bHCG sentezi mevcuttu. AFP'nin sensitivitesi % 48, spesifitesi % 25 olarak saptandı (AUC:0.64 (% 95 CI 43-77) ($p:0.006$). bHCG'nin sensitivitesi % 56, spesifitesi % 46 olarak saptandı (AUC:0.69 (% 95 CI 65-84) ($p<0.001$). LDH'nin sensitivitesi % 36, spesifitesi % 32 olarak saptandı (AUC:0.61 (% 95 CI 54-84) $p<0.001$). Preoperatif dönemde 21 hastada AFP, 17 hastada bHCG, 12 hastada LDH artışı mevcuttu. (Ortalama belirteç düzeyleri **Şekil 6'da** görülmektedir.)



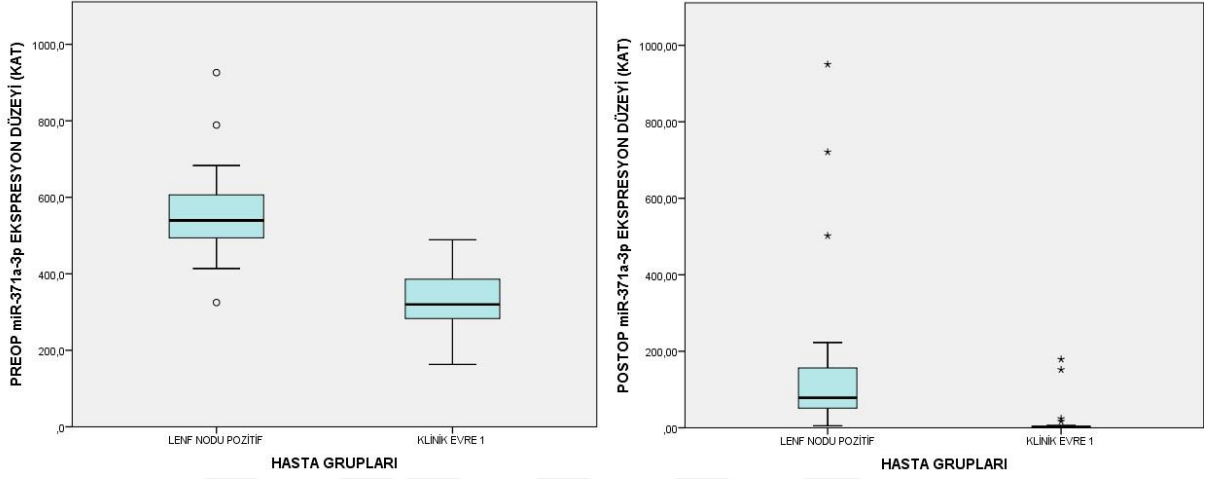
Şekil 6: Preoperatif Dönemde Germ Hücreli Tümör Grubunda Ortalama AFP, bHCG, LDH Düzeyleri

Klinik evre 1 hastalarda seminom ve non seminomda miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri tümör boyutu ile koreleydi ($r=0.70$, $p<0.001$). 40 mm üstündeki tümörlerde 1.33 kat daha fazla miR-371a-3p ekspresyonu saptandı ($p:0.003$) (**Şekil 7**). Evre 1 seminom hastalarında 15 hastanın 5'inde rete testis invazyonu saptandı. Rete testis invazyonu olan hastalarla olmayanlar karşılaştırıldığında miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri arasında fark izlenmedi ($p:0.11$) Evre 1 non seminom hastalarında 12 hastanın 6'sında lenfovasküler invazyon saptandı. Lenfovasküler invazyonu olanlar ile olmayanlar karşılaştırıldığında ise lenfovasküler invazyonla belirtecin ekspresyon seviyeleri arasında miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri arasında fark izlenmedi ($p:0.54$).



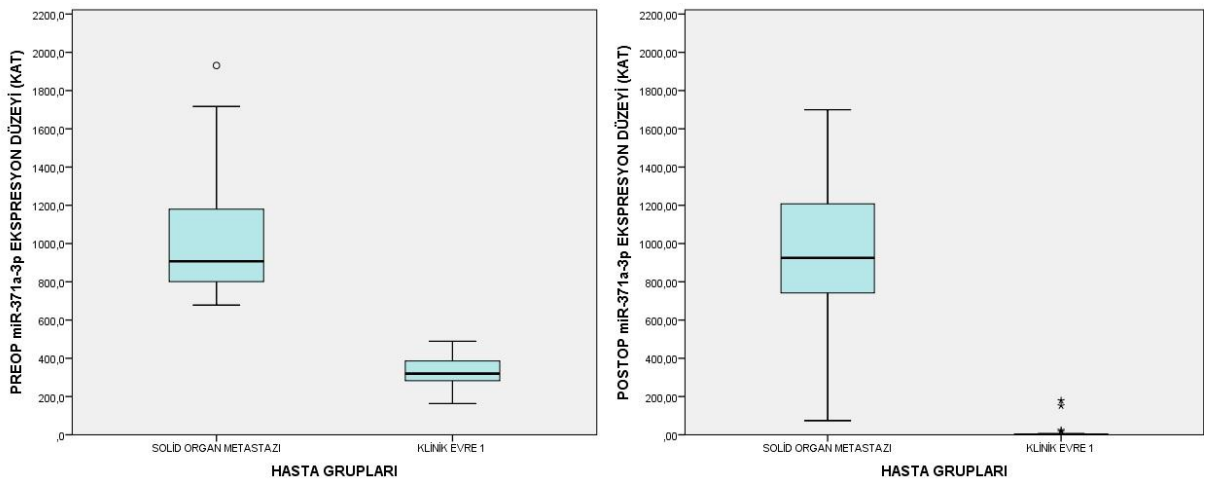
Şekil 7: Klinik Evre 1'de Tümör Boyutu miR-371a-3p Ekspresyon Düzeyi İlişkisi

Lenf nodu metastazı olan 20 hastanın tanı anında ortalama miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri klinik evre 1 hastalarından ortalama 1.7 kat daha yüksekti ($p<0.001$). Postoperatif 2. haftada ise belirteç düzeyi 11 kat daha yüksekti ($p:0.003$) (**Şekil 8**).



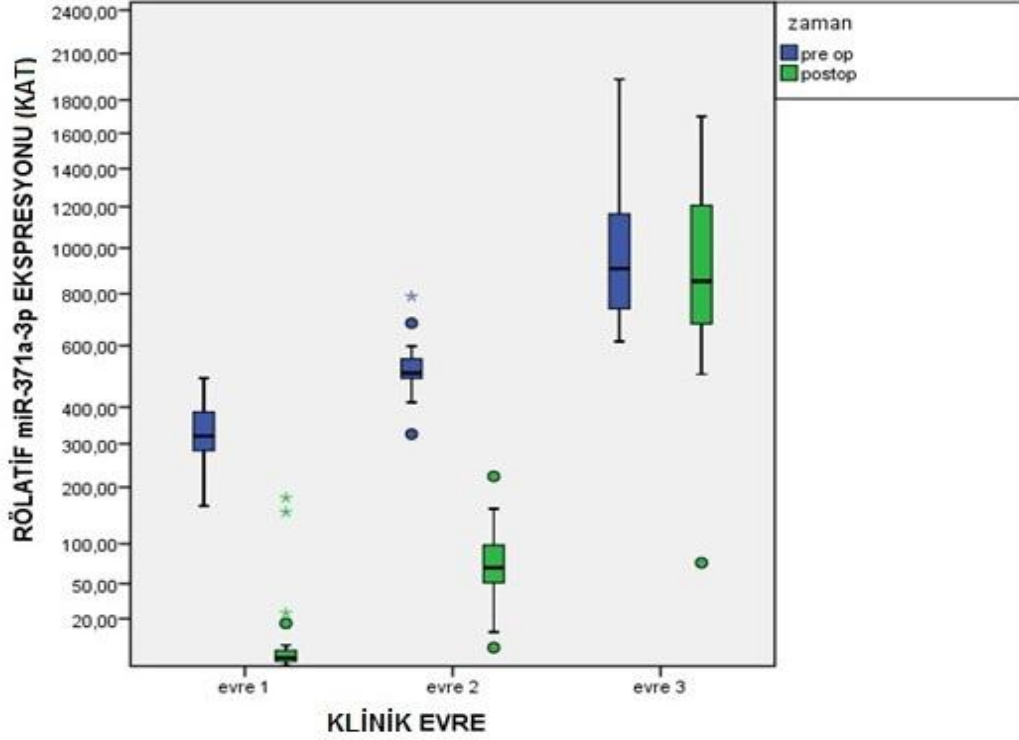
Şekil 8: Lenf Nodu Metastazı Olan Hastalarla Klinik Evre 1 Hastaların Preoperatif ve Postoperatif 2. hafta miR-371a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Solid organ metastazı olan 13 hastanın preoperatif ortalama miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri klinik evre 1 hastalarından ortalama 3.35 kat daha yüksekti ($p<0.001$) Postoperatif 2. haftada ise belirteç düzeyi 58 kat daha yüksekti ($p<0.001$) (**Şekil 9**).



Şekil 9: Metastazı Olan Hastalarla Klinik Evre 1 Hastaların Preoperatif ve Postoperatif 2. hafta miR-371a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

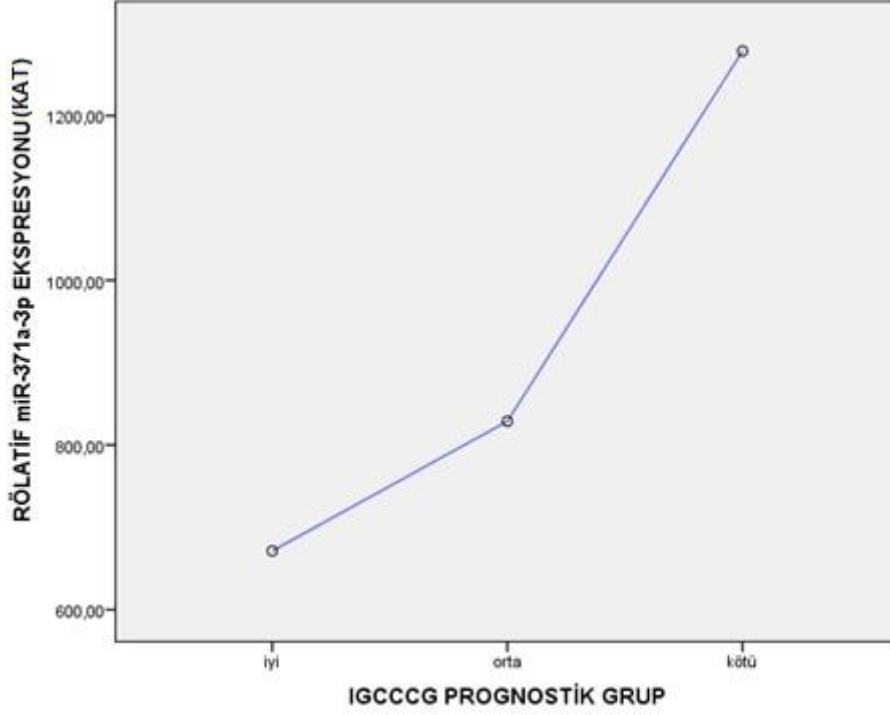
Cerrahi öncesi miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri klinik evre ile ilişkiliydi (Evre 1 ve 2 arasında $p:0.01$, evre 1 ve 3 arasında $p<0.001$) miR-371a-3p ekspresyon seviyelerinde cerrahi sonrası 2. haftada belirgin düşüş mevcuttu. Postoperatif 2. haftada miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri evre 1’de ortalama 36 kat, evre 2’de ortalama 8 kat, evre 3’te ortalama 1.2 kat düştü (Evre 1’de $p<0.001$, evre 2’de $p<0.001$, evre 3’te $p:0.03$) (**Şekil 10**).



Şekil 10: Çeşitli Evrelerde Preoperatif ve Postoperatif 2. Haftada miR-371a-3p Seviyeleri

Postoperatif 2. haftada 13 (% 61) hastada AFP, 11 (% 64.7) hastada bHCG, 8 (% 66.6) hastada LDH değerlerinde düşüş mevcuttu.

Metastatik hasta grubunda miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri IGCCCG kötü prognostik grup hastaları ile korale idi ($r=0.72$ $p:0.002$) (**Şekil 11**). Kötü progostik grupta ortalama miR-371a-3p ekspresyon düzeyleri orta prognostik gruptan 1.5, iyi prognostik gruptan 1.9 kat daha yüksekti ($p:0.006$).



Şekil 11: Metastatik Hasta Grubunda miR-371a-3p IGCCCG Prognostik Grup İlişkisi

5. TARTIŞMA

Çalışmamız miR-371a-3p'nin GCT'de tanı anında yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğiyle ilgili önemli bulgular içermektedir. Bu bulgular; miR-371a-3p'nin tanı anında sensitivitesi ve spesifitesi AFP, bHCG ve LDH'tan yüksektir. Belirteç seminom ve nonseminomda eksprese edilirken; GCT dışı testis tümörlerinde ve teratomda eksprese edilmemektedir. Ayrıca belirtecin ekspresyon seviyeleri hastalığın klinik evresi, primer tümör boyutu ve IGCCCG kötü prognostik grupla ve metastazla ilişkilidir. Radikal orşiektomi sonrası 2. hafta kontrol miR-371a-3p ekspresyon seviyesi klinik evre 1'de evre 2 ve 3'e göre daha fazla düşmektedir. Bu bulgulara göre GCT tanı, klinik evreleme ve takibinde miR-371a-3p ekspresyonunun önemli bir belirteç olduğunu düşünmekteyiz.

20-40 yaş arası erkeklerde en sık görülen malignite olan testis tümöründe fizik muayene ve skrotal ultrasonu takiben yapılan radikal ingüinal orşiektomi tanının temelini oluşturmaktadır. AFP, bHCG, LDH ölçümüyle birlikte yapılan toraks ve abdomen tomografisi ise klinik evrelemede ve takip aşamasında kullanılan temel tetkiklerdir. Tomografinin GCT evrelemesinde ortalama sensitivitesi % 66.7 (37-100), ortalama spesifitesi % 95.2 (58-100) olarak saptanmıştır (Pierorazio 2020). Retroperitoneal metastazları tespit etmede ise sensitivitesi %59'dur (Leibovitch 1995, Motzer 2012). GCT'nin tanı ve tedavi takibinde yaklaşık 50 yıldır kullanılmakta olan AFP, bHCG ve LDH ise tanı anında tümörün histolojik tipi hakkında bilgi verebilen; hastalığın evrelendirilmesinde kullanılan, takipte nüksün saptanmasında yol gösterici olabilen değerli belirteçlerdir. Ancak bu belirteçler GCT hastalarının % 60'ında yükselmektedir (Belge 2012, Dieckmann 2012). Özellikle erken evre hastalıkta metastatik hastalığa göre klasik serum tümör belirteçlerinin sensitivite ve spesifiteleri düşüktür ve tanı anında testis tümörlerinin büyük çoğunluğu erken evre hastalardan oluşmaktadır. Günümüzde mevcut tanısal araçların tanı ve evrelemede düşük sensitivite ve spesifiteleri testis tümörlerinde miRNA'ların odak noktası haline gelmesine neden olmuştur (Ehrlich 2013).

miRNA'lar genomun epigenetik regülasyonunda rol oynayan, insan genomunun yaklaşık 3'te birinin ekspresyonunu düzenleyerek hücre döngüsü, hücre büyümesi, proliferasyon, apoptoz ve diferansiasyon gibi hücresel fonksiyonları düzenleyen, yaklaşık 20 baz çiftinden oluşan tek sarmallı RNA molekülleridir (Bartel DP 2004, Farazi 2013).

miR-371-3 kümeleri ise embriyonik kök hücrelerden spesifik olarak eksprese edilir ve hücrenin pluripotensi kontrolünde rol oynar (Eini 2013). Normal testis dokusunda çok düşük seviyelerde tespit edilebilir (Boellaard 2019, Belge 2020). Testisin GCT'leri de diferansiye olmamış embriyonel hücrelerden köken alır (Lobo 2019). miR-371a-3p'nin yüksek sensitivite

ve spesifiteye sahip olarak GCT'de eksprese edilmesinin muhtemel sebebi de embriyonik kök hücrelerle benzer köken ve biyolojileridir (Leão 2021). İdeal tümör belirteçlerinin daha önce belirtilen özelliklerine uygun olarak miR-371a-3p'nin tümörlü doku ve serumda stabil halde saptanması yeni nesil GCT biyobelirteci olabileceğini düşündürmektedir (Lange 1987, Voorhoeve 2006, Gillis 2007, Murray 2011, Belge 2012, Dieckmann 2016, Leão 2021).

Çalışmamızda kontrol grubu ile kıyaslandığında GCT'de miR-371a-3p'nin sensitivitesini % 98.3, spesifitesini % 95 olarak saptadık. Literatürdeki en geniş hasta grubuna sahip çalışmasında Dieckmann ve ark.'da 616 GCT hastasının değerlendirildiği çalışmalarında miR-371a-3p'nin sensitivitesini % 90.1, spesifitesini % 94.0 olarak saptamışlardır. AFP, bHCG ve LDH'nin sensitivitesinin ise % 50'den az olduğunu belirtmişlerdir (Dieckmann 2019). Bizim çalışmamızda ise AFP'nin sensitivitesini % 48, spesifitesini % 25; bHCG'nin sensitivitesini % 56 spesifitesini % 46; LDH'nin sensitivitesini % 36, spesifitesini % 32 olarak saptadık. Mevcut bulgular miR-371a-3p'nin klasik serum tümör belirteçlerine göre GCT'de tanı anında daha spesifik ve etkin olduğuna, bu sebeple de geniş kullanım alanı bulacağına işaret etmektedir.

miR-371a-3p'nin seminom ve nonseminomda eksprese edilirken GCT dışındaki testis tümörlerinde saptanmıyor olması spesifitesini artıran bir diğer faktördür (Belge 2021). GCT'lerin klonal kökeninin farklılığı muhtemelen bunun sebebidir. Ancak daha önceki çalışmalarda da belirtildiği şekilde belirtecin teratomda bariz ekspresyon göstermemesi klinik açıdan önemli bir limitasyondur (Novotny 2012, Dieckmann 2017). Çalışmamızda da 2 teratom hastasında bariz miR-371a-3p ekspresyonu saptamadık.

GCT'ye spesifik olduğu kanıtlanmış olan miR-371a-3p'nin ekspresyon düzeyini nonseminom hastalarında seminom hastalarına göre ortalama 1.5 kat daha yüksek saptadık. Benzer bulgular ilk olarak Syring ve ark.'nın ve van Agthoven ve ark.'nın çalışmalarında dile getirilmiştir (Syring 2015, van Agthoven 2016). Dieckmann ve ark. ise çalışmalarında bu farklılığı sadece klinik evre 1 hastalarda tespit etmişler ve ortalama miR-371a-3p ekspresyon düzeyinin non seminomda seminomdan yaklaşık 10 kat fazla olduğunu saptamışlardır (Dieckmann 2016). miR-371-3 kümelerini eksprese eden diferansiye olmamış kök hücrelerin embriyonel karsinom hücreleri ile yakın biyolojik benzerliklerinin bu duruma sebep olabileceğini, bu nedenle hücresel düzeyde daha az diferansiye nonseminomda daha iyi diferansiye olan seminoma göre miR-371a-3p'nin ekspresyon seviyesinin daha yüksek saptanabileceğini belirtmişlerdir (Dieckmann 2019).

Tanısal anlamda klasik serum tümör belirteçlerinden daha üstün olan miR-371a-3p ekspresyon seviyelerinin hastalığın klinik evresiyle de ilişkili olduğunu saptadık. miR-371a-3p'nin ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna göre klinik evre 1 hastalıkta

ortalama 38, klinik evre 2 hastalıkta ortalama 57, klinik evre 3 hastalıkta ortalama 86 kat daha fazla olduğunu; lenf nodu metastazı olan hastalarda tanı anında ortalama miR-371a-3p ekspresyon seviyelerinin klinik evre 1 hastalarından ortalama 1.7 kat, metastazı olan hastaların ise klinik evre 1 hastalarından ortalama 3.35 kat daha yüksek olduğunu saptadık. Klinik evre arttıkça belirteç seviyesinin anlamlı olarak yükseldiği önceki çalışmalarla da ortaya konulmuştur (Syring 2015, Dieckmann 2019). Dieckmann ve ark. çalışmalarında bunun muhtemel sebebinin klinik evre ile hastalık yaygınlığının (tümör sayısının) artması olduğunu belirtilmişlerdir. Çalışmalarında sistemik metastazı olan 201 hastada orşiektomi sonrası miR-371a-3p seviyelerinin çoğu hastada normal seviyeye düşmediğini, klinik evre 2 hastaların çoğunda ilk kür kemoterapiden sonra belirtecin çoğu hastada normal seviyelere düştüğünü göstermişlerdir. Bunun muhtemel sebebinin de miR-371a-3p'nin metastatik dokular (lenf nodu veya solid organ) tarafından eksprese edilmesi olduğunu belirtmişlerdir. Bu durum, belirtecin seviyesinin metastatik hastalığı lokalize hastalıktan ayırt etmede prediktif olabileceğini düşündürmektedir. Günümüzde klinik evrelemede kullanılan tomografinin retroperitondaki metastazları tespit etmedeki sensitivitesinin çok yüksek olmadığını ve klinik evre 2 hastaların % 20'sinde evreleme hatasının olduğunu (Donohue 1995) göz önünde bulundurduğumuzda miR-371a-3p'nin klinik evrelemeye yardımcı olacak şekilde kullanılmasının hastalığın evrelemesinin doğruluğuna katkı sağlayabileceğini söyleyebiliriz.

Bu düşüncemizi destekler şekilde Leão R ve ark.nın çalışmasında orşiektomi sonrası evre 1 hastaların %13.3'ünde yüksek miR-371a-3p seviyelerinin devam etmesi ve evre 2 hastaların % 10'unda normal seviyeye düşüş olması radyolojinin evrelemede tek başına yetersiz olabileceğini göstermektedir (Leão 2021).

Belirtecin ekspresyonunu etkileyen diğer faktörleri incelediğimizde; evre 1 hastalıkta tümör boyutunun ekspresyon seviyesiyle korele olduğunu, 40 mm üstündeki tümörlerde 1.33 kat daha fazla miR-371a-3p ekspresyonu olduğunu saptadık. Yapılan çalışmalarda da evre 1'de belirteç seviyesinin tümörün boyutundan etkilendiği belirtilmiştir. Dieckmann ve ark. çalışmalarında miR-371a-3p sensitivitesinin nonseminomda bütün tümör boyutlarında yüksek olduğunu ancak seminomda 9 mm altı ve 10-19 mm arasındaki tümörlerde sensitivitenin diğer boyutlara göre daha düşük olduğunu saptamıştır (Dieckmann 2019). Bildiğimiz kadarıyla literatürde evre 1 hastalıkta seminomda relaps için için risk faktörü olan rete testis invazyonunu (Warde 2002) ve non seminomda risk faktörü olan lenfovasküler invazyon (Albers 2003, Verrill 2018) ile belirteç seviyesi ilişkisi araştırılmamıştır. Risk faktörleri varlığında relaps riskinin seminomda % 6'dan 32'ye; non seminomda % 15'ten 50'ye çıktığı bilinmektedir (Albers 2003, Aparicio 2014, Verrill 2018, Blok 2020). Relaps durumunda miR-371a-3p'nin yeniden yükselişe geçtiği de belirtilmiştir (Dieckmann 2019, Lobo 2021).

Çalışmamızda evre 1 hastalıkta seminom ve non seminomda risk faktörlerinin belirteç seviyesiyle korele olmadığını saptadık. Bunun muhtemel nedeninin miR-371a-3p'nin hali hazırda var olan tümör hücreleri tarafından eksprese edilmeleri ve bunun sonucunda belirtecin seviyesinin histolojik faktörlerden ziyade tümör boyutu ve metastaza bağlı tümörlü hücre sayısından etkilenmesi olduğunu düşünmekteyiz. Bu fikrin daha geniş hasta sayısına sahip çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Hastaların preoperatif ve postoperatif 2.haftada miR-371a-3p seviyelerini değerlendirdiğimizde ise evre 1'de hastaların % 92.6'sında belirtecin normal seviyeye gerilemesine karşın evre 3'teki hastaların % 93.8'inde belirtecin yüksek seviyelerde kaldığını saptadık. Aynı dönemde AFP'nin % 61, bHCG'nin % 64.7, LDH'nin % 66.6 oranında azaldığını saptadık. Bu durum bize miR-371a-3p seviyelerinin hastalığın yaygınlığı ile korele olduğunu göstermektedir. Benzer bulgular yapılan çalışmalarda da gözlemlenmiştir (Syring 2015, Dieckmann 2019, Mego 2019). Syring ve ark. çalışmalarında klinik evre 1 olan 9 hastanın tamamında orşiektomi sonrası miR-371a-3p seviyelerinin normale gerilediğini belirtmişlerdir. Dieckmann ve ark.'da klinik evre 1 olan 371 hastanın % 91.77'sinde orşiektomi sonrası belirtecin normal seviyeye düştüğünü, klinik evre 3 olan 70 hastanın % 82.41'inde ise orşiektomi sonrası belirtecin yüksek seviyelerde kaldığını belirtmişlerdir. Bu nedenle miR-371a-3p seviyelerinin postoperatif dönemde dikkatle takip edilmesi gerektiğini, belirteç seviyesinin marker negatif okkült metastatik hastalık için ön görücü olabileceğini düşünmekteyiz.

Metastatik hastalarda belirtecin ekspresyon seviyesi incelendiğinde ise çalışmaların çoğunda miR-371a-3p seviyesinin IGCCCG prognostik gruplarıyla korele olduğu saptanmıştır (Dieckmann2019, Rosas 2019). Çalışmamızda ise belirtecin ekspresyon seviyesinin sadece kötü prognostik grup hastalarıyla korele olduğunu saptadık. İyi ve orta prognostik grupla korelasyon izlenmemesinin, metastatik hasta popülasyonumuzun az sayıda olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yine de mevcut çalışmalar ışığında metastatik hasta grubunda belirtecin seviyesinin tanı anında IGCCCG risk grubu hakkında fikir verici olabileceğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızın en önemli limitasyonu hasta sayımızın az olması ve hastaların aynı coğrafik bölgeden olmasıdır. Bu durum heterojeniteyi etkileyebilir.

Klinik evreleme aşamasında mevcut laboratuvar ve radyoloji tetkiklerine göre bazı hastalarda evreleme belirsizliklerinin yaşanması GCT evrelemesine özgü olan ve çalışmamıza da yansıyabilen bir limitasyondur. Klinik evrelemede radyolojik olarak belirsizlik yaşanması bazı hastaların yanlış kategorize edilmesine sebep olmuş olabilir.

Diğer limitasyon tüm serum numunelerinin genel ölçüme kadar birkaç ay derin dondurucuda saklanmış olmasıdır. Saklanma koşullarına bağlı olarak sonuçlar etkilenmiş olabilir.

Çalışmamızda GCT’de miR-371a-3p ekspresyon seviyeleri araştırılmasında Reverse transcription ve Preamplifikasyon aşamalarında kullanılan kullanılan kitlerin kalite standartlarına uygunluğu, kitin doğruluğu ile kanıt düzeyinin değerlendirilmesi için yapılacak daha fazla hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

miR-371a-3p klasik serum tümör belirteçlerine göre daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip yeni nesil GCT belirteci olarak umut vaat etmektedir. miR-371a-3p’nin seminom ve non seminomda eksprese edilirken GCT dışındaki testis tümörlerinde saptanmıyor olması da spesifitesini artırmaktadır. Belirtecın eksresyon seviyesi non seminom hastalarında seminom hastalarından daha yüksektir.

Belirtecın ekspresyonunun klinik evre ile birlikte artması belirtecın seviyesinin lenf nodu pozitif ve metastatik hastalığı lokalize hastalıktan ayırt etmede prediktif olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca postoperatif dönemde ileri evre hastalarda belirtecın evre 1 hastalara göre daha yüksek seviyede kalması marker negatif gizli metastatik hastalığı saptamada kullanışlı olabileceğini göstermektedir.

Ayrıca miR-371a-3p ekspresyon düzeyi IGCCCG kötü prognostik risk grubuyla koreledir. Bu durum hastalık yaygınlığına bağlı olarak belirtecın sadece primer testis tümöründe değil, metastatik alandaki hücrelerden de eksprese edildiğini ve belirteç seviyesinin hastalığın prognozuyla ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Akdoğan B, Altan M. Post-chemotherapy Retroperitoneal Lymph Node Dissection in Advanced Germ Cell Tumors. *Principles and Practice of Urooncology*, Springer, 2017, pp 153-168.
- Albers P, Siener R, Kliesch S, Weissbach L, Krege S, Sparwasser C, et al. German Testicular Cancer Study Group. Risk factors for relapse in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors: results of the German Testicular Cancer Study Group Trial. *J Clin Oncol*. 2003 Apr 15;21(8):1505-12. doi: 10.1200/JCO.2003.07.169.
- Albers P, Siener R, Krege S, Schmelz HU, Dieckmann KP, Heidenreich A, et al. German Testicular Cancer Study Group. Randomized phase III trial comparing retroperitoneal lymph node dissection with one course of bleomycin and etoposide plus cisplatin chemotherapy in the adjuvant treatment of clinical stage I Nonseminomatous testicular germ cell tumors: AUO trial AH 01/94 by the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 2008 Jun 20;26(18):2966-72. doi: 10.1200/JCO.2007.12.0899.
- Almstrup K, Lobo J, Mørup N, Belge G, Rajpert-De Meyts E, Looijenga LHJ, et al. Application of miRNAs in the diagnosis and monitoring of testicular germ cell tumours. *Nat Rev Urol*. 2020 Apr;17(4):201-213. doi: 10.1038/s41585-020-0296-x.
- Altan M, Haberal HB, Akdoğan B. Evre 1 Germ Hücreli Testis Tümörlerinde Tedavi Yaklaşımları. *Türkiye Klinikleri Urology-Special Topics* 2016;9:32-38.
- Alvarado-Cabrero I, Hernandez-Toriz N, Paner GP. Clinicopathologic analysis of choriocarcinoma as a pure or predominant component of germ cell tumor of the testis. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:111–118.
- Andreassen KE, Grotmol T, Cvancarova MS, Johannesen TB, Fosså SD. Risk of metachronous contralateral testicular germ cell tumors: a population-based study of 7,102 Norwegian patients (1953-2007). *Int J Cancer*. 2011 Dec 15;129(12):2867-74. doi: 10.1002/ijc.25943.
- Andreassen KE, Kristiansen W, Karlsson R, Aschim EL, Dahl O, Fosså SD, et al. Genetic variation in AKT1, PTEN and the 8q24 locus, and the risk of testicular germ cell tumor. *Hum Reprod*. 2013 Jul;28(7):1995-2002. doi: 10.1093/humrep/det127.
- Aparicio J, García del Muro X, Maroto P, Paz-Ares L, Alba E, Sáenz A, et al. Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group (GG). Multicenter study evaluating a dual policy of postorchietomy surveillance and selective adjuvant single-agent carboplatin for patients with clinical stage I seminoma. *Ann Oncol*. 2003 Jun;14(6):867-72. doi: 10.1093/annonc/mdg241.
- Aparicio J, Germà JR, García del Muro X, Maroto P, Arranz JA, Sáenz A, et al. Second Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group. Risk-adapted management for patients with clinical stage I seminoma: the Second Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group study. *J Clin Oncol*. 2005 Dec 1;23(34):8717-23. doi: 10.1200/JCO.2005.01.9810.

- Aparicio J, Maroto P, García Del Muro X, Sánchez-Muñoz A, Gumà J, Margelí M, et al. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma: a new nomogram derived from three consecutive, risk-adapted studies from the Spanish Germ Cell Cancer Group (SGCCG). *Ann Oncol*. 2014 Nov;25(11):2173-2178. doi: 10.1093/annonc/mdu437.
- Aparicio J, Sánchez-Muñoz A, Ochendusko S, Gumà J, Fernández-Aramburo A, García Del Muro X, et al. Treatment and Outcome of Patients with Stage IS Testicular Cancer: A Retrospective Study from the Spanish Germ Cell Cancer Group. *J Urol*. 2019 Oct;202(4):742-747. doi: 10.1097/JU.0000000000000366.
- Bachner M, Lorient Y, Gross-Goupil M, Zucali PA, Horwich A, Germa-Lluch JR, et al. 2-¹⁸fluoro-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) for postchemotherapy seminoma residual lesions: a retrospective validation of the SEMPET trial. *Ann Oncol*. 2012 Jan;23(1):59-64. doi: 10.1093/annonc/mdr052.
- Baniel J, Foster RS, Gonin R, Messermer JE, Donohue JP, Einhorn LH. Late relapse of testicular cancer. *J Clin Oncol*. 1995 May;13(5):1170-6. doi: 10.1200/JCO.1995.13.5.1170.
- Barlow LJ, Badalato GM, McKiernan JM. Serum tumor markers in the evaluation of male germ cell tumors. *Nat Rev Urol*. 2010 Nov;7(11):610-7. doi: 10.1038/nrurol.2010.166.
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116:281–97.
- Beck SD, Foster RS, Bihle R, Einhorn LH, Donohue JP. Outcome analysis for patients with elevated serum tumor markers at postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection. *J Clin Oncol*. 2005 Sep 1;23(25):6149-56. doi: 10.1200/JCO.2005.11.684.
- Belge G, Dieckmann KP, Spiekermann M, Balks T, Bullerdiek J. Serum levels of microRNAs miR-371-3: a novel class of serum biomarkers for testicular germ cell tumors? *Eur Urol* 2012;61: 1068–9.
- Belge G, Grobelny F, Radtke A, Bodes J, Matthies C, Wülfing C, et al. Serum levels of microRNA-371a-3p are not elevated in testicular tumours of non-germ cell origin. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2021 Feb;147(2):435-443. doi: 10.1007/s00432-020-03429-x.
- Belge G, Hennig F, Dumlupinar C, Grobelny F, Junker K, Radtke A, et al. Graded expression of microRNA-371a-3p in tumor tissues, contralateral testes, and in serum of patients with testicular germ cell tumor. *Oncotarget*. 2020 Apr 21;11(16):1462-1473. doi: 10.18632/oncotarget.27565.
- Bell H. Alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in patients with primary liver carcinoma, metastatic liver disease, and alcoholic liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 1982 Oct;17(7):897-903. doi: 10.3109/00365528209181112.
- Beyer J, Albers P, Altena R, Aparicio J, Bokemeyer C, Busch J, et al. Maintaining success, reducing treatment burden, focusing on survivorship: highlights from the third European consensus conference on diagnosis and treatment of germ-cell cancer. *Ann Oncol*. 2013 Apr;24(4):878-88. doi: 10.1093/annonc/mds579.
- Bing Z, Master SR, Tobias JW, Baldwin DA, Xu XW, Tomaszewski JE. MicroRNA expression profiles of seminoma from paraffin-embed- ded formalin-fixed tissue. *Virchows Arch* 2012;461:663–8.

- Blok JM, Pluim I, Daugaard G, Wagner T, Jóźwiak K, Wilthagen EA, et al. Lymphovascular invasion and presence of embryonal carcinoma as risk factors for occult metastatic disease in clinical stage I nonseminomatous germ cell tumour: a systematic review and meta-analysis. *BJU Int.* 2020 Mar;125(3):355-368. doi: 10.1111/bju.14967.
- Boellaard WPA, Gillis AJM, van Leenders GJLH, Stoop H, van Agthoven T, Dorssers LCJ, et al. Cellular origin of microRNA-371a-3p in healthy males based on systematic urogenital tract tissue evaluation. *Andrology.* 2019 Jul;7(4):463-468. doi: 10.1111/andr.12595.
- Böhlen D, Borner M, Sonntag RW, Fey MF, Studer UE. Long-term results following adjuvant chemotherapy in patients with clinical stage I testicular nonseminomatous malignant germ cell tumors with high risk factors. *J Urol.* 1999 Apr;161(4):1148-52.
- Böhlen D, Burkhard FC, Mills R, Sonntag RW, Studer UE. Fertility and sexual function following orchiectomy and 2 cycles of chemotherapy for stage I high risk nonseminomatous germ cell cancer. *J Urol.* 2001 Feb;165(2):441-4. doi: 10.1097/00005392-200102000-00022.
- Bokemeyer C, Berger CC, Kuczyk MA, Schmoll HJ. Evaluation of long-term toxicity after chemotherapy for testicular cancer. *J Clin Oncol.* 1996 Nov;14(11):2923-32. doi: 10.1200/JCO.1996.14.11.2923.
- Bonde JP, Flachs EM, Rimborg S, Glaser CH, Giwercman A, Ramlau-Hansen CH et al. The epidemiologic evidence linking prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemicals with male reproductive disorders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2016;23:104–125.
- Bosl GJ, Motzer RJ. Testicular germ-cell cancer. *N Engl J Med.* 1997 Jul 24;337(4):242-53. doi: 10.1056/NEJM199707243370406.
- Brierley, JE, Gospodarowicz MK, Wittekind C. The TNM Classification of Malignant Tumours 8th edition. 2016.
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov 26;99(24):15524-9. doi: 10.1073/pnas.242606799.
- Campbell Walsh Urology 12.th Edition, 2020.
- Cao D, Humphrey PA. Yolk sac tumor of the testis. *J Urol.* 2011;186:1475–1476.
- Carver BS, Serio AM, Bajorin D, Motzer RJ, Stasi J, Bosl GJ, et al. Improved clinical outcome in recent years for men with metastatic nonseminomatous germ cell tumors. *J Clin Oncol.* 2007 Dec 10;25(35):5603-8. doi: 10.1200/JCO.2007.13.6283.
- Cary KC, Pedrosa JA, Kaimakliotis HZ, Masterson TA, Einhorn LH, Foster RS. The impact of bleomycin on retroperitoneal histology at post-chemotherapy retroperitoneal lymph node dissection of good risk germ cell tumors. *J Urol.* 2015 Feb;193(2):507-12. doi: 10.1016/j.juro.2014.09.090.
- Cassidy FH, Ishioka KM, McMahon CJ, Chu P, Sakamoto K, Lee KS, et al. MR imaging of scrotal tumors and pseudotumors. *Radiographics.* 2010 May;30(3):665-83. doi: 10.1148/rg.303095049.

- Cathomas R, Klingbiel D, Bernard B, Lorch A, Garcia Del Muro X, Morelli F, et al. Questioning the Value of Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography for Residual Lesions After Chemotherapy for Metastatic Seminoma: Results of an International Global Germ Cell Cancer Group Registry. *J Clin Oncol*. 2018 Oct 4;JCO1800210. doi: 10.1200/JCO.18.00210.
- Cheville JC. Classification and pathology of testicular germ cell and sex cord-stromal tumors. *Urol Clin North Am*. 1999;26:595–609.
- Chung P, Daugaard G, Tyldesley S, Atenafu EG, Panzarella T, Kollmannsberger C, et al. Evaluation of a prognostic model for risk of relapse in stage I seminoma surveillance. *Cancer Med*. 2015 Jan;4(1):155-60. doi: 10.1002/cam4.324.
- Chung PW, Bayley AJ, Sweet J, Jewett MAS, Tew-George B, Gospodarowicz MK, et al. Spermatocytic seminoma: a review. *Eur Urol*. 2004;45:495–498.
- Chung PW, Gospodarowicz MK, Panzarella T, Jewett MA, Sturgeon JF, Tew-George B, et al. Stage II testicular seminoma: patterns of recurrence and outcome of treatment. *Eur Urol*. 2004 Jun;45(6):754-59; discussion 759-60. doi: 10.1016/j.eururo.2004.01.020.
- Classen J, Dieckmann K, Bamberg M, Souchon R, Kliesch S, Kuehn M, et al. 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 Mar 24;88(6):828-31. doi: 10.1038/sj.bjc.6600771.
- Classen J, Schmidberger H, Meisner C, Souchon R, Sautter-Bihl ML, Sauer R, et al. Radiotherapy for stages IIA/B testicular seminoma: final report of a prospective multicenter clinical trial. *J Clin Oncol*. 2003 Mar 15;21(6):1101-6. doi: 10.1200/JCO.2003.06.065.
- Comiter CV, Kibel AS, Richie JP, Nucci MR, Renshaw AA. Prognostic features of teratomas with malignant transformation: a clinicopathological study of 21 cases. *J Urol*. 1998;159:859– 863.
- Culine S, Kerbrat P, Kramar A, Théodore C, Chevreau C, Geoffrois L, et al. Genito-Urinary Group of the French Federation of Cancer Center (GETUG T93BP). Refining the optimal chemotherapy regimen for good-risk metastatic nonseminomatous germ-cell tumors: a randomized trial of the Genito-Urinary Group of the French Federation of Cancer Centers (GETUG T93BP). *Ann Oncol*. 2007 May;18(5):917-24. doi: 10.1093/annonc/mdm062.
- Cullen MH, Stenning SP, Parkinson MC, Fossa SD, Kaye SB, Horwich AH, et al. Short-course adjuvant chemotherapy in high-risk stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis: a Medical Research Council report. *J Clin Oncol*. 1996 Apr;14(4):1106-13. doi: 10.1200/JCO.1996.14.4.1106.
- Davis BE, Herr HW, Fair WR, Bosl GJ. The management of patients with nonseminomatous germ cell tumors of the testis with serologic disease only after orchiectomy. *J Urol*. 1994 Jul;152(1):111-3; discussion 114. doi: 10.1016/s0022-5347(17)32830-6.

- DeCastro BJ, Peterson AC, Costabile RA. A 5-year followup study of a symptomatic men with testicular microlithiasis. *J Urol*. 2008 Apr;179(4):1420-3; discussion 1423. doi: 10.1016/j.juro.2007.11.080.
- De Santis M, Becherer A, Bokemeyer C, Stoiber F, Oechsle K, Sellner F, et al. 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 Mar 15;22(6):1034-9. doi: 10.1200/JCO.2004.07.188.
- de Wit M, Brenner W, Hartmann M, Kotzerke J, Hellwig D, Lehmann J, et al. [18F]-FDG-PET in clinical stage I/II non-seminomatous germ cell tumours: results of the German multicentre trial. *Ann Oncol*. 2008 Sep;19(9):1619-23. doi: 10.1093/annonc/mdn170.
- de Wit R, Collette L, Sylvester R, de Mulder PH, Sleijfer DT, ten Bokkel Huinink WW, et al. Serum alpha-fetoprotein surge after the initiation of chemotherapy for non-seminomatous testicular cancer has an adverse prognostic significance. *Br J Cancer*. 1998 Nov;78(10):1350-5. doi: 10.1038/bjc.1998.683.
- de Wit R, Roberts JT, Wilkinson PM, de Mulder PH, Mead GM, Fosså SD, et al. Equivalence of three or four cycles of bleomycin, etoposide, and cisplatin chemotherapy and of a 3- or 5-day schedule in good-prognosis germ cell cancer: a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group and the Medical Research Council. *J Clin Oncol*. 2001 Mar 15;19(6):1629-40. doi: 10.1200/JCO.2001.19.6.1629.
- de Wit R, Stoter G, Sleijfer DT, Neijt JP, ten Bokkel Huinink WW, de Prijck Let al. Four cycles of BEP vs four cycles of VIP in patients with intermediate-prognosis metastatic testicular non-seminoma: a randomized study of the EORTC Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *European Organization for Research and Treatment of Cancer*. *Br J Cancer*. 1998 Sep;78(6):828-32. doi: 10.1038/bjc.1998.587.
- Dieckmann KP, Kulejewski M, Pichlmeier U, Loy V. Diagnosis of contralateral testicular intraepithelial neoplasia (TIN) in patients with testicular germ cell cancer: systematic two-site biopsies are more sensitive than a single random biopsy. *Eur Urol*. 2007 Jan;51(1):175-83; discussion 183-5. doi: 10.1016/j.eururo.2006.05.051.
- Dieckmann KP, Loy V. Prevalence of contralateral testicular intraepithelial neoplasia in patients with testicular germ cell neoplasms. *J Clin Oncol*. 1996 Dec;14(12):3126-32. doi: 10.1200/JCO.1996.14.12.3126.
- Dieckmann KP, Pichlmeier U. Clinical epidemiology of testicular germ cell tumors. *World J Urol*. 2004;22:2–14.
- Dieckmann KP, Radtke A, Geczi L, Matthies C, Anheuser P, Eckardt U, et al. Serum Levels of MicroRNA-371a-3p (M371 Test) as a New Biomarker of Testicular Germ Cell Tumors: Results of a Prospective Multicentric Study. *J Clin Oncol*. 2019 Jun 1;37(16):1412-1423. doi: 10.1200/JCO.18.01480.
- Dieckmann KP, Radtke A, Spiekermann M, Balks T, Matthies C, Becker P, et al. Serum Levels of MicroRNA miR-371a-3p: A Sensitive and Specific New Biomarker for Germ Cell Tumours. *Eur Urol*. 2017 Feb;71(2):213-220. doi: 10.1016/j.eururo.2016.07.029.
- Dieckmann KP, Simonsen-Richter H, Kulejewski M, Anheuser P, Zecha H, Isbarn H, et al. Serum Tumour Markers in Testicular Germ Cell Tumours: Frequencies of Elevated Levels and Extents of Marker Elevation Are Significantly Associated with Clinical

- Parameters and with Response to Treatment. *Biomed Res Int*. 2019 May 28;2019:5030349. doi: 10.1155/2019/5030349.
- Dieckmann KP, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features. *Int J Cancer*. 1999;83:815–822.
- Dieckmann KP, Spiekermann M, Balks T, Ikogho R, Anheuser P, Wosniok W, et al. MicroRNA miR-371a-3p - A Novel Serum Biomarker of Testicular Germ Cell Tumors: Evidence for Specificity from Measurements in Testicular Vein Blood and in Neoplastic Hydrocele Fluid. *Urol Int*. 2016;97(1):76-83. doi: 10.1159/000444303.
- Dieckmann KP, Spiekermann M, Balks T, Flor I, Löning T, Bullerdiek J, et al. MicroRNAs miR-371-3 in serum as diagnostic tools in the management of testicular germ cell tumours. *Br J Cancer*. 2012 Nov 6;107(10):1754-60. doi: 10.1038/bjc.2012.469.
- Dieckmann KP, Wilken S, Loy V, Matthies C, Kleinschmidt K, Bedke J, et al. Treatment of testicular intraepithelial neoplasia (intratubular germ cell neoplasia unspecified) with local radiotherapy or with platinum-based chemotherapy: a survey of the German Testicular Cancer Study Group. *Ann Oncol*. 2013 May;24(5):1332-7. doi: 10.1093/annonc/mds628.
- Donohue JP, Thornhill JA, Foster RS, Bihrlé R, Rowland RG, Einhorn LH. The role of retroperitoneal lymphadenectomy in clinical stage B testis cancer: the Indiana University experience (1965 to 1989). *J Urol*. 1995 Jan;153(1):85-9. doi: 10.1097/00005392-199501000-00030.
- Donohue JP, Thornhill JA, Foster RS, Rowland RG, Bihrlé R. Retroperitoneal lymphadenectomy for clinical stage A testis cancer (1965 to 1989): modifications of technique and impact on ejaculation. *J Urol*. 1993 Feb;149(2):237-43. doi: 10.1016/s0022-5347(17)36046-9.
- Douglawi A, Calaway A, Tachibana I, Panizzutti Barboza M, Speir R, Masterson T, et al. Long-Term Oncologic Outcomes after Primary Retroperitoneal Lymph Node Dissection: Minimizing the Need for Adjuvant Chemotherapy. *J Urol*. 2020 Jul;204(1):96-103. doi: 10.1097/JU.0000000000000792.
- European Association of Urology (EAU) Oncology Guidelines, 2021.
- El Mesbahi O, Terrier-Lacombe MJ, Rebischung C, Theodore C, Vanel D, Fizazi K. Chemotherapy in patients with teratoma with malignant transformation. *Eur Urol*. 2007;51:1306–1311 [discussion 1311–1312].
- Ehrlich Y, Beck SD, Foster RS, Bihrlé R, Einhorn LH. Serum tumor markers in testicular cancer. *Urol Oncol*. 2013 Jan;31(1):17-23. doi: 10.1016/j.urolonc.2010.04.007.
- Ehrlich Y, Brame MJ, Beck SD, Foster RS, Einhorn LH. Long-term follow-up of Cisplatin combination chemotherapy in patients with disseminated nonseminomatous germ cell tumors: is a postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection needed after complete remission? *J Clin Oncol*. 2010 Feb 1;28(4):531-6. doi: 10.1200/JCO.2009.23.0714.
- Eini R, Dorssers LC, Looijenga LH. Role of stem cell proteins and microRNAs in embryogenesis and germ cell cancer. *Int J Dev Biol*. 2013;57(2-4):319-32. doi: 10.1387/ijdb.130020re.
- Esteller, M.: Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, **12**: 861, 2011.

- Farazi TA, Hoell JI, Morozov P, Tuschl T. MicroRNAs in human cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2013;774:1-20. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_1.
- Feldman DR, Bosl GJ, Sheinfeld J, Motzer RJ. Medical treatment of advanced testicular cancer. *JAMA.* 2008 Feb 13;299(6):672-84. doi: 10.1001/jama.299.6.672.
- Feldman DR, Lorch A, Kramar A, Albany C, Einhorn LH, Giannatempo P, et al. Brain Metastases in Patients With Germ Cell Tumors: Prognostic Factors and Treatment Options--An Analysis From the Global Germ Cell Cancer Group. *J Clin Oncol.* 2016 Feb 1;34(4):345-51. doi: 10.1200/JCO.2015.62.7000.
- Fizazi K, Delva R, Caty A, Chevreau C, Kerbrat P, Rolland F, et al. A risk-adapted study of cisplatin and etoposide, with or without ifosfamide, in patients with metastatic seminoma: results of the GETUG S99 multicenter prospective study. *Eur Urol.* 2014 Feb;65(2):381-6. doi: 10.1016/j.eururo.2013.09.004.
- Fosså SD, Chen J, Schonfeld SJ, McGlynn KA, McMaster ML, Gail MH, et al. Risk of contralateral testicular cancer: a population-based study of 29,515 U.S. men. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Jul 20;97(14):1056-66. doi: 10.1093/jnci/dji185.
- Fosså SD, Horwich A, Russell JM, Roberts JT, Cullen MH, Hodson NJ, et al. Optimal planning target volume for stage I testicular seminoma: A Medical Research Council randomized trial. Medical Research Council Testicular Tumor Working Group. *J Clin Oncol.* 1999 Apr;17(4):1146. doi: 10.1200/JCO.1999.17.4.1146.
- Foster RS, Roth BJ. Clinical stage I nonseminoma: surgery versus surveillance. *Semin Oncol.* 1998 Apr;25(2):145-53.
- Fujimoto S, Ohyama Y, Shrestha RD, Ohta M, Kokubun M, Koike S, Okui K. The presence of an aberrant type of human chorionic gonadotropin in patients with gastric or colorectal cancer. *Jpn J Surg.* 1987 Sep;17(5):382-7. doi: 10.1007/BF02470638.
- Geldart TR, Simmonds PD, Mead GM. Orchidectomy after chemotherapy for patients with metastatic testicular germ cell cancer. *BJU Int.* 2002 Sep;90(4):451-5. doi: 10.1046/j.1464-410x.2002.02916.x.
- Gerl A, Clemm C, Lamerz R, Mann K, Wilmanns W. Prognostic implications of tumour marker analysis in non-seminomatous germ cell tumours with poor prognosis metastatic disease. *Eur J Cancer.* 1993;29A(7):961-5. doi: 10.1016/s0959-8049(05)80202-3.
- George DW, Foster RS, Hromas RA, Robertson KA, Vance GH, Ulbright TM, et al. Update on late relapse of germ cell tumor: a clinical and molecular analysis. *J Clin Oncol.* 2003 Jan 1;21(1):113-22. doi: 10.1200/JCO.2003.03.019.
- Germà-Lluch JR, Garcia del Muro X, Maroto P, Paz-Ares L, Arranz JA, Gumà J, et al. Spanish Germ-Cell Cancer Group (GG). Clinical pattern and therapeutic results achieved in 1490 patients with germ-cell tumours of the testis: the experience of the Spanish Germ-Cell Cancer Group (GG). *Eur Urol.* 2002 Dec;42(6):553-62; discussion 562-3. doi: 10.1016/s0302-2838(02)00439-6.
- Giannandrea F, Fagnoli S. Environmental factors affecting growth and occurrence of testicular cancer in childhood: an overview of the current epidemiological evidence. *Children (Basel).* 2017;4.

- Giannarini G, Dieckmann KP, Albers P, Heidenreich A, Pizzocaro G. Organ-sparing surgery for adult testicular tumours: a systematic review of the literature. *Eur Urol*. 2010 May;57(5):780-90. doi: 10.1016/j.eururo.2010.01.014.
- Giannatempo P, Greco T, Mariani L, Nicolai N, Tana S, Farè E, et al. Radiotherapy or chemotherapy for clinical stage IIA and IIB seminoma: a systematic review and meta-analysis of patient outcomes. *Ann Oncol*. 2015 Apr;26(4):657-668. doi: 10.1093/annonc/mdu447.
- Gillessen S, Collette L, Daugaard G, de Wit R, Tryakin A, Albany C et al. Redefining the IGCCCG classification in advanced non-seminoma. *Annals of Oncology*, 2019. 30: v357.
- Gillessen S, Powles T, Lim L, Wilson P, Shamash J. Low-dose induction chemotherapy with Baby-BOP in patients with metastatic germ-cell tumours does not compromise outcome: a single-centre experience. *Ann Oncol*. 2010 Aug;21(8):1589-1593. doi: 10.1093/annonc/mdq019.
- Gilligan T, Lin DW, Aggarwal R, Chism D, Cost N, Derweesh IH, et al. Testicular Cancer, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019 Dec;17(12):1529-1554. doi: 10.6004/jnccn.2019.0058.
- Gilligan TD, Seidenfeld J, Basch EM, Einhorn LH, Fancher T, Smith DC, et al. American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline on uses of serum tumor markers in adult males with germ cell tumors. *J Clin Oncol*. 2010 Jul 10;28(20):3388-404. doi: 10.1200/JCO.2009.26.4481.
- Gillis AJ, Stoop HJ, Hersmus R, Oosterhuis JW, Sun Y, Chen C, et al. High-throughput microRNAome analysis in human germ cell tumours. *J Pathol*. 2007 Nov;213(3):319-28. doi: 10.1002/path.2230.
- Giwerzman A, Bruun E, Frimodt-Møller C, Skakkebaek NE. Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism. *J Urol*. 1989 Oct;142(4):998-1001: discussion 1001-2. doi: 10.1016/s0022-5347(17)38967-x.
- Groll RJ, Warde P, Jewett MA. A comprehensive systematic review of testicular germ cell tumor surveillance. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007 Dec;64(3):182-97. doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.04.014. Epub 2007 Jul 20.
- Hallemeier CL, Pisansky TM, Davis BJ, Choo R. Long-term outcomes of radiotherapy for stage II testicular seminoma--the Mayo Clinic experience. *Urol Oncol*. 2013 Nov;31(8):1832-8. doi: 10.1016/j.urolonc.2012.03.010.
- Hamilton RJ, Nayan M, Anson-Cartwright L, Atenafu EG, Bedard PL, Hansen A, et al. Treatment of Relapse of Clinical Stage I Nonseminomatous Germ Cell Tumors on Surveillance. *J Clin Oncol*. 2019 Aug 1;37(22):1919-1926. doi: 10.1200/JCO.18.01250.
- Hanson HA, Anderson RE, Aston KI, Carrell DT, Smith KR, Hotaling JM. Subfertility increases risk of testicular cancer: evidence from population-based semen samples. *Fertil Steril*. 2016 Feb;105(2):322-8.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.10.027.

- Harland SJ, Cook PA, Fossa SD, Horwich A, Mead GM, Parkinson MC, et al. Intratubular germ cell neoplasia of the contralateral testis in testicular cancer: defining a high risk group. *J Urol*. 1998 Oct;160(4):1353-7.
- Heidenreich A, Albers P, Hartmann M, Kliesch S, Kohrmann KU, Krege S, et al. German Testicular Cancer Study Group. Complications of primary nerve sparing retroperitoneal lymph node dissection for clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis: experience of the German Testicular Cancer Study Group. *J Urol*. 2003 May;169(5):1710-4. doi: 10.1097/01.ju.0000060960.18092.54.
- Heidenreich A, Moul JW. Contralateral testicular biopsy procedure in patients with unilateral testis cancer: is it indicated? *Semin Urol Oncol*. 2002 Nov;20(4):234-8. doi: 10.1053/suro.2002.36980.
- Heidenreich A, Weissbach L, Höltl W, Albers P, Kliesch S, Köhrmann KU, et al. German Testicular Cancer Study Group. Organ sparing surgery for malignant germ cell tumor of the testis. *J Urol*. 2001 Dec;166(6):2161-5. doi: 10.1016/s0022-5347(05)65526-7.
- Hemminki K, Chen B. Familial risks in testicular cancer as aetiological clues. *Int J Androl*. 2006;29:205–210.
- Hendry WF, Norman AR, Dearnaley DP, Fisher C, Nicholls J, Huddart RA, et al. Metastatic nonseminomatous germ cell tumors of the testis: results of elective and salvage surgery for patients with residual retroperitoneal masses. *Cancer*. 2002 Mar 15;94(6):1668-76. doi: 10.1002/cncr.10440.
- 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. doi: 10.1093/annonc/mdi175.
- Hoffmann R, Plug I, McKee M, Khoshaba B, Westerling R, Looman C, et al. Innovations in health care and mortality trends from five cancers in seven European countries between 1970 and 2005. *Int J Public Health*. 2014 Apr;59(2):341-50. doi: 10.1007/s00038-013-0507-9.
- Horwich A, Fossa SD, Huddart R, Dearnaley DP, Stenning S, Aresu M, et al. Second cancer risk and mortality in men treated with radiotherapy for stage I seminoma. *Br J Cancer*. 2014 Jan 7;110(1):256-63. doi: 10.1038/bjc.2013.551.
- Horwich A, Norman A, Fisher C, Hendry WF, Nicholls J, Dearnaley DP. Primary chemotherapy for stage II nonseminomatous germ cell tumors of the testis. *J Urol*. 1994 Jan;151(1):72-7; discussion 77-8. doi: 10.1016/s0022-5347(17)34874-7.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Kosary CL et al. *SEER cancer statistics review, 1975-2014*. National Cancer Institute: Bethesda, MD; 2017.
- Hussain SA, Ma YT, Palmer DH, Hutton P, Cullen MH. Biology of testicular germ cell tumors. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2008 Oct;8(10):1659-73. doi: 10.1586/14737140.8.10.1659.
- Isidori AM, Pozza C, Gianfrilli D, Giannetta E, Lemma A, Pofi R, et al. Differential diagnosis of nonpalpable testicular lesions: qualitative and quantitative contrast-enhanced US of benign and malignant testicular tumors. *Radiology*. 2014 Nov;273(2):606-18. doi: 10.1148/radiol.14132718.

- Jones WG, Fossa SD, Mead GM, Roberts JT, Sokal M, Horwich A, et al. Randomized trial of 30 versus 20 Gy in the adjuvant treatment of stage I Testicular Seminoma: a report on Medical Research Council Trial TE18, European Organisation for the Research and Treatment of Cancer Trial 30942 (ISRCTN18525328). *J Clin Oncol*. 2005 Feb 20;23(6):1200-8. doi: 10.1200/JCO.2005.08.003.
- Karellas ME, Damjanov I, Holzbeierlein JM. ITGCN of the testis, contralateral testicular biopsy and bilateral testicular cancer. *Urol Clin North Am*. 2007 May;34(2):119-25; abstract vii. doi: 10.1016/j.ucl.2007.02.015.
- Klepp O, Flodgren P, Maartman-Moe H, Lindholm CE, Unsgaard B, Teigum H, et al. Early clinical stages (CS1, CS1Mk+ and CS2A) of non-seminomatous testis cancer. Value of pre- and post-orchietomy serum tumor marker information in prediction of retroperitoneal lymph node metastases. Swedish-Norwegian Testicular Cancer Project (SWENOTECA). *Ann Oncol*. 1990 Jul;1(4):281-8. doi: 10.1093/oxfordjournals.annonc.a057749.
- Kollmannsberger C, Daneshmand S, So A, Chi KN, Murray N, Moore C, et al. Management of disseminated nonseminomatous germ cell tumors with risk-based chemotherapy followed by response-guided postchemotherapy surgery. *J Clin Oncol*. 2010 Feb 1;28(4):537-42. doi: 10.1200/JCO.2009.23.0755.
- Kollmannsberger C, Moore C, Chi KN, Murray N, Daneshmand S, Gleave M, et al. Non-risk-adapted surveillance for patients with stage I nonseminomatous testicular germ-cell tumors: diminishing treatment-related morbidity while maintaining efficacy. *Ann Oncol*. 2010 Jun;21(6):1296-1301. doi: 10.1093/annonc/mdp473.
- Kollmannsberger C, Tandstad T, Bedard PL, Cohn-Cedermark G, Chung PW, Jewett MA, et al. Patterns of relapse in patients with clinical stage I testicular cancer managed with active surveillance. *J Clin Oncol*. 2015 Jan 1;33(1):51-7. doi: 10.1200/JCO.2014.56.2116.
- Kollmannsberger C, Tyldesley S, Moore C, Chi KN, Murray N, Daneshmand S, et al. Evolution in management of testicular seminoma: population-based outcomes with selective utilization of active therapies. *Ann Oncol*. 2011 Apr;22(4):808-814. doi: 10.1093/annonc/mdq466.
- Koshida K, Uchibayashi T, Yamamoto H, Hirano K. Significance of placental alkaline phosphatase (PLAP) in the monitoring of patients with seminoma. *Br J Urol*. 1996 Jan;77(1):138-42. doi: 10.1046/j.1464-410x.1996.74324.x.
- Krege S, Beyer J, Souchon R, Albers P, Albrecht W, Algaba F, et al. European consensus conference on diagnosis and treatment of germ cell cancer: a report of the second meeting of the European Germ Cell Cancer Consensus group (EGCCCG): part I. *Eur Urol*. 2008 Mar;53(3):478-96. doi: 10.1016/j.eururo.2007.12.024.
- Kuczyk MA, Serth J, Bokemeyer C, Jonassen J, Machtens S, Werner M, et al. Alterations of the p53 tumor suppressor gene in carcinoma in situ of the testis. *Cancer*. 1996 Nov 1;78(9):1958-66. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19961101)78:9<1958::aid-cncr17>3.0.co;2-x.
- Laguna MP, Albers P, Albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Boormans JL, et al. Guidelines on testicular cancer. *EAU* 2019; 1:28-33.

- Lange PH, Winfield HN. Biological markers in urologic cancer. *Cancer*. 1987 Aug 1;60(3 Suppl):464-72. doi: 10.1002/1097-0142(19870801)60:3+<464::aid-cncr2820601506>3.0.co;2-c.
- Leão R, Albersen M, Looijenga LHJ, Tandstad T, Kollmannsberger C, Murray MJ, et al. Circulating MicroRNAs, the Next-Generation Serum Biomarkers in Testicular Germ Cell Tumours: A Systematic Review. *Eur Urol*. 2021 Jun 23:S0302-2838(21)01812-1. doi: 10.1016/j.eururo.2021.06.006.
- Leibovitch L, 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 Nov;154(5):1759-63.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
- Lobo J, Gillis AJM, Jerónimo C, Henrique R, Looijenga LHJ. Human Germ Cell Tumors are Developmental Cancers: Impact of Epigenetics on Pathobiology and Clinic. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan 10;20(2):258. doi: 10.3390/ijms20020258.
- Logothetis CJ, Samuels ML, Trindade A, Johnson DE. The growing teratoma syndrome. *Cancer*. 1982;50:1629–1635.
- Looijenga LH, Gillis AJ, Stoop H, Hersmus R, Oosterhuis JW. Relevance of microRNAs in normal and malignant development, including human testicular germ cell tumours. *Int J Androl* 2007;30: 304–14.
- Looijenga LH, Gillis AJ, Stoop H, Biermann K, Oosterhuis JW. Dissecting the molecular pathways of (testicular) germ cell tumour pathogenesis; from initiation to treatment-resistance. *Int J Androl*. 2011 Aug;34(4 Pt 2):e234-51. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01157.x.
- Maizlin ZV, Belenky A, Kunichezky M, Sandbank J, Strauss S. Leydig cell tumors of the testis: gray scale and color Doppler sonographic appearance. *J Ultrasound Med*. 2004 Jul;23(7):959-64. doi: 10.7863/jum.2004.23.7.959.
- Manganaro L, Vinci V, Pozza C, Saldari M, Gianfrilli D, Pofi R, et al. A prospective study on contrast-enhanced magnetic resonance imaging of testicular lesions: distinctive features of Leydig cell tumours. *Eur Radiol*. 2015 Dec;25(12):3586-95. doi: 10.1007/s00330-015-3766-4.
- Matei DV, Vartolomei MD, Renne G, Tringali VML, Russo A, Bianchi R, et al. Reliability of Frozen Section Examination in a Large Cohort of Testicular Masses: What Did We Learn? *Clin Genitourin Cancer*. 2017 Aug;15(4):e689-e696. doi: 10.1016/j.clgc.2017.01.012.
- McGlynn KA, Devesa SS, Graubard BI, Castle PE. Increasing incidence of testicular germ cell tumors among black men in the United States. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 20;23(24):5757-61. doi: 10.1200/JCO.2005.08.227.
- Mead GM, Fossa SD, Oliver RT, Joffe JK, Huddart RA, Roberts JT, et al.; MRC/EORTC seminoma trial collaborators. Randomized trials in 2466 patients with stage I seminoma: patterns of relapse and follow-up. *J Natl Cancer Inst*. 2011 Feb 2;103(3):241-9. doi: 10.1093/jnci/djq525.

- Mead GM, Stenning SP. The International Germ Cell Consensus Classification: a new prognostic factor-based staging classification for metastatic germ cell tumours. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 1997;9(4):207-9. doi: 10.1016/s0936-6555(97)80001-5.
- Mego M, van Agthoven T, Gronesova P, Chovanec M, Miskovska V, Mardiak J, et al. Clinical utility of plasma miR-371a-3p in germ cell tumors. *J Cell Mol Med*. 2019 Feb;23(2):1128-1136. doi: 10.1111/jcmm.14013.
- Melchior D, Hammer P, Fimmers R, Schüller H, Albers P. Long term results and morbidity of paraaortic compared with paraaortic and iliac adjuvant radiation in clinical stage I seminoma. *Anticancer Res*. 2001 Jul-Aug;21(4B):2989-93.
- Mir MC, Pavan N, Gonzalgo ML. Current Clinical Applications of Testicular Cancer Biomarkers. *Urol Clin North Am*. 2016 Feb;43(1):119-25. doi: 10.1016/j.ucl.2015.08.011.
- Montironi R. Intratubular germ cell neoplasia of the testis: testicular intraepithelial neoplasia. *Eur Urol*. 2002;41:651–654.
- Mosharafa AA, Foster RS, Leibovich BC, Bihrlé R, Johnson C, Donohue JP. Is post-chemotherapy resection of seminomatous elements associated with higher acute morbidity? *J Urol*. 2003 Jun;169(6):2126-8. doi: 10.1097/01.ju.0000060121.33899.4b.
- Motzer RJ, Agarwal N, Beard C, Bhayani S, Bolger GB, Buyyounouski MK, et al. National Comprehensive Cancer Network. Testicular cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012 Apr;10(4):502-35. doi: 10.6004/jnccn.2012.0050.
- Motzer RJ, Amsterdam A, Prieto V, Sheinfeld J, Murty VV, Mazumdar M, et al. Teratoma with malignant transformation: diverse malignant histologies arising in men with germ cell tumors. *J Urol*. 1998;159:133– 138.
- Moul JW. Timely diagnosis of testicular cancer. *Urol Clin North Am*. 2007 May;34(2):109-17; abstract vii. doi: 10.1016/j.ucl.2007.02.003.
- MP Laguna, Albers P, Albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Boormans JL, et al. EAU guidelines-testicular cancer. Edn. Presented at the EAU annual congress Barcelona 2019. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands, 2019.
- Murphy BA, Motzer RJ, Mazumdar M, Vlamis V, Nisselbaum J, Bajorin D, et al. Serum tumor marker decline is an early predictor of treatment outcome in germ cell tumor patients treated with cisplatin and ifosfamide salvage chemotherapy. *Cancer*. 1994 May 15;73(10):2520-6. doi: 10.1002/1097-0142(19940515)73:10<2520::aid-cnrcr2820731012>3.0.co;2-r.
- Murray MJ, Halsall DJ, Hook CE, Williams DM, Nicholson JC, Coleman N. Identification of microRNAs From the miR-371~373 and miR-302 clusters as potential serum biomarkers of malignant germ cell tumors. *Am J Clin Pathol*. 2011 Jan;135(1):119-25. doi: 10.1309/AJCPOE11KEYZCJHT.
- Murray MJ, Huddart RA, Coleman N. The present and future of serum diagnostic tests for testicular germ cell tumours. *Nat Rev Urol*. 2016 Dec;13(12):715-725. doi: 10.1038/nrurol.2016.170.

- Nakanuma Y, Unoura M, Noto H, Ohta G. Human chorionic gonadotropin in primary liver carcinoma in adults. An immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1986;409(3):365-73. doi: 10.1007/BF00708253.
- Nappi L, Thi M, Adra N, Hamilton RJ, Leao R, Lavoie JM, et al. Integrated Expression of Circulating miR375 and miR371 to Identify Teratoma and Active Germ Cell Malignancy Components in Malignant Germ Cell Tumors. *Eur Urol*. 2021 Jan;79(1):16-19. doi: 10.1016/j.eururo.2020.10.024.
- Nappi L, Thi M, Lum A, Huntsman D, Eigl BJ, Martin C, et al. Developing a Highly Specific Biomarker for Germ Cell Malignancies: Plasma miR371 Expression Across the Germ Cell Malignancy Spectrum. *J Clin Oncol*. 2019 Nov 20;37(33):3090-3098. doi: 10.1200/JCO.18.02057.
- Nayan M, Jewett MA, Hosni A, Anson-Cartwright L, Bedard PL, Moore M, et al. Conditional Risk of Relapse in Surveillance for Clinical Stage I Testicular Cancer. *Eur Urol*. 2017 Jan;71(1):120-127. doi: 10.1016/j.eururo.2016.07.013.
- 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 tumors: an Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol*. 1998 Apr;16(4):1287-93. doi: 10.1200/JCO.1998.16.4.1287.
- Nichols CR, Roth B, Albers P, Einhorn LH, Foster R, Daneshmand S, et al. Active surveillance is the preferred approach to clinical stage I testicular cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Oct 1;31(28):3490-3. doi: 10.1200/JCO.2012.47.6010.
- Nicholson BD, Jones NR, Protheroe A, Joseph J, Roberts NW, Van den Bruel A, et al. The diagnostic performance of current tumour markers in surveillance for recurrent testicular cancer: A diagnostic test accuracy systematic review. *Cancer Epidemiol*. 2019 Apr;59:15-21. doi: 10.1016/j.canep.2019.01.001.
- Nicolai N, Miceli R, Necchi A, Biasoni D, Catanzaro M, Milani A, et al. Retroperitoneal lymph node dissection with no adjuvant chemotherapy in clinical stage I nonseminomatous germ cell tumours: long-term outcome and analysis of risk factors of recurrence. *Eur Urol*. 2010 Dec;58(6):912-8. doi: 10.1016/j.eururo.2010.08.032.
- Novotny GW, Belling KC, Bramsen JB, Nielsen JE, Bork-Jensen J, Almstrup K et al. MicroRNA expression profiling of carcinoma in situ cells of the testis. *Endocr Relat Cancer*. 2012 May 24;19(3):365-79. doi: 10.1530/ERC-11-0271.
- Oechsle K, Hartmann M, Brenner W, Venz S, Weissbach L, Franzius C, et al. German Multicenter Positron Emission Tomography Study Group. [18F]Fluorodeoxyglucose positron emission tomography in nonseminomatous germ cell tumors after chemotherapy: the German multicenter positron emission tomography study group. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 20;26(36):5930-5. doi: 10.1200/JCO.2008.17.1157.
- Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, et al.; 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 Jul 23-29;366(9482):293-300. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66984-X.

- Olofsson SE, Tandstad T, Jerkeman M, Dahl O, Ståhl O, Klepp O, et al. Population-based study of treatment guided by tumor marker decline in patients with metastatic nonseminomatous germ cell tumor: a report from the Swedish-Norwegian Testicular Cancer Group. *J Clin Oncol*. 2011 May 20;29(15):2032-9. doi: 10.1200/JCO.2010.29.1278.
- Palmer RD, Murray MJ, Saini HK, van Dongen S, Abreu-Goodger C, Muralidhar B, et al; Children's Cancer and Leukaemia Group. Malignant germ cell tumors display common microRNA profiles resulting in global changes in expression of messenger RNA targets. *Cancer Res*. 2010 Apr 1;70(7):2911-23. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3301.
- Park JS, Kim J, Elghiaty A, Ham WS. Recent global trends in testicular cancer incidence and mortality. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Sep;97(37):e12390. doi: 10.1097/MD.00000000000012390.
- Pedersen MR, Sloth Osther PJ, Nissen HD, Vedsted P, Møller H, Rafaelsen SR. Elastography and diffusion-weighted MRI in patients with testicular microlithiasis, normal testicular tissue, and testicular cancer: an observational study. *Acta Radiol*. 2019 Apr;60(4):535-541. doi: 10.1177/0284185118786063.
- Petersen PM, Giwercman A, Daugaard G, Rørth M, Petersen JH, Skakkeak NE, et al. Effect of graded testicular doses of radiotherapy in patients treated for carcinoma-in-situ in the testis. *J Clin Oncol*. 2002 Mar 15;20(6):1537-43. doi: 10.1200/JCO.2002.20.6.1537.
- Pierorazio PM, Cheaib JG, Tema G, Patel HD, Gupta M, Sharma R, et al. Performance Characteristics of Clinical Staging Modalities for Early Stage Testicular Germ Cell Tumors: A Systematic Review. *J Urol*. 2020 May;203(5):894-901. doi: 10.1097/JU.0000000000000594.
- Pope WB. Brain metastases: neuroimaging. *Handb Clin Neurol*. 2018;149:89-112. doi: 10.1016/B978-0-12-811161-1.00007-4.
- Powles TB, Bhardwa J, Shamash J, Mandalia S, Oliver T. The changing presentation of germ cell tumours of the testis between 1983 and 2002. *BJU Int*. 2005 Jun;95(9):1197-200. doi: 10.1111/j.1464-410X.2005.05504.x.
- Rajpert-de Meyts E, Hoei-Hansen CE. From gonocytes to testicular cancer: the role of impaired gonadal development. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1120:168–180.
- Rocher L, Criton A, Gennisson JL, Creze M, Albiges L, Ferlicot S, et al. Characterization of Testicular Masses in Adults: Performance of Combined Quantitative Shear Wave Elastography and Conventional Ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 2019 Mar;45(3):720-731. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.10.027.
- Rosas Plaza X, van Agthoven T, Meijer C, van Vugt MATM, de Jong S, Gietema JA, et al. miR-371a-3p, miR-373-3p and miR-367-3p as Serum Biomarkers in Metastatic Testicular Germ Cell Cancers Before, During and After Chemotherapy. *Cells*. 2019 Oct 8;8(10):1221. doi: 10.3390/cells8101221.
- Rossen PB, Pedersen AF, Zachariae R, Maase HVD. Health-related quality of life in long-term survivors of testicular cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:5993–5999.
- Ruf CG, Gnoss A, Hartmann M, Matthies C, Anheuser P, Loy V, et al. Contralateral biopsies in patients with testicular germ cell tumours: patterns of care in Germany and recent

- data regarding prevalence and treatment of testicular intra-epithelial neoplasia. *Andrology*. 2015 Jan;3(1):92-8. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00260.x.
- Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, et al. MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. *Urol Oncol*. 2010 Jan-Feb;28(1):4-13. doi: 10.1016/j.urolonc.2008.10.021.
- Seidel C, Daugaard G, Tryakin A, Necchi A, Cohn Cedermark G, Ståhl O, et al. Intermediate prognosis in metastatic germ cell tumours-outcome and prognostic factors. *Eur J Cancer*. 2018 May;94:16-25. doi: 10.1016/j.ejca.2018.01.113.
- Sella A, el Naggat A, Ro JY, Dexeus FH, Amato RJ, Lee JS, et al. Evidence of malignant features in histologically mature teratoma. *J Urol*. 1991;146:1025–1028.
- Shaw J. Diagnosis and treatment of testicular cancer. *Am Fam Physician*. 2008 Feb 15;77(4):469-74.
- Sheikine Y, Genega E, Melamed J, Lee P, Reuter VE, Ye H. Molecular genetics of testicular germ cell tumors. *Am J Cancer Res*. 2012;2(2):153-167.
- Sheinfeld J. The role of adjunctive postchemotherapy surgery for nonseminomatous germ-cell tumors: current concepts and controversies. *Semin Urol Oncol*, 2002. 20: 262.
- Skoogh J, Steineck G, Cavallin-Ståhl E, Wilderäng U, Håkansson UK, Johansson B, et al. SWENOTECA. Feelings of loss and uneasiness or shame after removal of a testicle by orchidectomy: a population-based long-term follow-up of testicular cancer survivors. *Int J Androl*. 2011 Apr;34(2):183-92. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01073.x.
- Sonne SB, Kristensen DM, Novotny GW, Olesen IA, Nielsen JE, Skakkebaek NE, et al. Testicular dysgenesis syndrome and the origin of carcinoma in situ testis. *Int J Androl*. 2008 Apr;31(2):275-87. doi: 10.1111/j.1365-2605.2007.00855.x.
- Spiekermann M, Belge G, Winter N, Ikogho R, Balks T, Bullerdiek J, et al. MicroRNA miR-371a-3p in serum of patients with germ cell tumours: evaluations for establishing a serum biomarker. *Andrology*. 2015 Jan;3(1):78-84. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00269.x.
- Stephenson AJ, Bosl GJ, Motzer RJ, Bajorin DF, Stasi JP, Sheinfeld J. Nonrandomized comparison of primary chemotherapy and retroperitoneal lymph node dissection for clinical stage IIA and IIB nonseminomatous germ cell testicular cancer. *J Clin Oncol*. 2007 Dec 10;25(35):5597-602. doi: 10.1200/JCO.2007.12.0808.
- Stevenson SM, Lowrance WT. Epidemiology and diagnosis of testis cancer. *Urol Clin North Am*. 2015;42:269–275.
- Syring I, Bartels J, Holdenrieder S, Kristiansen G, Müller SC, Ellinger J. Circulating serum microRNA (miR-367-3p, miR-371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p) as biomarkers for patients with testicular germ cell cancers. *J Urol* 2015;193:331–7.
- Tabernero J, Paz-Ares L, Salazar R, Lianes P, Guerra J, Borrás J, et al. Incidence of contralateral germ cell testicular tumors in South Europe: report of the experience at 2 Spanish university hospitals and review of the literature. *J Urol*. 2004 Jan;171(1):164-7. doi: 10.1097/01.ju.0000099893.79138.55.

- Tandstad T, Dahl O, Cohn-Cedermark G, Cavallin-Stahl E, Stierner U, Solberg A, et al. Risk-adapted treatment in clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular cancer: the SWENOTECA management program. *J Clin Oncol*. 2009 May 1;27(13):2122-8. doi: 10.1200/JCO.2008.18.8953.
- Tandstad T, Smaaland R, Solberg A, Bremnes RM, Langberg CW, Laurell A, et al. Management of seminomatous testicular cancer: a binational prospective population-based study from the Swedish norwegian testicular cancer study group. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):719-25. doi: 10.1200/JCO.2010.30.1044.
- Tandstad T, Ståhl O, Dahl O, Haugnes HS, Håkansson U, Karlsdottir Å, et al.; SWENOTECA. Treatment of stage I seminoma, with one course of adjuvant carboplatin or surveillance, risk-adapted recommendations implementing patient autonomy: a report from the Swedish and Norwegian Testicular Cancer Group (SWENOTECA). *Ann Oncol*. 2016 Jul;27(7):1299-304. doi: 10.1093/annonc/mdw164.
- Tandstad T, Ståhl O, Håkansson U, Dahl O, Haugnes HS, Klepp OH, et al; SWENOTECA. One course of adjuvant BEP in clinical stage I nonseminoma mature and expanded results from the SWENOTECA group. *Ann Oncol*. 2014 Nov;25(11):2167-2172. doi: 10.1093/annonc/mdu375.
- Thong AE, Lichtensztajn DY, Almario L, Ingels A, Gomez SL, Gonzalgo ML. Stage I testicular seminoma: a SEER analysis of contemporary adjuvant radiotherapy trends. *J Urol*. 2013 Oct;190(4):1240-4. doi: 10.1016/j.juro.2013.03.114.
- Ulbricht TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol*. 2005;18(Suppl 2):S61–S79.
- Ulbricht TM. Testicular and paratesticular tumors. Mills SE, Greenson JK, Oberman HA, et al. *Sternberg's diagnostic surgical pathology*. ed 4. Lippincott, Williams and Wilkins: Philadelphia; 2004:2168–2190.
- van Agthoven T, Looijenga LHJ. Accurate primary germ cell cancer diagnosis using serum based microRNA detection (ampTSMiR test). *Oncotarget*. 2016 Jul 27;8(35):58037-58049. doi: 10.18632/oncotarget.10867.
- van den Belt-Dusebout AW, de Wit R, Gietema JA, Horenblas S, Louwman MW, Ribot JG, et al. Treatment-specific risks of second malignancies and cardiovascular disease in 5-year survivors of testicular cancer. *J Clin Oncol*. 2007 Oct 1;25(28):4370-8. doi: 10.1200/JCO.2006.10.5296.
- Verhoeven RH, Karim-Kos HE, Coebergh JW, Brink M, Horenblas S, de Wit R, et al. Markedly increased incidence and improved survival of testicular cancer in the Netherlands. *Acta Oncol*. 2014 Mar;53(3):342-50. doi: 10.3109/0284186X.2013.819992.
- Verrill C, Perry-Keene J, Srigley JR, Zhou M, Humphrey PA, Lopez-Beltran A, et al. ; Members of the ISUP Testicular Tumor Panel. Intraoperative Consultation and Macroscopic Handling: The International Society of Urological Pathology (ISUP) Testicular Cancer Consultation Conference Recommendations. *Am J Surg Pathol*. 2018 Jun;42(6):e33-e43. doi: 10.1097/PAS.0000000000001049.

- von Eyben FE, Jacobsen GK, Rorth M, Von Der Maase H. Microinvasive germ cell tumour (MGCT) adjacent to testicular germ cell tumours. *Histopathology*. 2004 Jun;44(6):547-54. doi: 10.1111/j.1365-2559.2004.01889.x.
- Voorhoeve PM, le Sage C, Schrier M, Gillis AJ, Stoop H, Nagel R, et al. A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors. *Cell*. 2006 Mar 24;124(6):1169-81. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.037.
- Warde P, Specht L, Horwich A, Oliver T, Panzarella T, Gospodarowicz M, et al. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance: a pooled analysis. *J Clin Oncol*. 2002 Nov 15;20(22):4448-52. doi: 10.1200/JCO.2002.01.038.
- Westergaard T, Olsen JH, Frisch M, Kroman N, Nielsen JW, Melbye M. Cancer risk in fathers and brothers of testicular cancer patients in Denmark. A population-based study. *Int J Cancer*. 1996 May 29;66(5):627-31. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19960529)66:5<627::AID-IJC8>3.0.CO;2-V.
- Williams DH 4th, Karpman E, Sander JC, Spiess PE, Pisters LL, Lipshultz LI. Pretreatment semen parameters in men with cancer. *J Urol*. 2009 Feb;181(2):736-40. doi: 10.1016/j.juro.2008.10.023.
- Williamson SR, Delahunt B, Magi-Galluzzi C, Algaba F, Egevad L, Ulbright TM, et al. The World Health Organization 2016 classification of testicular germ cell tumours: a review and update from the International Society of Urological Pathology Testis Consultation Panel. *Histopathology*. 2017 Feb;70(3):335-346. doi: 10.1111/his.13102.
- Wood HM, Elder JS. Cryptorchidism and testicular cancer: separating fact from fiction. *J Urol*. 2009;181:452–461.
- Xing JS, Bai ZM. Is testicular dysgenesis syndrome a genetic, endocrine, or environmental disease, or an unexplained reproductive disorder? *Life Sci*. 2018;194:120–129.
- Yokoi K, Tanaka N, Furukawa K, Ishikawa N, Seya T, Horiba K, et al. Male choriocarcinoma with metastasis to the jejunum: a case report and review of the literature. *J Nippon Med Sch*. 2008;75:116–121.