

Doktori (Ph.D.) értekezés

A benignus felnőttkori teratoma gyakorisága, valamint összehasonlító molekuláris (FISH) és immunhisztokémiai vizsgálata a gyermekkori és a felnőttkori malignus esetekkel

Dr. Semjén Dávid

Doktori iskola: Klinikai Orvostudományok

Doktori iskola vezetője: Dr. Kovács L. Gábor

Program: Molekuláris patológiai és laboratóriumi vizsgálatok jelentősége az orvosi diagnosztikában és terápiában

Programvezető: Dr. Miseta Attila

Témavezető: Dr. Tornóczki Tamás

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Pathologiai Intézet

Pécs, 2018

Tartalom

1.	Bevezetés	6
1.1	A here fejlődése röviden	6
1.1.1.	A herék leszállása	6
1.1.2.	A descensus testis evolúciója, és a scrotum eredete – egy kis kitékintés	7
1.2.	A here daganatok epidemiológiája	8
1.3.	Csírasejtes daganatok, történeti áttekintés	10
1.4.	A here tumorok klasszifikációja: visszatekintés	10
1.4.1.	A 2004-es klasszifikáció hiányosságai	12
1.4.2.	A jelenlegi WHO klasszifikáció (2016)	12
1.5.	Germ cell neoplasia in situ (GCNIS)	13
1.5.1.	Egyéb intratubularis neoplazmák	14
1.6.	A csírasejtes daganatok fejlődéstani szempontból	16
1.7.	A here teratomái	21
1.7.1.	Postpubertális teratoma	21
1.7.2.	Prepubertális teratoma	21
1.8.	Genetikai aberrációk és hajlamosító gének	23
1.9.	Epigenetikai és embrionális tulajdonságok	24
1.10.	IMP3 irodalmi áttekintés	25
2.	Célkitűzések	27
3.	Anyag és módszer	28
3.1.	Anyagok	28
3.2.	Fluoreszcens in situ hibridizáció	28
3.3.	12p abnormalitások kiértékelése	30
3.4.	Fénymikroszkópia, immunhisztokémia	31
4.	Eredmények	34
4.1.	A benignus felnőttkori esetek hozzávetőleges gyakoriságának meghatározása. ...	34
4.2.	In situ csírasejtes neoplasia (germ cell neoplasia in situ, GCNIS), immunhisztokémia	35
4.3.	Szövetteni jellegzetességek	38
4.3.1.	Tumorméret	38
4.3.2.	Szövetteni összetétel	38
4.5.	FISH analízis	44
4.5.1	A kontroll minták vizsgálata	44
4.5.1.	A gyermekkori esetek vizsgálata	44

4.5.2. A felnőttkori esetek vizsgálata	45
5. Megbeszélés	47
5.1. Az átlag életkor jelentősége	47
5.2. 12p abnormalitás jelentősége teratomában	48
5.3. A szöveti jellemzők szerepe	49
5.4. IMP-3 expresszió jelentősége.....	50
6. Új eredmények összefoglalása	52
7. Köszönetnyilvánítás	53
8. Referenciák	54

Rövidítésjegyzék

<i>AR</i>	androgén receptor gén
<i>AZFc</i>	azoospermia faktor c régió gén
<i>BAK1</i>	BCL2 antagonista/ölő 1 gén
<i>CYP19A1</i>	citokróm P450 gén család 19A1 jelű tagja
<i>DMRT1</i>	here által termelt DM domén gén (Doublesex And Mab-3 Related Transcription Factor 1)
<i>EGC</i>	emrionális csírsejt (embyonal germ cell)
<i>ESC</i>	emrionális őssejt (embyonal stem cell)
<i>ESR2</i>	ösztrogén receptor 2 gén (estrogen receptor 2)
<i>GCNIS</i>	in situ csírsejtes daganat (germ cell neoplasia in situ)
<i>GCT</i>	csírsejtes tumor (germ cell tumor)
<i>GDF3</i>	növekedés differenciálódási faktor gén (Growth Differentiation Factor 3)
<i>GI</i>	genomikus imprinting
<i>HCG</i>	humán koriális gonadotropin
<i>HE</i>	hematoxin-eozin
<i>hnRNP</i>	heterogén nukleáris ribonukleoprotein
<i>HPGDS</i>	hematopoieticus proszttaglandin D szintáz gén
<i>HSD17B4</i>	hidroxiszteroid 17-Béta Dehidrogenáz 4 gén
<i>ICR1</i>	imprinting kontrol régió 1 gén
<i>IGCNU</i>	intratubularis csírsejtes daganat nem osztályozható típus (intratubular germ cell neoplasia unclassified type)
<i>IGF2</i>	inzulin növekedési faktor 2 gén
<i>IMP3</i>	mitokondriális riboszómális protein S4
<i>KIT</i>	őssejt növekedési faktor gén (Stem Cell Growth Factor Receptor Kit)
<i>KITLG</i>	KIT receptor ligandját kódoló gén
<i>LIN 28</i>	lin-28 homolog A gén
<i>LINE1</i>	long interspersed nuclear elements
<i>NANOG</i>	NANOG homeobox gén
<i>NSGCT</i>	non-seminomatosus csírsejtes daganat (non seminomatous germ cell tumor)
<i>OCT3/4 (POU5F1)</i>	octamer-binding transcription factor 3/4
<i>PDE11A</i>	foszfodieszteráz 11A gén
<i>PGC</i>	primordiális csírsejt (primordial germ cell)
<i>PLAP</i>	placentáris alkalikus foszfatáz
<i>PNET</i>	primitív neuroectodermális tumor
<i>PRMT5</i>	arginin metiltranszferáz 5 protein (Protein Arginine Methyltransferase 5)
<i>RLA</i>	retroperitonealis lymphadenectomia
<i>SNP</i>	egyponos nukleotid-polimorfizmus (single nucleotide polymorphism)
<i>SOX17</i>	szex meghatározó régió Y-box 17 gén
<i>SOX2</i>	szex meghatározó régió Y-box 2 gén (SRY-Box 17 gene)
<i>SPRY</i>	sprouty RTK signaling antagonist 2
<i>SRY</i>	szexmeghatározó régió gén

STELLAR (DPPA3) fejlődési pluripotenciállal összefüggő gén
TFAP2C östrogén receptor factor 1 gén (Transcription Factor AP-2 Gamma)
WHO World Health Organization

1. Bevezetés

1.1 A here fejlődése röviden

A nemi differenciáció kulcsa az *SRY* gén (szexdetermináló régió), mely az Y kromoszóma rövid karjának 11-es régiójában (Yp11) található. Az SRY fehérje hatása alatt a fejlődés hímnemű; hiányában nőnemű irányban indul meg (1).

A primordialis csírsejtek az epiblastból származnak és a megtermékenyítés negyedik hetében érik el a primitív gonádokat. Ha a primordialis csírsejtek nem jutnak el a primitív gonádokba, azok nem fejlődnek ki, ami bizonyítja a csírsejtek induktív hatásának szerepét, a here illetve ovárium kialakulásában (1).

A negyedik hónapban a here patkó alakot vesz fel, a herekötegek a rete testisben végződnek, és megjelennek a Sertoli–féle támasztősejtek is. A nyolcadik gesztációs héten megjelennek a Leydig-sejtek, megkezdődik a tesztoszteron termelés, valamint ennek hatására a genitális csatornák és a külső nemi szervek differenciálódása (1).

1.1.1. A herék leszállása

A második gesztációs hónap vége felé kialakul a gubernaculumnak nevezett, extracelluláris mátrixban gazdag tömör mesenchyma köteg, ami a here leszállását megelőzően a regio inguinalisban, a belső és külső hasizom között végződik. Amikor a here – pontosan nem ismert irányító faktorok hatására – az anulus inguinalis irányába vándorol, a gubernaculum egy része a scrotumtelephez húzódik. Később, amikor a here áthalad a lágyékcsatornán, a gubernaculum előbb említett része a scrotum aljához kapcsolódik. Úgy tűnik, hogy a gubernaculum ezen része lehet részben felelős a herék intraabdominalis vándorlásának iniciálásáért és a növekvő hasüregi nyomás segítségével – melyet a belszervek növekedése vált ki – jutnak át a canalis inguinalison és a 33. héten érkeznek meg a herezacskóba (1).

1.1.2. A descensus testis evolúciója, és a scrotum eredete – egy kis kitékintés

A scrotum kialakulását a descensus testis következményének tartjuk. A here eredetileg a veséhez közel fejlődik ki, majd a canalis inguinalison áthaladva a hasfal rétegeit maga előtt tolva kialakítja a scrotumot. Több emlős fajnál a here ezért teljesen a hasüregen kívül helyezkedik el.

Az elmúlt időkben számos feltételezés született a here testen kívüli elhelyezkedésének magyarázatára (2). A legnépszerűbb Moore nevéhez fűződik. Szerinte a spermatogenezishez ideálisabb a test maghőmérsékletéhez képest alacsonyabb temperatura. (3). Ezt a teóriát többen is kritizálták, Short pedig újra értelmezte ezt az elméletet. Szerinte nem azért van szükség a here leszállására, mert alacsonyabb hőmérséklet kell magához a spermatogenezishez, hanem mert így a mutációs ráta alacsonyabban tartható (4). Bedford szerint azonban nem a herének van szüksége a hűtésre, hanem az epididymisnek (5). Ezt a feltevést cáfolni látszik az a tény, hogy vannak olyan emlősök, melyeknél scrotum nincs, és az epididymis intraabdominalisan, vagy bőr alatt található (6). A galopp elmélet szerint a here kihelyeződésének oka, hogy az olyan állatoknál, amelyek sokat futnak, ugranak, a fluktuáló hasúri nyomás egy intraabdominalisan elhelyezkedő testis esetén a spermatogenezis lehetetlenné válna. Így azáltal, hogy a here a hasúri nyomástól távol a scrotumban helyezkedik el, védetté válik a nyomásingadozástól (7,8). Azt tudjuk, hogy a hasüregben elhelyezkedő here mérete nagyobb, mint a scrotumban elhelyezkedőé (9). Bedford szerint egy evolúciós kompromisszum lehet ennek hátterében, melyet úgy magyaráz, hogy a nagyobb here több spermiumot képes termelni, viszont a here leszállásának mértéke nagyobb spermium tárolási kapacitást jelent. Így kevesebb energiát kell fektetni a spermatogenesisre, anélkül, hogy csökkenne a fertilitás (10).

Ezen kívül több érdekes feltételezés is született. A training elmélet szerint azáltal, hogy a spermiumok egy hűvösebb, alacsonyabb oxigén koncentrációjú környezetben érnek, miközben saját metabolikus rátájuk magas, egyfajta edződésen mennek keresztül, hogy felkészüljenek a nőstény nemiszervekben uralkodó mostohább körülményekhez. A hipotézis szerint a csökkent vérellátás a magas metabolikus rátával oxigén szegény, „barátságatlanabb” környezetet teremt a spermiumoknak, ami inkább másodlagos hatás, mint evolúciós ok (9). Ruibal szerint a scrotumnak szexuális szerepe is van, ami önmagában bizonyára igaz; a herezacskó bizonyos emlős fajoknál igencsak színes, feltűnő, így szerepe feltehetőleg a nőstényeknek a szexuális potenciál jelzése (11).

Kleisner és munkatársai 2010-es tanulmányában egy jóval összetettebb szempontból közelítik meg a scrotum evolúcióját (2). Szerintük különböző fajokra különböző szelekciós

nyomás nehezedik, és ennek megfelelően alakul az egyes fajok scrotuma, illetve a here leszállás mértéke. Ezt négy érvel támasztják alá. Először is a hasüregben elhelyezkedő here különleges jellegzetessége az emlősöknek, mert például a kloákások rendjébe (például a kacsacsőrű emlős, hangyász sün) illetve az Afrotheria öregrendbe tartozó emlősöknél (pl. ormányosok, földimalacfélék) hiányzik a descensus testis, és a scrotum. Másodszor a scrotum kétszer is kifejlődött az erszényesek és Boreoeutheria öregrendbe tartozó állatok evolúciója során. Harmadszor azok az emlősök, akiknek a mozgása gyors, sokkal inkább hangsúlyos a scrotum jelenléte, ezzel összhangban viszont a Laurasiatheria öregrendjéhez tartozó néhány állatoknál, (pl. víziló) akiknél galopp nem figyelhető meg, újra elvesztették scrotumjukat. Negyedszerre, érdekes módon néhány tengeri emlős szintén elveszti scrotumát – ami az esetükben ésszerű -, viszont kifejlődött bennük egy intraabdominalis gonád hűtő rendszer. Utóbbi megfigyelés a testis alacsonyabb hőmérsékleti igényére mutat rá.

1.2. A here daganatok epidemiológiája

A here csírasejtes daganatai nagyrészt fiatalokban fordulnak elő, az incidencia a harmincas évek közepén éri el a maximumát, ez alól szinte csak a spermatocytás tumor (korábbi nevén spermatocytás seminoma) az egyetlen kivétel, melynek incidenciája az ötvenes évek közepén tetőzik. Egy kisebb esetszám emelkedést látunk még a korai gyerekkorban (4 éves kor előtt), valamint idősebb korban, mely utóbbi tumorok legtöbbször lymphoid eredetűek (12).

A daganatok között a here csírasejtes tumorai (GCT) mutatják az egyik legszorosabb asszociációt a pozitív családi anamnézissel (13). Az egyik legnagyobb kutatás szerint, ha egy fiútestvér here daganatban szenvedett, a heretumor kockázata 3-8x-os, illetve here daganatos férfi fiánál a daganat előfordulásának esélye 2-4x-esre nő a normál populációhoz képest (14,15).

A here csírasejtes daganatainak gyakorisága földrajzi helytől függően jelentősen változik, az 1/100.000 főtől (Ázsia, Afrika országai) 9/100.000 főig (skandináv országok) terjed (16-19), az incidencia az elmúlt 20 évben gyenge emelkedést mutat (20,21).

Számos tanulmány kimutatta a magasabb előfordulási arányt diplomásoknál, illetve magasabb szocioökonómiai státuszban lévő férfiaknál (18,19, 22-28). Szintén gyakrabban jelenik meg olyan foglalkozások körében ahol műtrágya, fenol, hő, füst, vagy pára (29) expozíciónak vannak kitéve a dolgozók. Veszélyeztetettek a mezőgazdasági munkások (23,30), élelmiszer iparban dolgozók (23), bányászati munkások (31,32), pesticidekkel foglalkozók (33), fémipari munkások (34), rendőrök (35) (radar expozíció), repülőgép szerelők

(36,37), halászok, papír és nyomdai munkások, erdészek (22), de érdekességképpen a magasabb testalkatúak (38) is akikben szintén gyakoribb az előfordulás. További kutatások lehetséges etiológiai összefüggést találtak a magasabb in utero ösztrogén szint (39-42), az étrend vastartalma (43), a here trauma (44), a különböző HLA haplotípusok (45-52), az emlőrák előfordulása a családban (53), a korai pubertás (53,54), a dizygota ikrek (55,56), az ichthyosis (57), a Marfan-szindróma (58), a Li Fraumeni szindróma (59), az alacsony születési súly, a testvérek száma (több testvér alacsonyabb rizikó) (60), az elsőszülöttség (60,39), valamint a dysplasticus naevus szindróma (61) és a here tumorok között. Az előbb említett okok azonban csak gyenge korrelációt mutatnak és nem tehetők felelőssé a here daganatok gyakoriságának lassú emelkedéséért. Feltételezik, hogy a malignus csírasejtek kialakulásáért felelős legfontosabb tényezők az antenatális életszakaszban fejtik ki a hatásukat.

Érdekesség, hogy a II. világháború alatt született európai férfiak körében a hererák gyakorisága alacsony; ez felvetheti annak lehetőségét, hogy a hererák összefügg a társadalmi jóléttel, illetve ennek in utero közvetett hatásaival (62-64). Különböző kemikáliák, melyek az endokrin rendszert zavarják meg (pl. ftalátok, melyek a műanyagokban találhatóak meg) okai lehetnek a csírasejtes here daganatoknak, illetve a testicularis dysgenesis szindrómák kialakulásában is szerepet játszhatnak (65-68). Úgy tűnik azonban, hogy az alkoholfogyasztás, a dohányárak használata, a vasectomia valamint az ionizáló sugárzás nincs összefüggésben a here csírasejtes daganatainak kialakulásával.

Négy tényező azonban bizonyítottan nagymértékben hajlamosít csírasejtes daganat kialakulására: 1) cryptorchismus (69, 70), 2) korábbi here daganat az anamnézisben (71-75), 3) here daganat a családi anamnézisben (elsőfokú rokon) (76-79), 4) kevert ivarú szindrómák (androgén érzéketlenségi szindróma, gonaddysgenesis) (71, 80-85)

1.3. Csírasejtes daganatok, történeti áttekintés

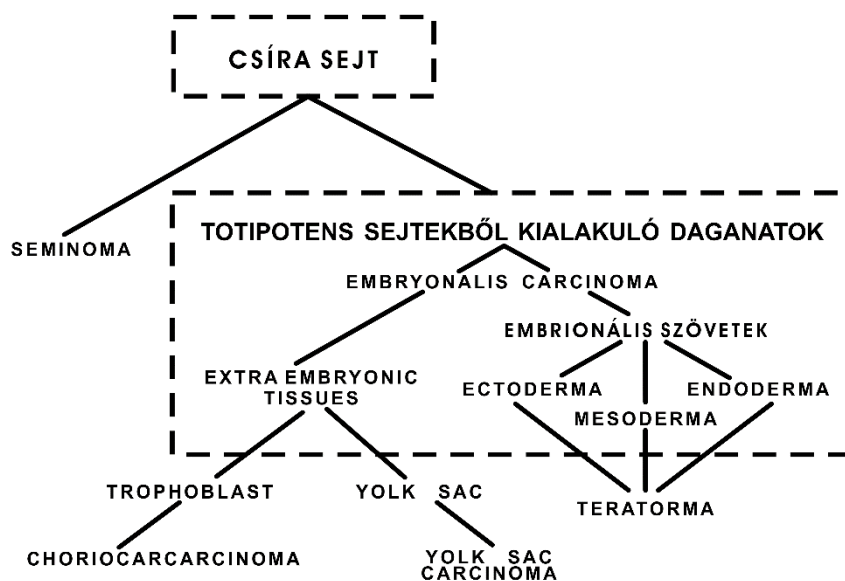
A here csírasejtes daganatairól, valamint a here teratomáról az első áttekintő közlemény 1911-ből James Ewingtól származik (86). Ewing cikkében összefoglalta az akkori, a tumorok keletkezésével kapcsolatos, kissé zűrzavaros teóriákat, melyek többek között metapláziával, részleges hermafroditizmussal, Wolff és Müller cső eredettel, ectopiás mellékvese eredettel, vagy a foetus inclusiojával magyarázta a here csírasejtes daganatainak kialakulását. (87-92).

A testicularis tumorok modern szemletét Friedman és Moore alapozta meg 1946-ban (93), amikor is a II. világháború alatt összegyűjtötték és vizsgálták a katonákban kialakuló here daganatos eseteket. Megállapították, hogy a katonaköteles korban lévő férfiaknál kialakuló here daganatok 95%-a csírasejt eredetű. Egér kísérletekkel megerősítették azt a teóriát, hogy a csírasejtek, nevezetesen a primordiális csírasejtek és/vagy gonocyták azok a sejtek melyekből a benignus és malignus teratomák származnak (90). Később leírásra került a carcinoma in situ is (94), ami jelenlegi tudásunk szerint a legtöbb csírasejtes daganat prekuzora és, ami minden kételetyt eloszlattott a tekintetben, hogy a legtöbb here tumor csírasejtes eredetű.

1.4. A here tumorok klasszifikációja: visszatekintés

Az első modern klasszifikáció Friedmann és Moore nevéhez fűződik, akik 1946-ban a testicularis tumorok 96%-át 2 osztályba sorolták: 1) seminoma (germinoma), 2) embryonalis carcinoma mely három alcsoportot tartalmazott; nevezetesen a choriocarcinómát, a teratomát és a teratocarcinómát (93). Ezt a beosztást finomította, kissé módosította Dixon és Moore 1952-ben, akik a csírasejtes daganatokat 5 csoportra osztották: 1) seminoma, 2) embryonalis carcinoma 3) teratoma, 4) teratoma embryonalis carcinomával, choriocarcinomával, carcinomával vagy sarcomával, valamint 5) choriocarcinoma (95).

Később Pierce és Abell (1970) úgy gondolták, hogy a malignus csírasejtek két úton fejlődhetnek daganattá: az első út az abortív spermiogenesis, mely seminoma kialakulásához vezet, míg a második – melyet a 1. ábra szemléltet – totipotens sejtekből származik, mely elsőként embryonalis carcinoma sejteket eredményez, melyek az embryonalis carcinómát építik fel, majd ebből (intra)embryonalis és extraembryonalis szövetek (daganatok) differenciálódhatnak, melyek komplex kevert tumorokat eredményeznek teratoma, choriocarcinoma és yolk sac carcinoma elemekkel (96).



1. ábra. Az 1970-es Pierce and Abell féle felosztás (96)

Az eddig említett felosztásokat alapvetően egér kísérletek során nyert experimentális adatok alapján vezették be, azonban az andrológusok és az onkológusok túl komplexnek találták ezért a WHO szakértői Mostofi és Serov (1977) vezetésével morfológiai klasszifikációt javasoltak mely a here csírsejtes daganatait két fő osztályba sorolta: a tiszta (egy típusú sejtől származó), valamint a több mint egy féle sejtől származókra (97). Ezzel egy időben, a WHO beosztással versengő, Brit (TTPR) osztályozás is napvilágot látott (Pugh 1976), mely a testicularis csírsejtes daganatokat három kategóriába osztotta: 1) seminoma (mely tartalmazta a spermatocytás seminomát is), 2) teratoma, és 3) kevert seminoma-teratoma csoport. A teratoma csoportot további alcsoportokra osztották úgymint differenciált teratoma, intermediér malignitású teratoma, malignus differenciálatlan teratoma, illetve malignus throphoblastos teratoma (98).

Később a 2004-es WHO klasszifikáció, támogatva az 1977-es beosztást, alapvetően megtartotta a morfológiai megközelítést (Eble és tsaí 2004), elkerülve a zűrzavart a nevezéktanban egységesítette azokat és utalt a TTRP beosztásra is mely a világ egyes részein rutinszerűen használatban volt (99).

A klinikai gyakorlatban mindinkább szokássá vált a csírsejtes daganatokat két fő kategóriába sorolni, mint: seminoma és non-seminomatosus csírsejtes daganatok (NSGCT). A NSGCT csoport magába foglalta az embryonalis carcinomát teratoid elemekkel vagy a nélkül, valamint a yolk sac tumort és a choriocarcinomát. A teratocarcinoma elnevezés a malignus

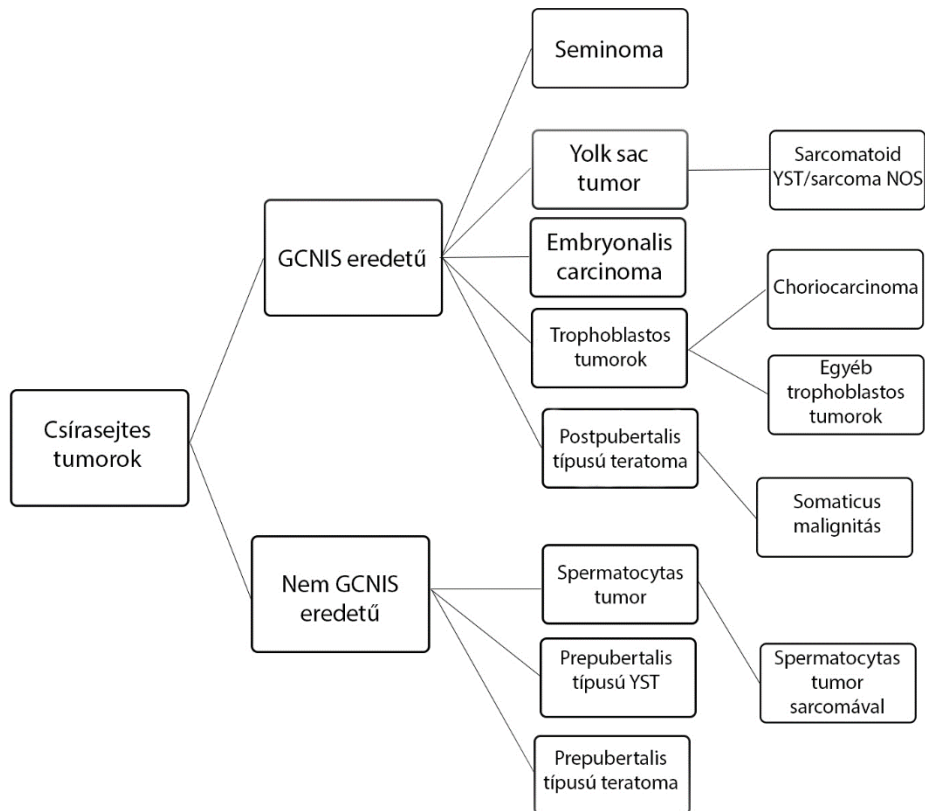
teratoma embryonalis carcinoma sejtekkel entitást jelölte, a „sejtekkel” meghatározást később kimaradt a nevezéktanból és manapság már ritkán használják a humán daganatoknál (az kísérleti és állatpatológiában azonban még ma is használatban van) (87).

1.4.1. A 2004-es klasszifikáció hiányosságai

A 2004-es felosztás a here teratomáit alapvetően 2 nagy csoportra, a prepubertális, gyermekkori illetve a postpubertális felnőttkori típusokra osztotta fel (99). A prepubertális benignus daganatnak, míg a postpubertális metasztatizáló hajlammal rendelkező, kisebb részben tisztán, döntően azonban kevert csírasedes tumorok részeként előforduló egyértelműen malignus daganatnak tartotta. Az utóbbi években azonban két közlemény – köztük sajátunk – beszámolt arról, hogy pubertás kor után, felnőttkorban (postpubertális herében) is létezik benignus típusú teratoma (100, 101). Ezzel ellentétben azonban a klinikai-pathológiai gyakorlat – tulajdonképpen a mai napig – az, hogy minden postpubertális herében előforduló teratomát (legyen az hisztológiai megjelenését tekintve érett vagy éretlen) malignusnak kell tartani, és az érvényes kezelési protokoll szerint stádiumtól függően kemoterápiát kell adni, szükség esetén retroperitonealis lymphadenectomiával (RLA) kiegészítve, amely igen megterhelő és egy bizonyítottan benignus daganat esetén felesleges is.

1.4.2. A jelenlegi WHO klasszifikáció (2016)

Az aktuális WHO osztályozás a legújabb – köztük a PTE Patológiai Intézetben is végzett – kutatások eredményeire alapozva részben kiszűrte a 2004-es hiányosságait, valamint patogenetikai eredet alapján felosztotta a daganatokat prepubertális, valamint postpubertális típusokra. Ezzel együtt a korábbi intratubular germ cell neoplasia unclassified type (IGCNU) elnevezés germ cell neoplasia in situ-ra (GCNIS) módosult, mint a postpubertális tumorok perkurzor léziója, valamint elismerte a ritka, benignus prepubertális teratoma létezését felnőtt herében. Emellett a spermatocytás seminomát átnevezték spermatocytás tumorrá, hiszen mind morfológiailag mind patogenetikailag független a seminomától (102). (2. ábra)



2. ábra. A here csírasejtes tumorainak legújabb, 2016-os WHO beosztása

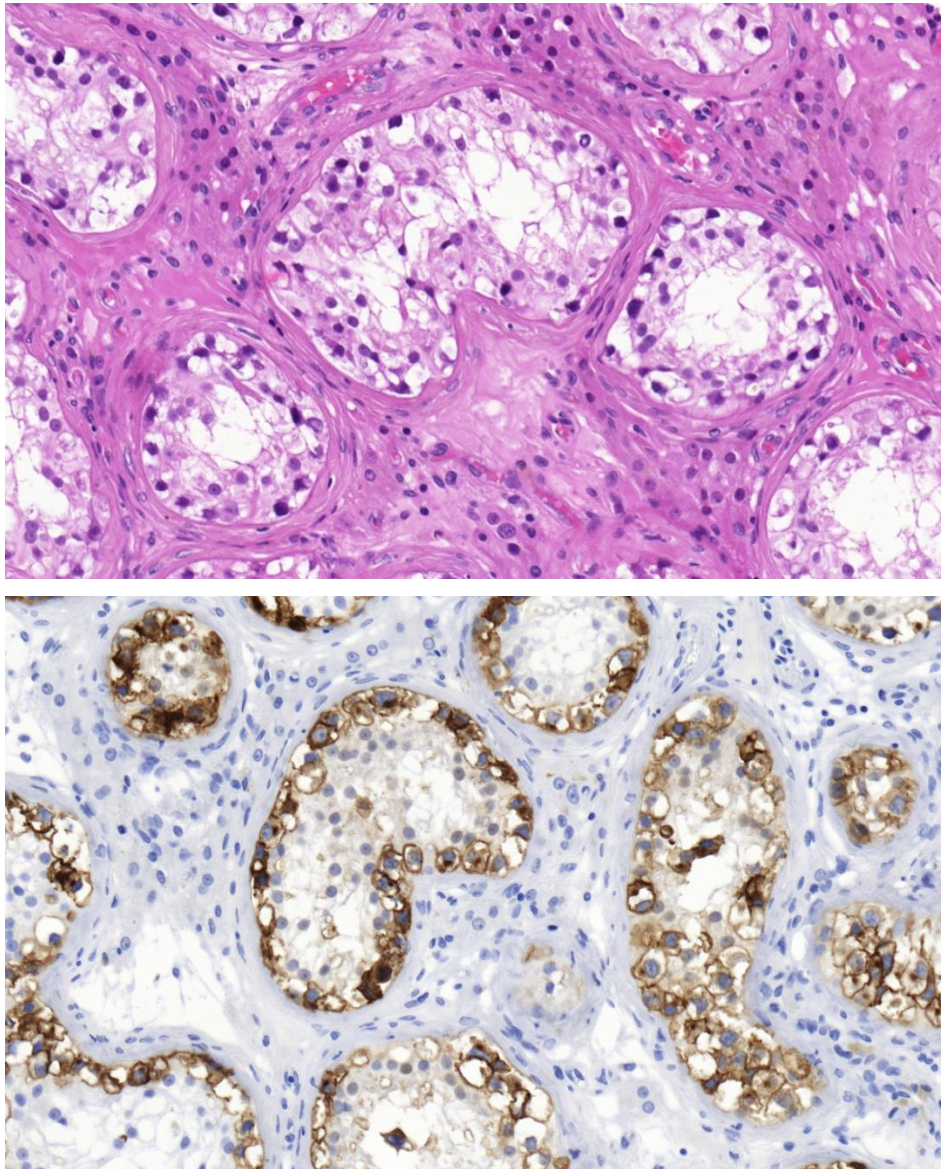
1.5. Germ cell neoplasia in situ (GCNIS)

A legújabb beosztás megszüntette az intratubular germ cell neoplasia unclassified type (IGCNU) megnevezést és elfogadta a germ cell neoplasia in situ-t. A megnevezés a két leggyakrabban használt elnevezés, az IGCNU és a carcinoma in situ „egyesítéséből” született meg (102).

Mára elfogadottá vált, hogy a malignus csírasejtes daganatok– a spermatoctás tumor és a gyermekkori yolk sac tumor kivételével – seminomaszerű sejtekből álló prekursor lézióból erednek, melyek megnagyobbodott, hyperchrom maggal, sokszor prominens nukleolusszal, valamint széles világos citoplazmával rendelkeznek és a herecsatornácskák basalis membránja mentén helyezkednek el. (103-105,94)

Normál spermatoctogenezis a GCNIS mellett nem azonosítható, és ezek a neoplasztikus sejtek – hasonlóan a seminoma sejtszeteihez – pozitívak többek között egy embryonalis őssejt markerrel az octamer-binding transcription factor 3/4 (OCT3/4-el, vagy másként POU5F1) (106), illetve placentáris alkalikus foszfatázzal (PLAP) is. (3. ábra)

Hozzávetőlegesen a GCNIS esetek 50%-a öt és legalább 70%-a hét éven belül malignus csírasejtes daganatba progrediál (107,108).



3. ábra. GCNIS hematoxilin-eozin (HE) (A) és PLAP (B) immunhisztokémiai metszete. Jól láthatóak a hiperkróm maggal, prominens nukleólusszal, széles, világos citoplazmával rendelkező sejtek, melyek PLAP-val élénk citoplazmális, valamint membrán pozitivitást mutatnak.

1.5.1. Egyéb intratubularis neoplazmák

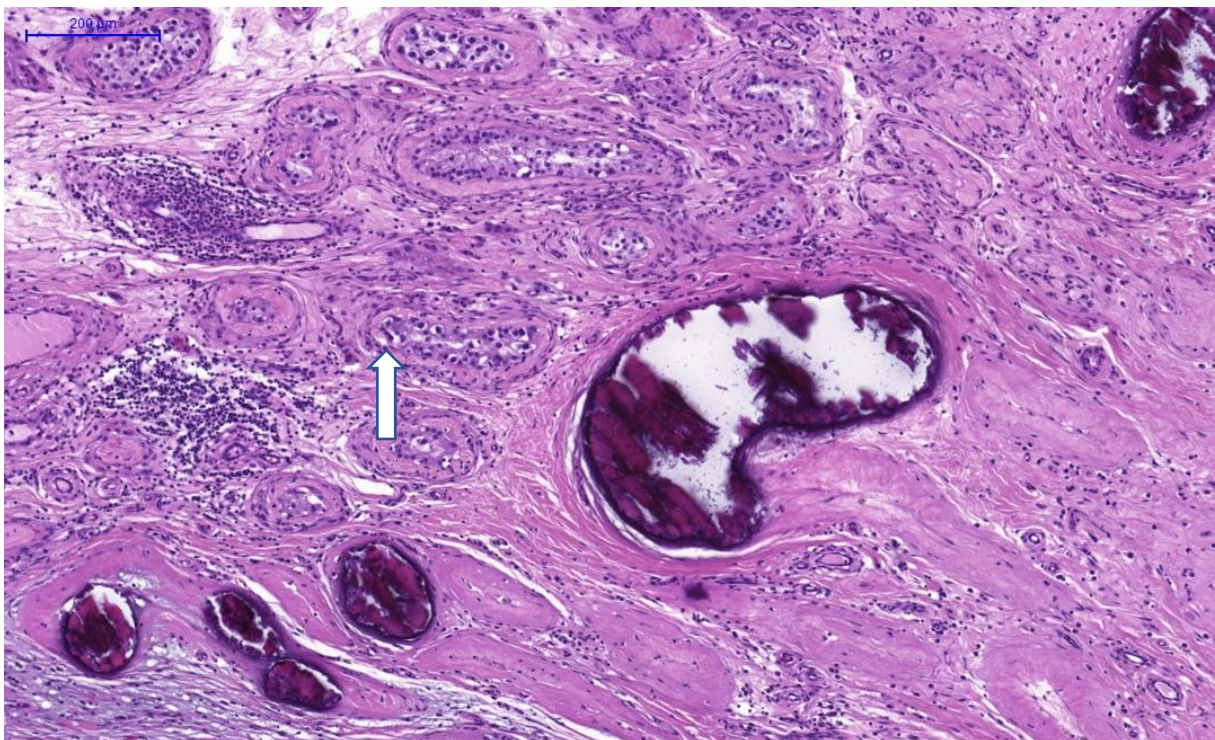
Az egyéb intratubularis neoplazmák jelentősége kevésbé világos, mint a GCNIS-é. Példának okáért az intratubularis seminoma teljes mértékben kitöltheti a herecsatornácskát, azonban ebben az esetben a seminiferus ductusok normál architektúrája teljesen eltűnik (Sertoli sejtek hiányoznak) és a csatornácskák átmérője is sok esetben megnövekszik (109-111). Hasonló az embryonalis carcinoma intratubularis terjedése is, mely sokszor intratubularis

nekrózissal és kalcifikációval is együtt járhat, ami tumor regresszió részjelenségének is tekinthető (4. ábra) (110-113).

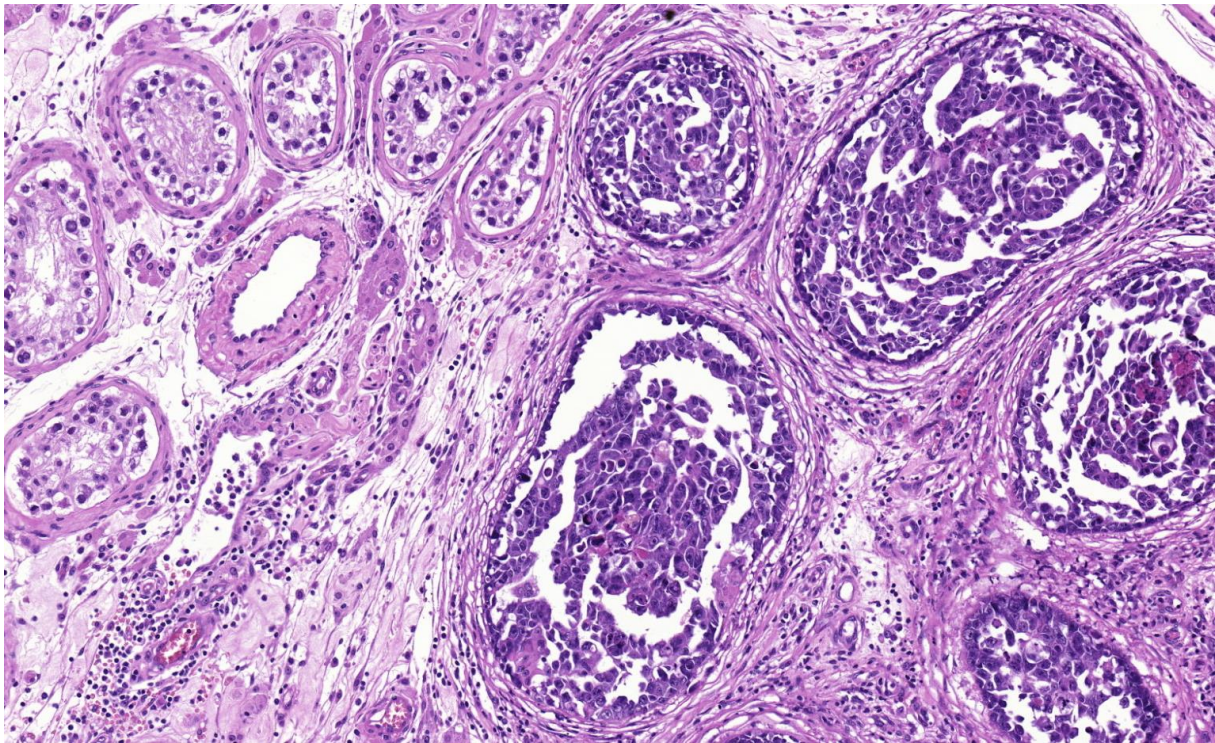
Érdekes kérdés, hogy az előbb említett intratubularis tumorok vajon előrehaladott prekursor lézióknak, vagy egy már invazív tumor retrográd terjedésének tekintendők? (109,111,112) Az intratubularis seminoma nagy valószínűséggel előrehaladott GCNIS-nek tartandó, mivel seminomatosus és non-seminomatosus daganat mellett is megtalálható, hasonlóan a GCNIS-hez (109). Ezzel ellentétben az intratubularis embryonalis carcinoma ritkán található meg egymagában invazív, non-seminomatosus daganat nélkül (111) ami azt a feltételezést erősíti, hogy egy invazív daganat retrográd terjedéséről van szó (102) (5.ábra).

Intratubularis trophoblast sejtek alkalmanként szintén megfigyelhetők a csírasejtes daganatok környezetében. A kutatások szerint az intratubularis trophoblastok szinte kizárólag olyan seminomák környezetében láthatóak, amelyek maguk is tartalmaznak trophoblastokat. Jóval ritkábban találhatóak hCG pozitív intratubularis sejtek a nem seminomatosus és kevert csírasejtes daganatok környezetében, de az invazív összetevő ezen esetekben is tartalmaz trophoblastokat (115).

A spermatocytás tumor (korábban spermatocytás seminoma) esetében is gyakran meg lehet figyelni intratubularis komponenst, mely esetleg prekursor lézióként értelmezhető. (116,117)



4. ábra. Intratubularis kalcifikáció, mely mellett kiterjedt GCNIS (nyíl) is megfigyelhető.



5. ábra. Embryonalis carcinoma intratubularis terjedése (jobb oldal). Baloldalon kiterjedt GCNIS látható.

1.6. A csírasedes daganatok fejlődéstani szempontból

J. Wolter Oosterhuis és Leendert H.J. Looijenga évtizedes kutatásainak eredményeképpen a WHO beosztástól merőben eltérő rendszerben foglalja össze a human csírasedes daganatokat (ti. ebben a rendszerben nem csak a here, hanem az összes csírasedes daganat az ébrényi sejtek érettségi állapotát alapul vevő logika mentén van rendszerezve.) (118,119)

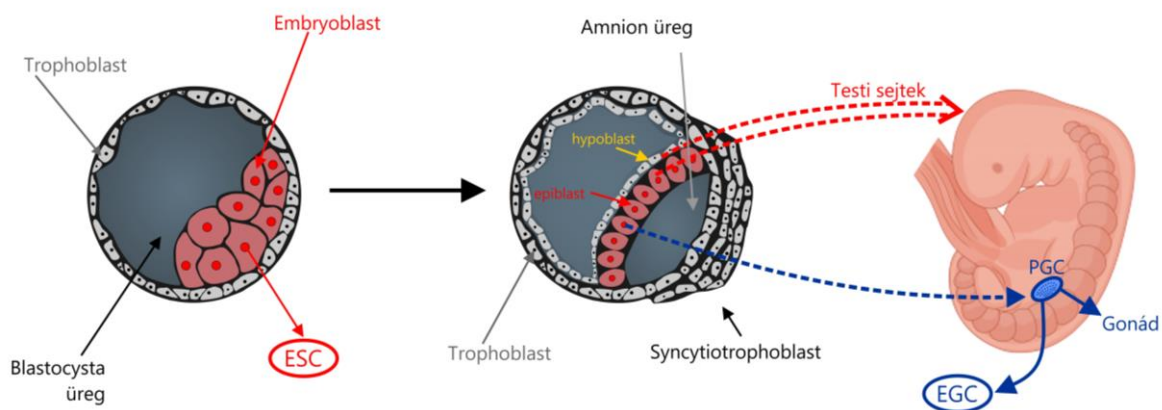
Az emlős ébrény szabályos fejlődésmenetéhez mindkét szülőtől származó (biparentális) genomikus imprintingre (GI), (120-122) illetve specifikusan metilált intakt genomra és nőneműekben az X kromoszóma inaktivációjára van szüksége (123,124). Az emlősökben a GI az a jelenség, ami által bizonyos - szülő specifikus, itt nem részletezett DNS metiláció és histon modifikáció miatt - gének expressziója attól függ, hogy anyai vagy apai eredetűek. (125) A GI ciklusa azzal kezdődik, hogy a zygotában lévő eredeti biparentális imprinting a primordiális csírasedesekben (PGC) törlődik. Később a spermatogenezis (hímivarsejt) és az oogenezis (petesejt) kialakulása során az előbbibe apai, míg utóbbiba anyai imprinting „újra épül”. (126)

Csak a blastomér (2-16 sejt laza halmaz) sejtjei rendelkeznek a zygota teljes fejlődési potenciáljával (omnipotencia) (127), később a blastomér és az embrioblastban illetve az epiblastban lévő embrionális őssejtek fejlődési/differenciálódási potenciálja csökken, ahogy

elköteleződnek az egyes szövetek és szervek fejlődésének az irányába (128), beleértve a csírasejtvonalat is, melynek sejtjei arra specializálódnak, hogy tovább vigyék az omnipotenciát a következő generációba. (129,130)

Többségében egérben végzett kutatások bizonyítják, hogy a fejlődési potenciál fenntartásáért az OCT3/4-nek is fontos szerepe van a fejlődő embrióban (130-134). Kezdetben, a morula (szedercsíra) összes, később csak az, az implantáció után pedig csak az epiblast exprimálja. A primordiális csírasejtek is az epiblastból származnak, melyek szintén folyamatosan OCT3/4-et exprimálnak, mely fenntartja a csírasejtek érését egészen addig a pontig, amíg belépnek a meiosisba, ez után már nincs expresszió. (135) A humán magzatban az OCT3/4 nyolcsejtes állapotban kezd kifejeződni (136) és normálisan 6 hónapnál idősebb fiú csecsemőben, vagyis a férfi primordiális csírasejtek mitotikus arrestjétől kezdve már nem lehet kimutatni (137).

A csírasejtvonal bonyolult szabályozásáért, fenntartásáért számos egyéb fehérje is felelős (NANOG, STELLAR, GDF3) (138,139); kezdetben a SOX17 majd később a SOX2, az OCT3/4-el szorosan együttműködve, (140) a primordiális csírasejtek (PGC) sorsát határozza meg, BLIMP1 expressziót indukálva, mely elnyomja a szomatikus géneket egérben (140), és valószínűleg védi a totipotenciáját is. A migráló PGC csíravonal specifikus demetiláción esik át, illetve egy bizonyos PRMT5 protein is felszaporodik, mely a demetilált genomot védi (124,140). A KIT a primordiális csírasejtek túléléséért és szaporodásáért felel (141), valamint kapcsolatot alakít ki a szimpatikus idegrendszer és a gasztrointestinalis rendszer között (a szimpatikus idegrendszer mentén tévesen maradó csírasejtek adhatnak magyarázatot az extragonadalis csírasejtes daganatokra) (142-145). PGC a szimpatikus idegrendszer mentén, azt követve jutnak el a gonádokba, majd a gonádokban a PGC-ek (innenről kezdve már gonocyták) teljesen elvesztik a biparentális GI-jüket is (146,147). A korai PGC-ekből, melyek GI-üket nem vesztették el, pluripotens embrionális csírasejtek (EGC) fejlődnek ki, míg a késői PGC-ekből – melyek teljesen elvesztik a biparentális GI-jüket – alakulnak ki az olyan EGC-ek melyek a totipotens embrionális őssejtek (ESC) tulajdonságaival rendelkeznek (lásd később). Párhuzamosan tehát az epigenetikai státusz változásával, a PGC-ek fejlődési potenciálja toti- vagy pluripotens is lehet (lásd később) (118). (6 ábra)



6. ábra. A 4. napos blastocysta az embrioblast sejtjeivel, melyekből az ESC-ek alakulnak ki. Ezek a sejtek totipotensek. A 8-9. napon kialakul többek között az epiblast és a hipoblast, melyekből a testi sejtek fejlődnek. Az epiblastból származnak a PGC-ek is. Pirossal a biparentális imprintinggel rendelkező, kékkel a GI teljesen töröltött sejtek láthatóak.

Az őssejtek fejlődési potenciálja tehát az embrióban a különböző fejlődési stádiumokban eltérő. Korlátlan fejlődési képessége a blastoméréknek van (118). Ezek a sejtek még nem demetilálódtak, a parentális imprinting nem töröltött, – leány magzat esetében – az X kromoszóma még nem inaktiválódott, és az OCT3/4, valamint SOX2 gének is inaktívak (148). Ezt a stádiumot ezért omnipotensnek nevezzük. (118)

A preimplantációs embrió embrioblast és epiblastt sejtjeiből származó ESC-nek van a többi ESC-vel összehasonlítva a legszélesebb fejlődési potenciálja; két aktív X kromoszómával (leány magzatokban), embrionális és extraembrionális szövetek, valamint csírasejtek képzési potenciáljával. (118) Ezek a sejtek képesek az önmegújításra, de már OCT3/4 és SOX2 expresszió jelen van. Ez a stádium az úgynevezett naív, vagy totipotens állapot.

Azok az őssejtek melyek a postimplantációs epiblastból származnak, a csökkent NANOG expresszió miatt sok, a fejlődési potenciált fenntartó faktort nem, vagy csökkent mértékben termelnek. Ezek a sejtek már olyan epigenetikai tulajdonságokkal rendelkeznek melyek összeférhetetlenek a totipotens állapottal; (például az X-inaktiváció leány magzatokban) (118). Ezen sejtekből származnak a szomatikus sejtek és már nem képesek extraembrionális szövetek, valamint csírasejtek képzésére, az önmegújító képességük is korlátozott OCT3/4 és SOX2 termelődik (118). Ezt az állapotot pluripotensnek nevezzük. (118)

Oosterhuis és Looijenga mélyreható kutatásai szerint a korai embrió őssejtjeinek, fejlődési potenciáljában keletkező regulációs zavarok főleg extragonadalis tumorok keletkezéséhez vezetnek az első életévekben. A csíravonal egyes sejtjei fejlődési potenciáljának szabályozási hibái széles spektrumot átfedő, az adott sejt előalak fejlődési potenciáljának

megfelelő, főként az ivarszerveket érintő daganatokhoz vezet, melyek klinikailag leginkább a gyermekkor után jelennek meg (118).

E fentiek alapján Oosterhuis és Looijenga a csírasejtes daganatokat hét csoportba sorolta, az életkor, a genetikai nem, az anatómiai lokalizáció, a fenotípus/fejlődési potenciál, a fejlődési állapot, a prekursor sejt, GI, kariotípus valamint állatmodellekből szerzett tapasztalatok alapján. Az osztályozás egyszerűsített verzióját mutatja a 1. táblázat (118).

GCT típus	Életkor	Nem	Anatómiai hely	Fenotípus	Fejlődési állapot	Prekurzor sejt/metiláció	Imprinting
0	Újszülött	Férfi/Nő	Retroperitoneum / koponya/sacrum/ kemény szájpád	Foetus in foetus, parazita ikrek	Omnipotens	Blastomer	Biparentális
I	Újszülött és gyermek 6 éves korig; ritkán gyermekkor után	Férfi/Nő	Here/ovárium/ sacrum/ Retroperitoneum /elülső mediastinum/ nyak/agy középvonal/ egyéb ritka lokalizáció	(éretlen) teratoma/Yolk Sac tumor	Pluripotens	metilált PGC/gonocyta	Biparentáli; részlegesen törlődött
II	Gyakran pubertás után; nemi fejlődés zavaraiban, Klinefelter és Down szindrómában ritkán pubertás előtt	Túlnyomóan férfiakban	Dysgeneticus gonád/ here/ ovárium/ elülső mediastinum (thymus)/ agy középvonal (tobozmirigy)	Seminoma/dys germinoma/ger minoma/non- seminoma/ non- dysgerminoma/ non- germinoma	Totipotens	hipometilált PGC/gonocyta	Törlődött
III	Általában idősebb férfiakban 55 éves kor után	Férfi	Here	Spermatocytás tumor	Spermatogoniu; premeiotikus spermatocyta	Spermatogonium /spermatocyta	részlegesen vagy teljesen apai
IV	Pubertás után	Nő	Ovárium	Dermoid cysta	Omnipotens	Oogonia/oocyta	részlegesen vagy teljesen anyai
V	Pubertás után	Nő	Placenta/uterus	Mola hydatidosa	Omnipotens	üres petesejt/spermato zoa	Teljesen apai
VI	Idősebb korban 60 éves kor után	Férfi/Nő	Ovárium és atípusos helyek	I típusúra, vagy II non- seminomatosus daganatra hasonlít	Pluripotens vagy non- seminomatosus totipotens fejlődési sor	Indukált pluripotens szomatikus sejt	Az eredeti prekurzor sejt imprintingje

1. táblázat. A csirasejtes daganatok Oosterhuis és Looijenga féle beosztása.

1.7. A here teratomái

1.7.1. Postpubertális teratoma

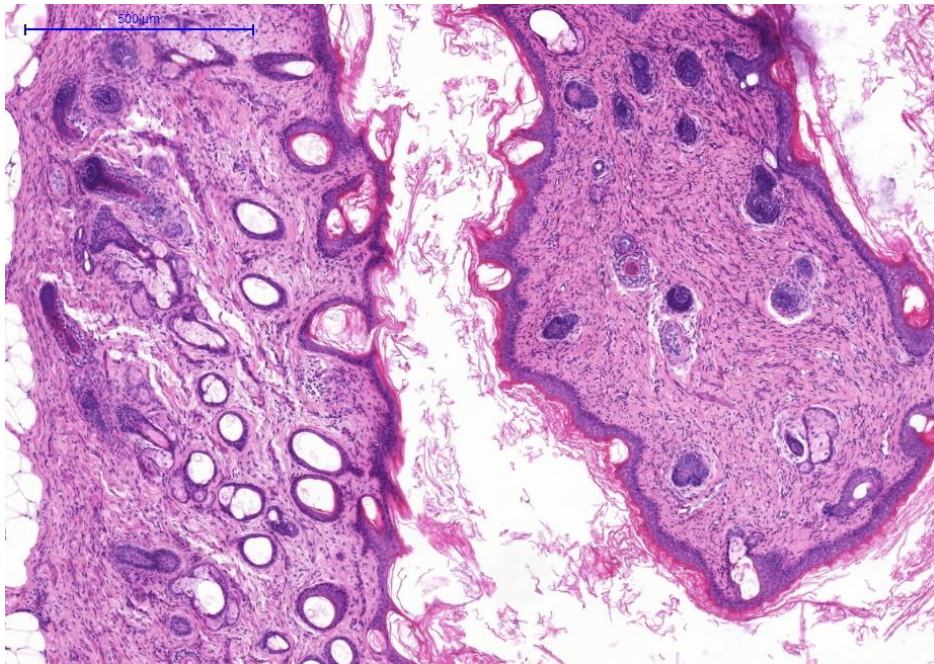
A 2016-os felosztás egyik legfontosabb újítása, a here teratomák felosztása postpubertális illetve prepubertális formákra. A jelenlegit megelőző beosztás szerint a teratomák más csírasejtes daganatokból származnak, ezért szinte mindig található mellettük GCNIS, következésképpen a metasztázis tartalmazhat teratoid vagy más csírasejtes malignus daganat összetevőt is. (99) Ezért a nyilvánvalóan tiszta postpubertális teratomákat a mai napig malignus csírasejtes daganatnak tartják, tekintet nélkül arra, hogy érett vagy éretlen elemeket tartalmaz a daganat, melynek nincs prognosztikai jelentősége, ezért sem a mostani, sem az előző beosztás nem tett különbséget a daganatok között-e tekintetben. (117, 99,)

A postpubertális teratomákból különböző másodlagos, szomatikus malignus daganatok származhatnak, melyek lehetnek: sarcomák (leggyakrabban embryonalis rhabdomyosarcoma, ritkábban leiomyosarcoma vagy angiosarcoma), primitív neuroectodermális tumor (PNET), carcinomák, gliális és meningeális neoplazmák, hematológiai tumorok, valamint nephroblastoma-szerű tumor. (150-161) A legtöbb ilyen daganat a teratoma valamely összetevőjéből áll, ezért azt gondoljuk, hogy ezek a tumorok másodlagos szomatikus neoplazmák, melyek a teratoma egy adott részéből származnak. (161) Ezeket a másodlagos szomatikus tumorokat szokták „másodlagos daganatnak” vagy „teratoma malignus transzformációjának” hívni, ez utóbbi azonban nem szerencsés, mert azt sugallja, hogy a postpubertális teratoma egyébként nem malignus, mely természetesen téves. (102)

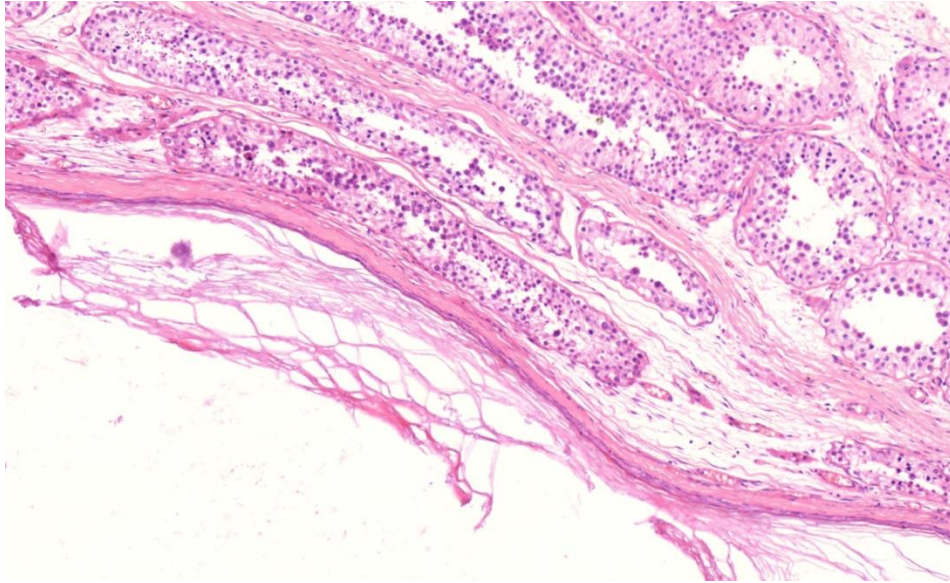
1.7.2. Prepubertális teratoma

A here csírasejtes daganatait érintő kutatások között mérföldkőnek számít a prepubertális teratoma elkülönítése a postpubertálistól, melyhez az intézetünkben, a nemzetközi kutatásokkal párhuzamosan zajló munkák is hozzájárultak. Míg a postpubertális teratomák egyértelműen malignus csírasejtekből származnak és szinte minden esetben megfigyelhető GCNIS a környező tumormentes hereállományban, addig a prepubertálisra a GCNIS hiánya mellett a legtöbbször organoid, érett, non-dermalis (intestinalis, respiratoricus, tubalis stb.) szövetek megjelenése, valamint a legtöbb, herében előforduló csírasejtes daganatban jelen lévő 12p nyeres hiánya jellemző. Mindemellett – ellentétben a malignus felnőttkori esetekkel – a tumor markerek következetesen negatívak, és áttéteket sem írtak le. (100,101, 162-165)

Habár a megnevezés nem erre utal, a prepubertális (gyermekkori) teratoma nem kizárólagosan gyermekekben fordul elő, sőt kutatásaink szerint a felnőttkori esetek száma a gyermekkoriakét nominálisan meg is haladja. (166) A benignus testicularis teratomák eseteiben gyakran figyelhető meg dermoid és/vagy epidermoid cysták (7A ábra). Az epidermoid cysta könnyen felismerhető a laphám béléséről, keratin tartalmáról, mely mellett egyéb adnexális struktúrák nem azonosíthatóak. A dermoid cysta definíciója történetileg kissé ellentmondásos, amennyiben vita tárgyát képezi, hogy vajon egyéb nem-dermális elemek, mint a porc, csont, vagy hasnyálmirigy szövetek megengedhetőek-e benne. (167) A prepubertális teratomákban előforduló epiteliális elemekkel szemben, azon epidermoid cysták, melyek postpubertális herében kialakuló prepubertális csoportba tartozó teratomában jelennek meg, nem tartalmaznak bőr adnexális elemeket, helyette gyakran laphámmal bélelt cystákból, (7B. ábra) és ciliált szeromucinosus epitheliumból épülnek fel körkörös simaizommal (100).



7A. ábra. Dermoid cysta HE metszete gyermekkori teratomából



7B. ábra. Epidermoid cysta felnőttkori benignus teratomában. A széli részen megtartott szerkezetű herecsatornácskák mutatkoznak, GCNIS nem azonosítható.

1.8. Genetikai aberrációk és hajlamosító gének

Két jellegzetes kromoszómális aberráció, a polyploiditás, illetve a 12 kromoszóma rövid karjának amplifikációja igazolódott a here malignus csírasejtes daganataiban, mely utóbbi leggyakrabban 12-es izokromoszómaként manifesztálódik [i(12)p] (168, 169). Néhány gén specifikus mutációját vagy amplifikációját igazolták a különböző csírasejtes daganatokban, azonban csak a *KIT* és a *RAS* gén család tagjait érintők bizonyultak konzekvensen kimutathatóknak. (170) Aktiváló *KIT* mutációk detektálhatók a seminómák mintegy 25%-ában de nagyon ritkán megfigyelhetők nem-seminomatosus daganatok esetében is. (171,172) Úgy tűnik, hogy a *KIT* receptor ligandját kódoló *KITLG* gén, illetve annak polimorfizmusa befolyásolja a csírasejtes daganatok rizikóját.(173)

Meghatározó csírasejtes mutációt eddig nem sikerült kimutatni a fiatal felnőttek csírasejtes daganatainál, egyetlen kivételtől, a *PDE11A* inaktíváló mutációjától eltekintve, mely a familiáris testicularis daganatok mellett a familiáris adrenokortikális tumorok kialakulásában is szerepet játszik. (174) Mindemellett egyéb gének mutációi, mint az androgén receptor (*AR*), mely a kevert ivarú szindrómák kialakulásáért is felelős, szintén növelik a rizikót. (175,176)

Tradicionalis módszerekkel nem sikerült specifikus locust igazolni mely a rizikót meghatározza. A legszorosabb asszociációt mutató lehetséges jelölt, az Y kromoszómán elhelyezkedő azoospermia faktor c régió (*AZFc*) gr/gr deléciója lehet, ami egyben a férfi infertilitás leggyakoribb genetikai oka (177). Különböző gének, melyek a szteroid hormon

jelátvitelében valamint metabolizmusában játszanak szerepet képezték kutatás tárgyát, és néhány gén, mint az *AR*, *ESR2*, *HSD17B4*, és a *CYP19A1* eseteiben lehetett összefüggést mutatni testicularis csírasejtes daganat kialakulásának rizikója tekintetében, mely arra engedett következtetni, hogy a szteroid jelátvitelben és metabolizmusban részvevő gének szerepet játszhatnak a here daganatok kialakulásában. (178,179)

Szignifikáns összefüggést mutattak ki a csírasejtes daganatok kialakulása, valamint a *KITLG* locus között teljes genom analízissel (180,181), mely módszerrel egyéb, a *KITLS* locusban vagy ahhoz közel elhelyezkedő, a *KIT/KITLG* jelátviteli úthoz szorosan kapcsolódó hajlamosító gének is felfedezésre kerültek, mint a *SPRY*, *BAK1* vagy a már korábban említett *PDE11A*. Az is kiderült, hogy eltérő az egyes *KITLG* variánsok gyakorisága a fehér és a fekete népcsoportban, mely magyarázhatja a here daganatainak változó incidenciáját a különböző etnikumokban. (180-182) Két különösen érdekes polimorf locus is felfedezésre került, melyek a *DMRT1* (183,184) és a *HPGDS*. (185,186)

Előbbi egy transzkripció faktor mely fontos szerepet játszik a nem meghatározásában valamint a meiotikus osztódás regulátora (187) – mely zavart szenvedhet a here csírasejtes daganataiban (188). A *HPGDS* a prosztaglandin D szintázt kódolja, mely egy szignál molekula, ami a férfi gonád kifejlődésében játszik szerepet; ez az út lehet célpontja néhány, az endokrin rendszer normál működését megzavaró kemikáliának. (189) A testicularis csírasejtes tumorban szenvedők 14-szer nagyobb valószínűséggel homozigóták *KITLG* és *DMRT1* allélokra, de további klinikai szűrő vizsgálatok lennének szükségesek a magas rizikójú SNP-k pontosításához, detektálásához. (184)

1.9. Epigenetikai és embrionális tulajdonságok

Dinamikus epigenetikai változások vannak jelen az embrionális őssejtekben és a primordiális csírasejtekben (173). A DNS metilációs és histon modifikációs szerkezete (patternje) a testicularis csírasejtes daganatokban eltér a szomatikus malignus tumorokétól (190-196, 125). A vizsgálatok kimutatták, hogy a testicularis csírasejtes daganatokban a genomiális 5-metil citozin a GCNIS-ban és a seminómákban konzisztensen demetilált állapotban van, míg a nem-seminomatosus tumorokban csak néhány imprinting és a *LINE1* gén van demetilált állapotban (190-195). A genom hipometilációja a neoplastikus csírasejtekben aktív demetiláció eredménye, amely valószínűleg a foetalis csírasejtekben is lejátszódik (197,198). A metiláció mértéke úgy tűnik, hogy szerepet játszhat a csírasejtes daganatok kemoterápiára való fogékonyságában (193).

További megfigyelés, hogy a here csírasejtes daganatai nagy mennyiségben exprimálnak onkokoetális antigéneket. A kutatások bizonyították, különböző, az embrionális pluripotenciállal összefüggő gének magas expresszióját – *OCT3/4*, *NANOG*, *TFAP2C* és *LIN 28* – GCNIS-ben, embryonalis carcinomában valamint seminomában (199-203).

1.10. IMP3 irodalmi áttekintés

Az IMP3 az IGF2 mRNA-binding fehérje család harmadik tagja, mely két RNS felismerő és négy hnRNP K homológ domaint tartalmaz. A család tagjai 7p15.3 régióban található *IGF2BP3* gén által kódoltak (204).

Az *IGF2* expresszióját az imprinting kontrol régió 1 (ICR1) szabályozza, mely a 11 kromoszóma p15.5 régiójában helyezkedik el. Az ICR1 DNS metilációs defektusa két növekedési zavarért felelős: 1) Beckwith-Wiedemann szindróma (maternális ICR1 hipermetiláció) melyre a magzat aránytalan megnagyobbodása, malformációk, valamint nephroblastoma, rhabdomyosarcoma vagy hepatoblastoma előfordulása jellemző. 2) Silver-Russel szindróma (paternális ICR1 metilációs hiány), melynek karakterisztikus tünete a növekedés elmaradása. (205)

IMP3 fiziológiásan szinte kizárólag embrionális szövetekben exprimálódik, fontos szerepet tölt be a sejt vándorlásban és a korai embriogenezisben (206, 207), emellett az ováriumban az oocytákban illetve a granulosa sejtekben, a herékben pedig a spermatogoniumokban, a spermatocytákban és a spermatozoákban lehet kimutatni. (208)

Néhány kutatás szerint az IMP3 a benignus szövetekben nem fejeződik ki, onkoproteinként működik, az előrehaladott és agresszív daganatokban a növekedést, inváziót és metasztázis képzést okozza. (209,210) Az IMP3 fokozott expresszióját mutatták ki többek között vese (211), gyomor (212), máj (213), tüdő (214), csírasejtes daganatok (210), colon (215), hasnyálmirigy (216), ovárium epiteliális (217) carcinomákban. Szoros kapcsolat mutatkozott a betegség stádiuma, a klinikai kimenetel valamint az IMP3 expresszió között, amennyiben a fokozott IMP3 expresszió rosszabb klinikai kimenetellel társult (212,213,215, 218-220).

Az irodalmi adatok alapján úgy tűnik, hogy az IMP3 szerepet játszik a GCT-ok kialakulásában is és immunhisztokémiai módszerekkel szinte az összes testicularis GCT-ban kimutatható (208). A legerősebb jelölődést az embryonalis carcinoma mutatja, azonban figyelemre méltó különbség van az expresszió tekintetében a férfi és a női teratomák esetében, amennyiben pozitív reakció azonosítható primer és metasztatikus here teratomákban, azonban

nincs jelölődés a női, benignus esetekben. (210) A fenti eredmények azt látszottak igazolni, hogy a felnőttkori testiculáris teratomák döntő többsége illetve valószínűleg a here teratomák hisztogenezise is különbözik az ovarialis teratomától (221).

2. Célkitűzések

1. Első fontos célunk az volt, hogy felmérjük a prepubertális (benignus) teratoma hozzávetőleges gyakoriságát postpubertális herében.
2. Célul tűztük ki azt is, hogy molekuláris, és/vagy immunhisztokémiai és szövettani különbségeket találjunk a gyermekkori, a felnőttkori benignus valamint malignus variánsok között.
3. Meghatározni a 12p abnormalitások előfordulási gyakoriságát a gyermekkori valamint a felnőttkori teratoma esetek között
4. A tiszta teratomák legújabb WHO klasszifikáció szerinti besorolása, a nevezéktan átgondolása az eredményeink alapján.

3. Anyag és módszer

3.1. Anyagok

A vizsgálatok alapját a 1998 és 2014 közötti időszakban a PTE-ÁOK Patológiai intézetbe szövettani vizsgálatra küldött 593 heretumor képezte, melyből 543 bizonyult csírasejtesnek.

A saját anyagunkon – mely természetéből adódóan nem válogatott anyag – megpróbáltuk megbecsülni a felnőttkori prepubertális (vagyis benignus) teratoma gyakoriságát. A 17 év anyagát (1998-2014) magában foglaló vizsgálat során 543 csírasejtes heredaganatos eset klinikai adatait, szövettani mintáit értékeltük, meghatároztuk a prepubertális (benignus) típusú teratoma esetek gyakoriságát a többi heredaganathoz viszonyítva. (167)

A részletesebb szövettani és molekuláris patológiai elemzéshez intézetünk anyagát az Országos Onkológiai Intézetben 2000 és 2016 között kezelt, az ország különböző városából származó here tumoros betegek válogatott anyagával egészítettük ki. A hisztológiai leletek alapján az Országos Onkológiai Intézet segítségével retrospektíve körülbelül 5600 here daganatos eset közül kigyűjtöttük a tiszta teratomás eseteket, melyek metszeteit illetve paraffinos blokkjait a beküldő kórháztól, klinikától további feldolgozás céljára elkértük. Így a vizsgálatokhoz összesen 36 tiszta teratomás eset állt rendelkezésre.

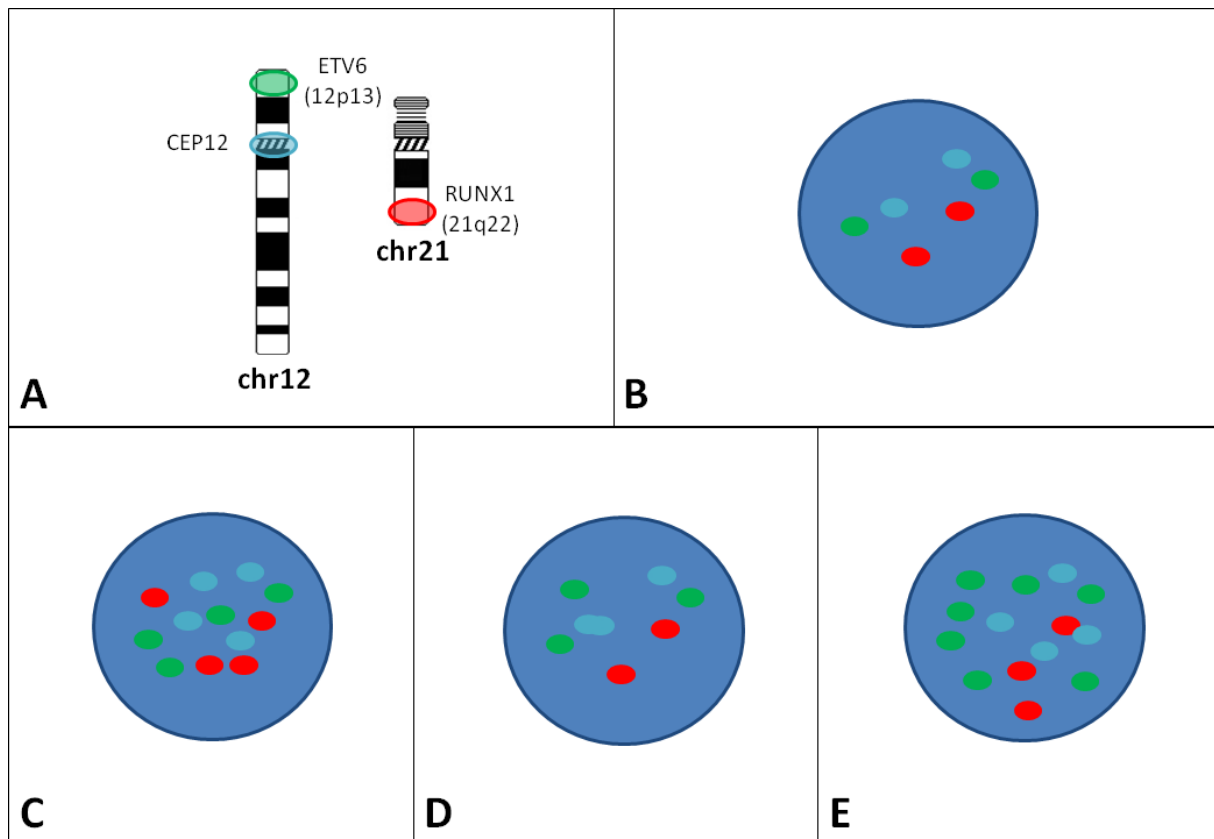
A vizsgálathoz a regionális etikai bizottság megfelelő engedélyét kértük és kaptuk meg. (PTE 47407/2017).

3.2. Fluoreszcens in situ hibridizáció

Hat kevert, nem seminomatosus testicularis csírasejtes tumor esetet használtunk pozitív kontrollként, míg a fals pozitivitás elkerülése érdekében négy, nem neoplastikus szövetmintát vizsgáltunk negatív kontrollként.

A vizsgálatokat 4 µm vastag, formalin fixált, parafinba ágyazott metszeteken végeztük. Xilolos deparaffinációt követően enzimés és hő előkezelést végeztünk SPOT-Light™ Tissue Pretreatment Kit- el (Zymed-Invitrogen-Thermo Fisher Scientific) a gyártó utasításait követve. A szonda elegyet, mely SpectrumGreen-nel jelölt ETV6 (12p13), SpectrumOrange-zsal jelölt RUNX1 (21q22) (LSI ETV6-RUNX1 probe kit, Abbott-Vysis, USA) valamint SpectrumAqua-val jelölt CEP12 specifikus próbát tartalmazott egy éjszakán keresztül hibridizáltuk. Ezután a

gyártó szigorú utasításait követve végeztük el a LSI ETV6-RUNX1 próba kit lemosását. A CEP12 szonda saját laboratóriumunkban készült (222,223). A szondákat és néhány lehetséges jelmintázatot az 8. ábra foglalja össze.



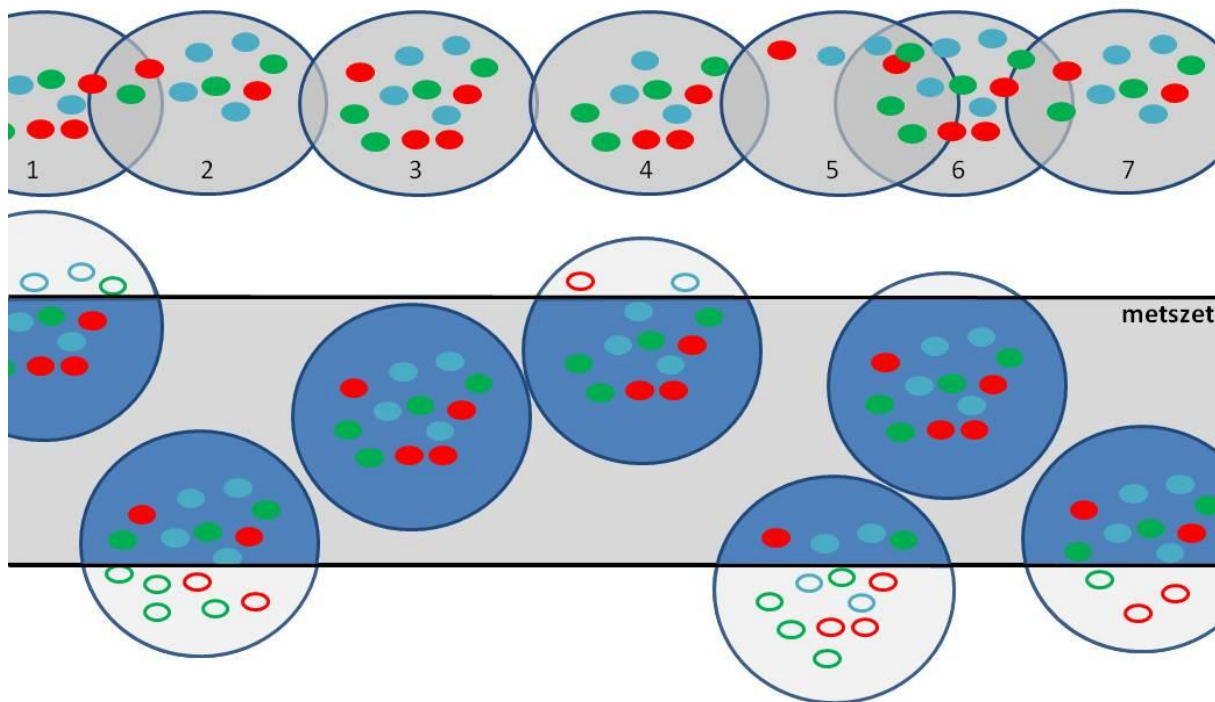
8. ábra. A. A vizsgálat során alkalmazott FISH szondák elhelyezkedése a 12-es és 21-es kromoszómákon. Az ETV6 SpectrumGreen, a RUNX1 SpectrumOrange, a CEP12 pedig SpectrumAqua fluoreszcens jelölést kapott. B. Normális sejtben mindhárom szondából két-két jel látható. C. Poliploid sejtekben kettőnél több jel látható a magokban, de ha a 12p (ETV6) és a CEP12 azonos számban van jelen, akkor nincs 12p abnormalitás. D. 12p izokromoszóma esetében eggyel több 12p jel látható, mint CEP12, az izokromoszómának megfelelő centromerikus jel megkettőződik. E. 12p izokromoszóma gyakran poliszómia mellett fordul elő.

3.3. 12p abnormalitások kiértékelése

A FISH jelek számát mintánként 50-50 sejt vizsgálata alapján határoztuk meg, külön fluoreszcens csatornát használva. Hogy elkerüljük a nem neoplastikus strómális illetve gyulladásosejtek kontaminációját igyekeztünk a különböző, hámmal borított cysták belfelszínét elemezni, de amennyiben lehetséges volt, a porcszövet sejtjeit is vizsgáltuk. A trunkációs hatás, valamint az egymást átfedő magok miatt nem lehetett a jelmintázatot teljes biztonsággal minden egyes tumorsejt magjában meghatározni, azonban 50 sejt vizsgálata alapján megbízhatóan lehetett következtetést levonni az adott mintával kapcsolatban (9. ábra).

Normális sejtekben mindhárom FISH jelből kettő-kettő várható, persze a sejtmagok trunkációja, illetve egymásra vetülése miatt ettől eltérő mintázatú sejtek is felbukkanhatnak a mintában. A csírasejtekre jellemző 12p abnormalitások jelmintázata heterogén. 12p izokromoszóma esetében 3 zöld (12p), 2 kék (CEP12) és 2 piros (21q) jel várható. A centromerikus, kék jel a metafázis preparátumokon duplikálódva jelenik meg, azonban ez a jelenség formalin-fixált, paraffinos blokkból készült metszeteket vizsgálva megbízhatóan nem detektálható (11.C). Számos esetben az izokromoszóma 12-es poliszómiával társul, ami komplex jelmintázatokot eredményezhet. Az izokromoszóma specifikus azonosítása helyett ezért 12p nyeréssel járó abnormalitást kerestük a sejtekben; ebben az esetben az várható, hogy több a zöld, mint a kék jel a sejtekben. A 12p abnormalitásra negatív és pozitív minták megkülönböztetéséhez a következő paraméterek bizonyultak a leghasznosabbnak: 1) a 12p (ETV6), a CEP12 és a 21q jelek átlagos száma, 2) a több 12p, mint CEP12 jelet tartalmazó sejtek aránya ($G > A$ %), 3) a kevesebb 12p, mint CEP12 jelet tartalmazó sejtek aránya ($G < A$ %), 4) a CEP12 > 2 mintázatú sejtek aránya, 5) átlagos 12p/CEP12 arány.

A FISH jelek átlagos száma jól mutatta a poliszómia jelenlétét, vagy hiányát, azonban a metszet vastagsága jelentősen befolyásolta azt. A CEP12 jelek száma meghatározza a 12-es kromoszómák számát az adott sejtmagban. A 21q jeleket egy független kromoszóma, a 21-es kromoszóma számának meghatározására használtuk a 12-es kromoszómaszám kontrolljaként.



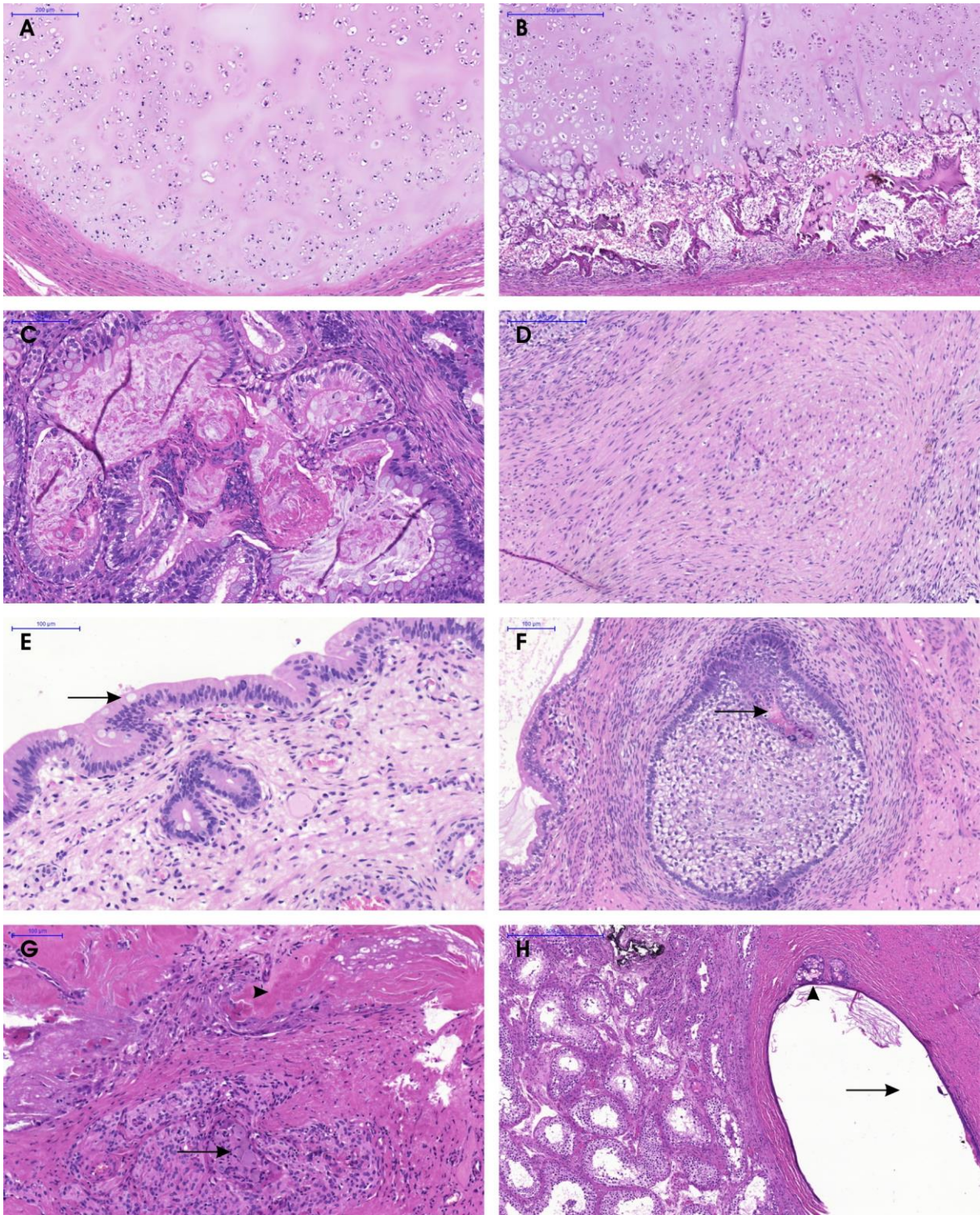
9. ábra. Az ábra a trunkációból, illetve egymásra vetülésből származó jelmintázat változásokat mutatja be. A sejtmagok trunkált, a metszetbe nem került részleteit fehér szín jelzi, az így elveszett jeleket üres karikák azonosítják. Fent a mikroszkópba vetülő sejtmag képek láthatók. A kép jobb oldalán három sejtmag oly mértékben vetül egymásra, hogy nagy biztonsággal nem lehet eldönteni, melyik jel, melyik sejtmagba helyezkedik el. Az 1-es és a 4-es sejtmag a trunkáció és a magok átfedése miatt álpozitív, hiszen több zöld, mint kék jelet mutat, pedig valójában csak poliszómiásak. A 2-es és az 5-ös sejt álnegatív, hiszen bár 12p abnormalitást hordoz, a trunkáció után a zöld jelek száma nem haladja meg a kékéket. Az 5-ös, 6-os és 7-es sejtmagok esetében nem lehet teljes biztonsággal eldönteni, hogy melyik jel, melyik sejtmaghoz tartozik. A fenti nehézségek miatt fontos sok sejtmagot, lehetőleg a minta különböző területeiről vizsgálni.

3.4. Fénymikroszkópia, immunhisztokémia

A mintákból új metszetek készültek, melyek vizsgálatával a szövettani jellegzetességek meghatározásra kerültek. Felmértük az egyes daganatokat felépítő érett, vagy éretlen összetevőket (epidermoid cysta, dermoid cysta, intestinalis hám, egyéb hám, mesenchyma, ideg elemek, porc, csont). (10. ábra) Kizártuk azon daganatokat, amelyeket valamilyen oknál fogva nem lehetett bevonni a vizsgálatba (pontatlan diagnózis, nem tiszta teratoma, túl kicsi, esetleg nekrotikus daganat, értékelhetetlen minta stb.). Kerestük a tumormentes here állományban germ cell neoplasia in situ (GCNIS) jelenlétét. Ha a szokványos hematoxin-eozin (HE) metszet szövettani vizsgálata kapcsán nem volt egyértelmű, vagy nem lehetett verifikálni

GCNIS-t, PLAP (DAKO, 8A9 klón; 1:40 hígítás) immunhisztokémiai vizsgálattal győződünk meg annak jelenlétéről vagy hiányáról. A vizsgálatot DAKO Autostainer Link 48 automatán végeztük el, DAKO EnVision FLEX TRS feltáró oldatot (pH 9, 20 perc, 97°C), 60 perces antitest inkubálást és DAKO Envision Flex High pH előhívórendszert alkalmazva.

Mindemellett az összes eseten IMP3 (DAKO, 69.1 klón; 1:100 hígítás; feltárás: Bond Epitope Retrieval 2, pH 9 20 percig 97°C; automata: Leica Bond-Max; előhívó: Bond Polymer Refine Detection Kit; antitest inkubálás 15 perc 37°C felett) immunhisztokémiai vizsgálatot is végeztünk az erre vonatkozó irodalmi adatok alapján.



10. ábra. Különböző területek malignus teratomákból. A: éretlen porc B: enchondralis csontosodás, C: intestinalis mirigyek D: mesenchyma E: respiratoricus hám kehelysejtekkel (nyíl), F: szőrtüsző (nyíl) G: ganglion sejtek (nyílhegy) osteoiddal (nyíl), H: dermoid cysta (nyíl), a cysta felső részén sebaceus miriggyel (nyílhegy), balra GCNIS-val.

4. Eredmények

A könnyebb érthetőség és követhetőség kedvéért a továbbiakban a prepubertális és postpubertális jelzőket a dolgozatban nem használjuk. Az összes malignus eset postpubertális volt ezért ezeket a továbbiakban egyszerűen „malignus”-nak nevezzük, a benignus tumorokat pedig „gyerekkori” és „felnőttkori benignus” alcsoportra osztjuk, mert a gyerekkori esetek között nem volt malignus, a két populáció átlag életkora (1,3 illetve 28 év) pedig megengedi ezt az egyszerűsítést. Malignus teratomának azt az esetet tekintettük, melyben 12p abnormalitás, és/vagy GCNIS igazolódott, benignusnak pedig azt, amelyikben egyik sem fordult elő.

A PTE Patológiai Intézet saját, valamint az ország különböző intézeteitől kapott válogatott esetek teljes feldolgozása, újraértékelése után összesen 36 tiszta teratoma állt rendelkezésünkre (14 a pécsi adatbázisból, 22 az országos adatbázisból származott). Ezek közül a felnőttkori esetek mindegyikét - a PTE korábban már megvizsgált benignus eseteit leszámítva – malignusnak diagnosztizálták. A tiszta teratomák közül 23 volt malignus, mindegyik felnőttkori, míg 13 bizonyult benignusnak, melyek között 6 gyerekkori, 7 eset felnőttkori volt.

4.1. A benignus felnőttkori esetek hozzávetőleges gyakoriságának meghatározása.

A gyakoriság vizsgálatába a 1998-2014 között az intézetünkbe érkezett 593 here daganatot vontunk be melyből 11 sex-cord stroma illetve 39 egyéb – többségében haemopoeticus eredetű – tumor szerepelt. Az összes 543 csírasejtes daganat 49%-a (264 db) seminoma, valamivel több, mint 10% (55 db) tiszta embryonalis carcinoma volt. Az 543 csírasejtes daganat 38%-a (205 db) bizonyult kevertnek, melyből 63% (130 db) tartalmazott teratoid elemeket, ez az összes csírasejtes tumor 24%-a. (2. táblázat)

Tovább vizsgálva a teratomákat az összes csírasejtes daganat közül 14 eset (3%) bizonyult tiszta daganatnak, melyek közül egy eset gyermekkori volt, tehát az általunk vizsgált szériában a felnőttkori benignus teratoma gyakoribbnak bizonyult, mint a gyermekkori. Meglepő, hogy intézetünk anyagában a felnőttkorban előforduló tiszta teratomás esetek 23%-a – minden ötödik eset - bizonyult benignus típusúnak (ebben már nincs benne az egyetlen gyermekkori esetünk). (2. táblázat)

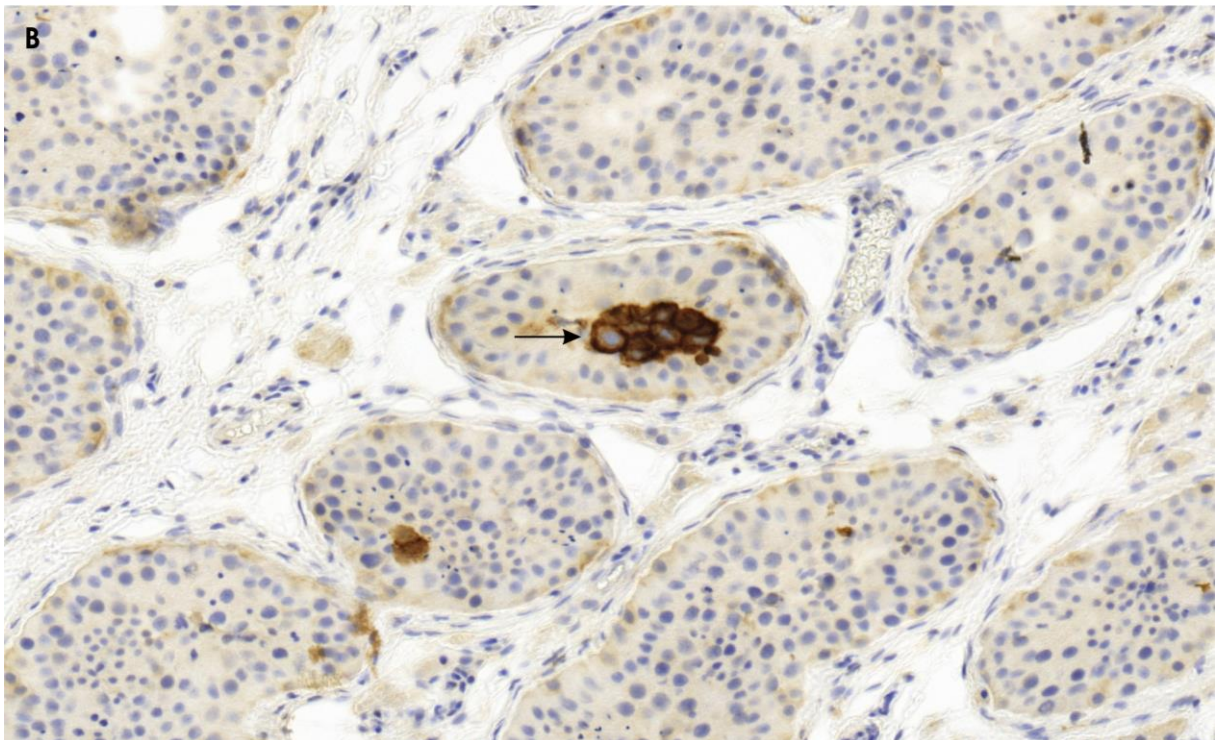
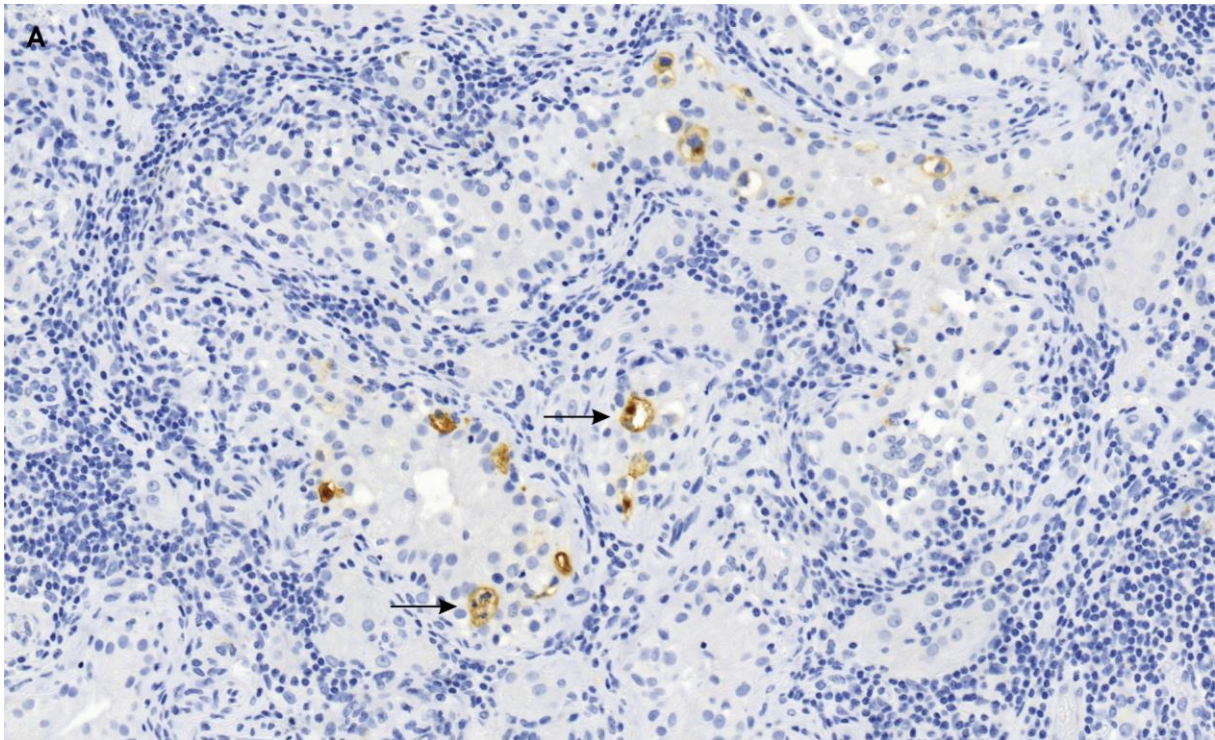
Tumor szövettan	Esetek száma	Esetek aránya	Átlag életkor
Here tumor	593	100%	35
Csírasejtes daganat	543	92%	34
Seminoma	264	49%	38
Kevert csírasejtes tumor	205	38%	30
Tiszta teratoma	14	3%	23
<i>Benignus teratoma</i>	4	1%	14
<i>Malignus teratoma</i>	10	2%	26
Tiszta embryonalis carcinoma	55	10%	30
Tiszta yolk sac tumor	5	1%	24
Sex cord stromalis daganat	11	1,5%	49
Egyéb	39	6,5%	58

2. táblázat. 1998 és 2014 között diagnosztizált here daganatok a PTE AOK Pathológiai Intézetében

4.2. In situ csírasejtes neoplasia (germ cell neoplasia in situ, GCNIS), immunhisztokémia

A metszetek alapos átvizsgálása során azon esetekben, amikor a GCNIS kiterjedt és egyértelmű volt nem végeztünk PLAP immunhisztokémiai reakciót. Mivel a gyermekkori esetek definíció szerint benignusak, és GCNIS sem mutatkozott, itt sem volt szükség PLAP reakció elvégzésére. A felnőttkori benignus esetek mindegyikénél, valamint a malignusak közül a hagyományos, HE festett metszetekben kérdéses, vagy nehezen detektálható in situ komponens esetében, összesen 11 alkalommal, PLAP immunhisztokémiai vizsgálatot végeztünk.

A 23 malignus eset közül négyenél nem, vagy csak minimális ép parenchyma volt detektálható, így az in situ komponens megítélni nem lehetett. További két esetben a here csatornácskáiban Sertoli cell only szindróma mutatkozott, vagyis a herecsatornácskáiban csak Sertoli sejtek voltak jelen, nem volt spermiogenesis, ezért hiányoznak azok a sejtek amelyek meg lehetne figyelni a GCNIS-t. Egy esetben nem igazolódott GCNIS, 14 esetben kiterjedten, két esetben csupán néhány PLAP+ sejt formájában volt megfigyelhető. (11. ábra) A megvizsgált esetek 94%-ában tehát jelen volt GCNIS. Az irodalmi adatok nem adnak iránymutatást a tekintetben, hogy mekkora ép területen kell a GCNIS-t keresni, az egyik esetben azonban a teljes here feldolgozásra került és csak így lehetett néhány pozitív gócot találni. A benignus esetek egyikében sem volt in situ komponens azonosítható (3. táblázat).



11. ábra. A és B: Két malignus esetben csak alapos átvizsgálással, multiplex kimetszésekkel és PLAP immunhisztokémiával lehetett GCNIS-t azonosítani (nyilak).

Eset	Kor	Méret (mm)	12p	GCNIS	IMP3	RLA	Kemo	Nycs met	Túlélés (év)
#7	18	13	-	- ¹	-	+	-	-	7
#8	20	22	-	- ¹	-	-	-	-	8
#9	27	8	-	- ¹	-	-	-	-	3
#10	30	15	-	- ¹	-	-	-	-	4
#11	33	20	-	- ¹	-	-	-	-	6
#12	36	10	-	- ¹	-	-	-	-	2
#13	38	10	-	- ¹	NA	NA	NA	NA	7
#14	25	25	+	NA ⁴	+	+	+	+	17
#15	21	25	+	+	+	-	-	-	6
#16	32	22	+	+ ²	+	+	-	+	13
#17	41	9	+	+	+	+	+	+	3
#18	21	30	+	+	+	-	-	-	13
#19	22	20	+	NA ⁴	+	+	+	-	16
#20	38	60	+	+	+	+	+	+	3
#21	22	30	+	+	+	+	-	-	14
#22	29	19	+	NA ³	+	+	-	+	9
#23	29	22	+	+	+	-	-	-	4
#24	18	85	+	+	+	+	-	-	4
#25	18	38	+	+ ²	+	-	-	-	4
#26	24	14	+	-	+	-	-	-	3
#27	22	35	+	+	+	-	-	-	4
#28	38	60	+	+	+	+	+	+	3
#29	31	40	+	NA ⁴	+	+	+	+	17
#30	43	32	+	NA ³	+	+	+	+	4
#31	26	18	+	+	+	+	+	+	†
#32	36	36	+	NA ⁴	+	+	+	+	3
#33	25	35	+	+	+	+	+	+	4
#34	34	110	NA	+	+	+	+	+	6
#35	33	70	NA	+	+	+	+	+	9
#36	19	54	NA	+	+	-	+	-	14

3. táblázat: A felnőttkori teratoma esetek összehasonlítása és utánkövetése #7-13 esetek: benignus teratomák, #14-36: malignus teratomák. 12p: 12p abnormalitás (FISH), GCNIS: germ cell neoplasia in situ. NA: nincs adat, ¹: PLAP immunhisztokémiára is sor került, ²: csupán néhány PLAP+ intratubularis sejt mutatkozott, ³: Sertoli cell only - így a GCNIS nem vizsgálható, ⁴: Nincs, vagy csupán minimális hereparenchyma van jelen, így GCNIS nem vizsgálható. Kemo: kemoterápiában részesült, Nycs met: nyirokcsomó metasztázis. †: elhunyt

4.3. Szövettani jellegzetességek

4.3.1. Tumorméret

A gyermekkori teratomák átlagos mérete 24,00 mm volt (15 - 33, szórás: 6,8), a felnőttkori benignus tumoroké 14,00 mm (8 - 22, szórás: 5,3), a felnőttkori malignusaké pedig 38,65 mm (9 - 110, szórás: 24,5). A három csoport átlaga t próba alapján szignifikánsan eltért egymástól; gyermekkori vs felnőttkori benignus esetében $p = 0,017$, gyermekkori vs felnőttkori malignus esetében $p = 0,018$, míg felnőttkori benignus és malignus esetében $p < 0,001$.

4.3.2. Szövettani összetétel

Mindegyik tiszta teratoma eset összes rendelkezésünkre álló metszetét újra megvizsgáltuk, rögzítettük a tumor legnagyobb átmérőjét valamint a beteg életkorát, emellett meghatároztuk a daganatokat felépítő különféle szöveti elemeket. Vizsgáltuk az epidermoid cysta, dermoid cysta, intestinalis hám, egyéb hám, mesenchyma, ideg elemek, porc, csont jelenlétét a daganatokban (4. táblázat).

Az átlagos életkor 24 év volt, a malignus esetekben 28, míg a benignusokban 16 évnek bizonyult. Ez utóbbiból a gyermekek átlag életkora 1,3 év (0,4-5) a felnőtteké 29 év volt (18-38). Az átlagos tumorméret az összes eset vonatkozásában 31 mm (8-110) volt. A malignusaké 39 mm (9-110), a benignusaké 19 mm, a gyerekeké 24 mm (15-33) volt, míg a felnőttek esetében az átlagos tumorméret 14 mm-nek (8-22) bizonyult.

Az egyes daganatokat felépítő szöveti elemek vizsgálata során valamennyi esetben találtunk mesenchymalis szövetet. A malignusak majdnem mindegyikében találunk valamilyen egyéb nem dermoid eredetű epithelt (96%), mely leggyakrabban respiratoricus hámnak felel meg és sokszor cystikus morfológiát mutat. A rosszindulatú esetek többé-kevésbé felében láttunk epidermoid cystát (57%), intestinalis mirigyeket (61%) vagy porcszövetet (52%), ritkábban neuronális elemeket (26%) és csontszövetet (9%), és mindösszesen egy esetben valódi dermoid cystát (4%).

Az összes benignus eset szintén mindegyikében fellelhetőek mesenchymalis elemek, 54%-ban intestinalis, 62%-ban egyéb hámmal, valamelyest kevesebb arányban csontszövettel, epidermoid cystával (46-46%), porcszövettel (31%), neuronális elemekkel (23%) - mely utóbbi gyakran érett agyszövetnek felel meg - míg legkisebb arányban (15%) valódi dermoid cystával találkozhatunk.

A különböző szövetek előfordulási gyakoriságának vonatkozásában szignifikáns eltérések igazolódtak a gyermekkori, a felnőttkori benignus és a malignus esetek között. A gyermekkori és a felnőttkori benignus esetek vonatkozásában egyedül a porcszövet előfordulása bizonyult szignifikánsan eltérő gyakoriságúnak; gyermekek esetében 67%-ban fordult elő ilyen szövet, míg a felnőtteknél egy alkalommal sem láttunk porcszövetet (Fisher teszt: $p = 0,021$). Gyermekeknél gyakrabban láttunk intestinalis hámszövetet, illetve neuronális elemeket (83% vs 29%, illetve 50% vs 0%), ám a különbség nem érte el a szignifikancia határát (Fisher teszt: $p = 0,078$, illetve $0,070$). A többi szövetelem előfordulása nem mutatott jelentős eltérést a két csoportban.

A gyermekkori, illetve a felnőttkori malignus esetek egyedül a csontszövet előfordulásának tekintetében mutattak szignifikáns eltérést; a gyakoriság gyermekkorban 67% volt, míg a malignus esetek között csupán 9%-ban fordult elő (Fisher teszt: $p = 0,008$).

A felnőttkori benignus és malignus esetek az egyéb hámszövetek (29% vs 61%), illetve a porcszövet (0% vs 52%) gyakoriságának vonatkozásában mutattak szignifikáns különbséget (Fisher teszt: $p = 0,006$, illetve $0,016$). A többi szövetelem gyakorisága nem tűnt szignifikánsan eltérőnek (3. és 4. táblázat).

A teratomák szövettani diverzitását, vagyis az előforduló szöveti komponensek számát vizsgálva megállapítható, hogy a felnőttkori benignus teratomák tartalmazzák a legkisebb számú szöveti elemet (átlagosan 2,4, szórás: 0,5), míg a gyermekkori esetekben átlagosan 5,3 (szórás: 2,1), a malignus esetekben pedig 4,0 (szórás: 1,4) különböző szöveti elem fordult elő. A különbség a felnőttkori benignus és malignus esetek között szignifikánsnak bizonyult (t próba, $p < 0,001$).

A malignus esetek között 10 olyan daganatot találtunk (az esetek 43%-a) amelyekben – a felnőttkori benignusokhoz hasonlóan – hiányoznak a neuronális elemek, a porcszövet és a dermoid cysta. Ezek között volt egy olyan eset, amikor GCNIS-t nem lehetett igazolni, illetve kettő, amelyiknél csak néhány sejt utalt in situ összetevőre (11. ábra).

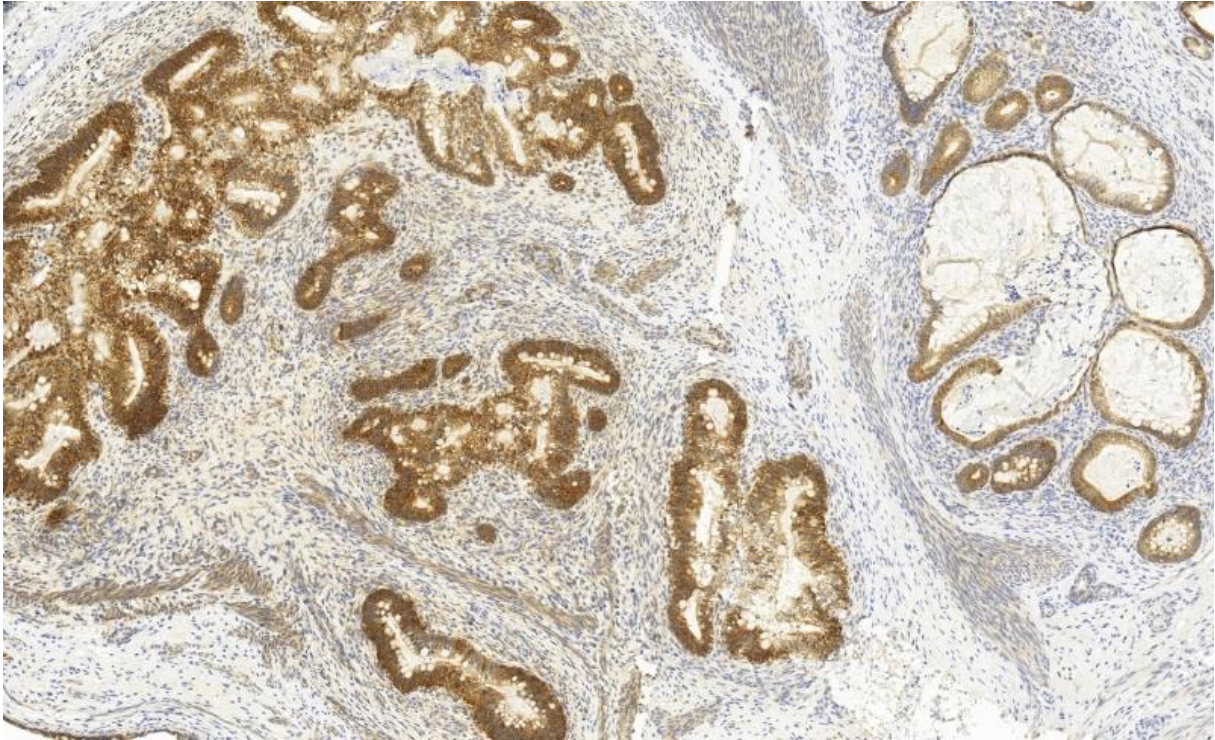
	Esetszám	Életkor	Tumor méret	Epidermoid cysta	Dermoid cysta	Intestinalis epithel	Egyéb epithel	Mesenchymalis elemek	Neuronális elemek	Porcszövet	Csontszövet
Összes eset	36	24	31	53%	8%	58%	83%	100%	25%	44%	22%
Malignus	23	28	39	57%	4%	61%	96% ¹	100%	26%	52% ²	9% ⁴
Benignus	13	16	19	46%	15%	54%	62%	100%	23%	31%	46%
gyermek	6	1,3	24	50%	33%	83%	83%	100%	50%	67% ³	67% ⁴
felnőtt	7	29	14	43%	0%	29%	43% ¹	100%	0%	0% ^{2,3}	29%

4. táblázat. A vizsgált 36 eset klinikai és szövettani jellemzői. Az indexel jelölt párok között Fisher teszttel szignifikáns különbség igazolódott. 1: p = 0,006, 2: p = 0,016, 3: p = 0,021, 4: p = 0,008.

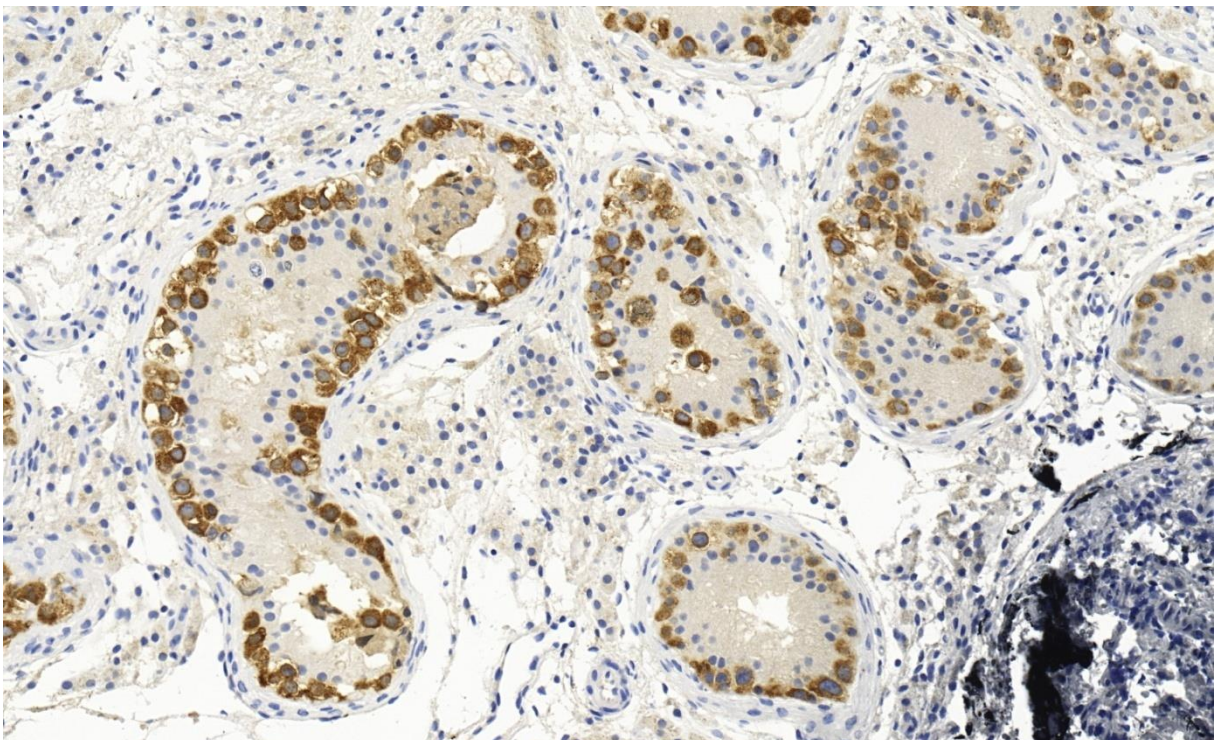
4.4 IMP3 fehérje immunhisztokémiai vizsgálata

Egy felnőtt benignus esetben nem állt rendelkezésünkre tovább vizsgálható minta, ezért nem sikerült a reakciót elvégezni, így 35 eseten vizsgáltuk az IMP3 expressziót. Az eredmények értékelésekor figyelembe vettük, hogy a minták több intézetből érkeztek, ezért az anyagok feldolgozása jelentősen eltérhetett, ami a jelölődés intenzitását befolyásolhatta. A daganat mellett ép, vagy GCNIS tartalmazó parenchymát belső kontrollként használtuk, így ki tudtuk szűrni azon eseteket, ahol az előbb említett feldolgozási különbségek (fixálás, víztelenítés, stb.) miatt nem működött a reakció. Az utóbbi eseteken - amennyiben rendelkezésre állt - más paraffinos blokkot is felhasználva megismételtük az immunhisztokémiai reakciót.

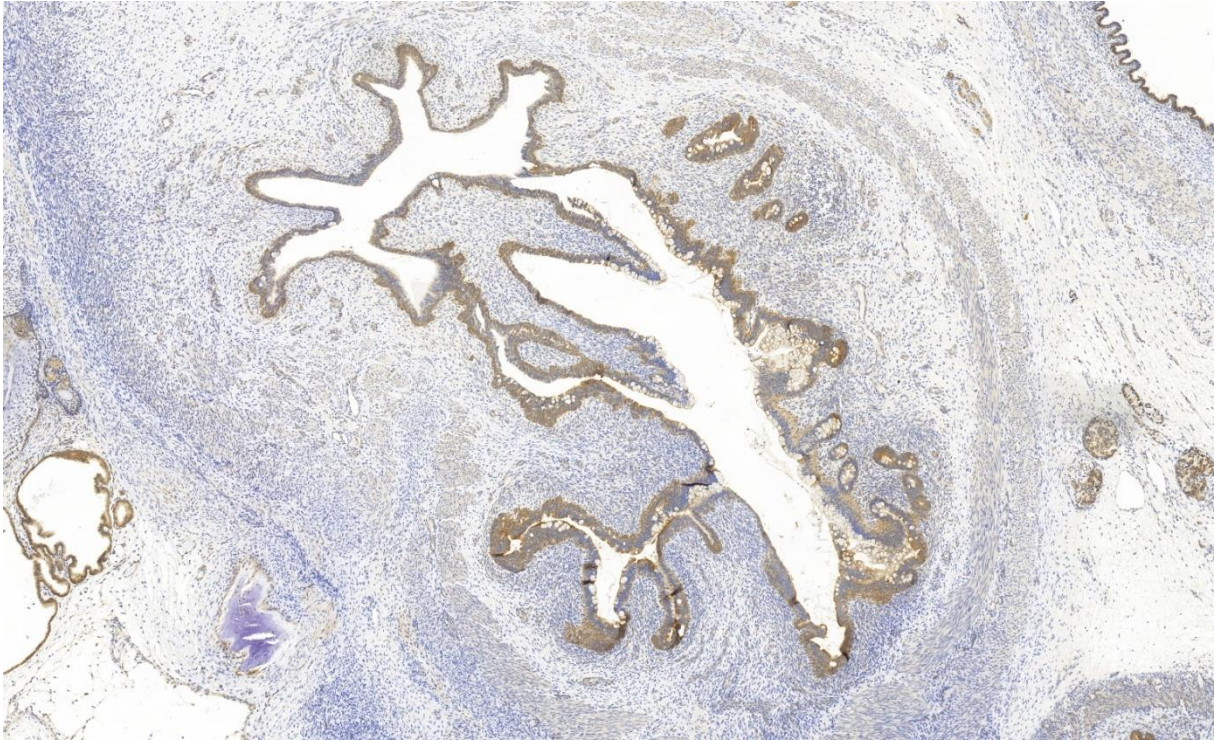
A 35 vizsgált eset közül a malignusok mindegyike egyértelműen pozitív volt. A 6 gyerekkori benignus esetből öt egyértelműen jelölődött, egy esetben nem volt reakció, míg a hét felnőttkori jóindulatú minták közül a vizsgálható 6-ban (pozitív belső kontroll mellett) nem kaptunk jelölődést (5. táblázat). Egy-egy gyerekkori, felnőttkori benignus, illetve malignus eset IMP3 immunhisztokémiai jelölődése a 12-14. ábrákon látható. A különbség mind a gyerekkori és a felnőttkori benignus, mind a felnőttkori benignus és malignus esetek között szignifikáns (Fisher teszt: $p < 0,001$, mindkét összehasonlítás vonatkozásában).



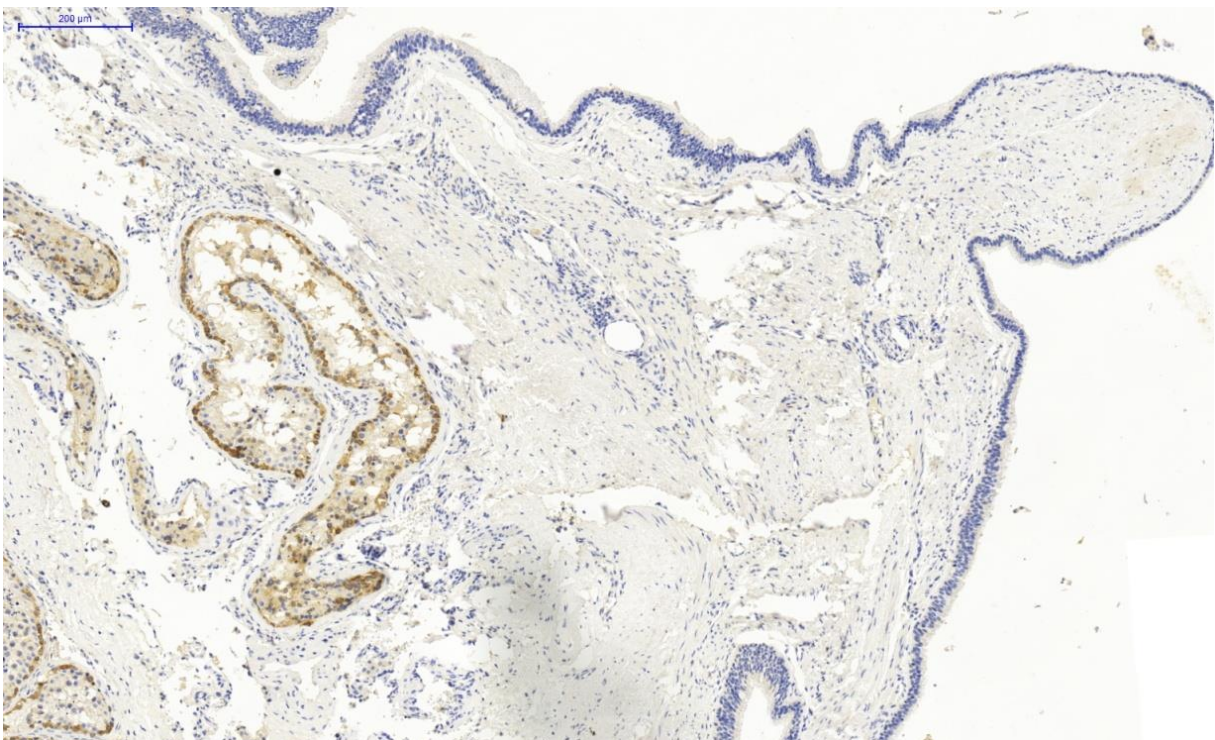
12. A. ábra. Intenzív citoplazmális IMP3 reakció egy malignus esetből. Az epiteliális elemek mellett halványan a stromális elemek is jelölődnek.



12. B. ábra. IMP3 immunhisztokémiai vizsgálat az előző malignus esetből. A daganat környezetéből származó herecsatornácskákban élénk citoplazmális jelölődést mutattak a spermatogoniumok, a spermatocyták illetve GCNIS is. Előbbi sejtek az IMP3 reakció belső kontrolljaként is funkcionálnak azon esetekben, amikor a tumor nem jelölődik.



13. ábra. Az egyik gyerekkori esetünk élénk IMP3 pozitivitása.



14. ábra. Az egyik felnőttkori benignus eset IMP3 immunhisztokémiai vizsgálattal. A hám negatív, míg a herecsatornácskákban a spermatogoniumok, spermatocyták egyértelmű citoplazmális jelölődést mutatnak.

Eset	Kor (év)	méret (mm)	i12p	GCNIS	Epidermoid cysta	Dermoid cysta	Intestinalis epithel	Egyéb epithel	Mesenchymalis elemek	Neuronalis elemek	Porcszövet	Csontszövet	IMP3
#1	0,9	33	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
#2	0,4	30	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
#3	0,5	20	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
#4	0,7	20	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
#5	0,4	15	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
#6	5	26	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-
#7	18	13	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
#8	20	22	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
#9	27	8	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
#10	30	15	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
#11	33	20	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
#12	36	10	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
#13	38	10	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	NA
#14	25	25	+	NA	+	-	-	+	+	-	+	-	+
#15	21	25	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
#16	32	22	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+
#17	41	9	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
#18	21	30	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
#19	22	20	+	NA	-	-	-	+	+	-	-	-	+
#20	38	60	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
#21	22	30	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
#22	29	19	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
#23	29	22	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
#24	18	85	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
#25	18	38	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
#26	24	14	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
#27	22	35	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
#28	38	60	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
#29	31	40	+	NA	-	-	+	+	+	-	-	+	+
#30	43	32	+	NA	-	-	-	+	+	-	-	-	+
#31	26	18	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+
#32	36	36	+	NA	-	-	+	+	+	-	+	-	+
#33	25	35	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
#34	34	110	NA	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
#35	33	70	NA	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
#36	19	54	NA	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+

5. táblázat. A molekuláris és szövettani jellemzők. #1-6: gyermekkori esetek, #7-13: felnőttkori, benignus esetek, #14-36: felnőttkori, malignus esetek.

4.5. FISH analízis

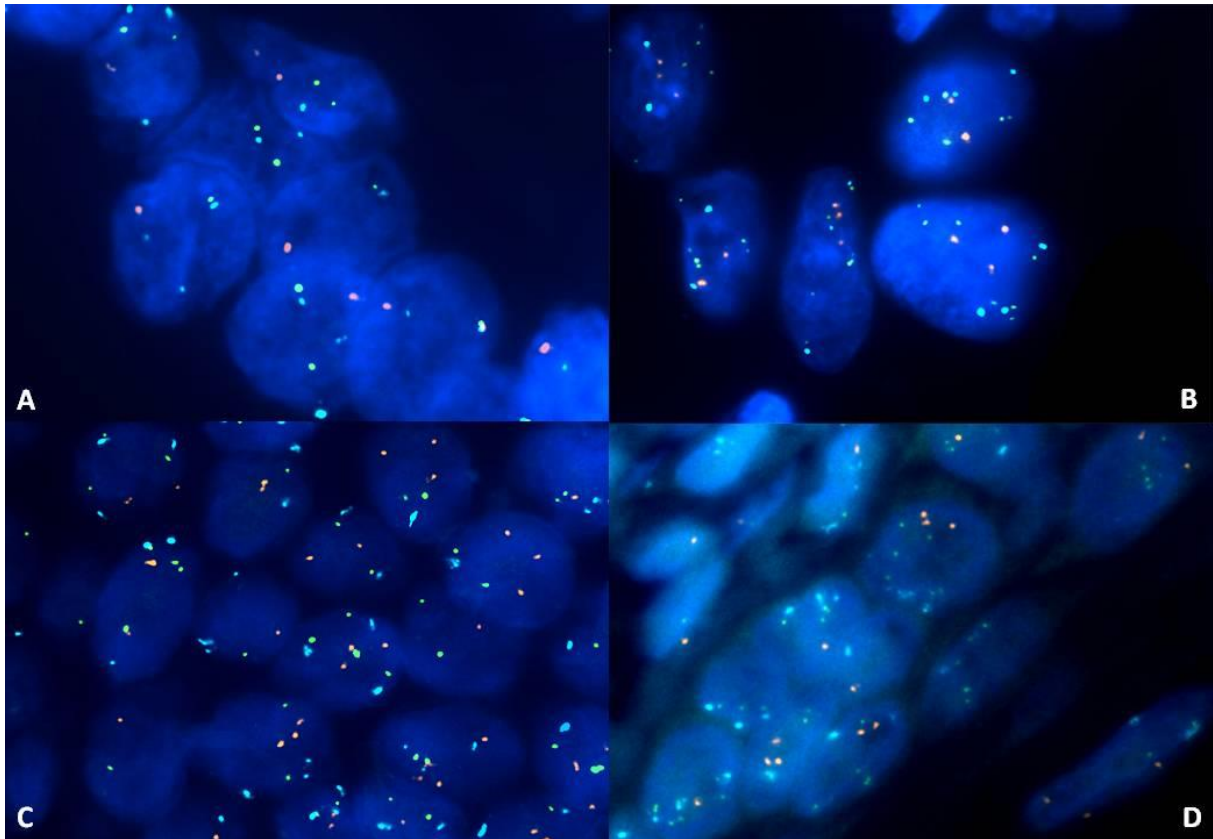
4.5.1 A kontroll minták vizsgálata

A negatív kontrollként használt normál szövetekben ($n = 4$), melyek laphámot és mirigyhámot tartalmaztak, átlagosan a sejtek 15%-ában ($\pm 7\%$) láttunk több 12p mint CEP12 jelet ($G>A\%$). A jelenség oka a magok trunkációja következtében fellépő egyenlőtlen FISH szignál vesztés, ami véletlenszerű, így hasonló arányban fordított arányú jelszám eltérést is eredményez. Az álpozitivitás határértékét 31%-ban határoztuk meg (átlag + szórás $\times 2$). A 12p/CEP12 arány átlagosan 1,0 volt (0,9 - 1,1). Átlagosan a sejtek 3%-a ($\pm 2\%$) bizonyult poliszómiásnak a 12 kromoszómára nézve, az álpozitivitás határértéke 11% lett. (15.A és 6. táblázat).

Az összes nem tiszta felnőttkori teratoma eset jelmintázata jóval meghaladta a fenti határértékeket, ami 12-es poliszómiára és 12p többletre utal. A $G>A\%$ átlagos értéke 78% ($\pm 19\%$) volt, a legkisebb érték 44% volt egy minta esetében. A látottak alapján ez a paraméter a 12p abnormalitásra pozitív, illetve negatív eseteket megbízhatóan különítette el. A 12p/CEP12 arány átlagosan 1,8 volt (1,3 - 2,5), ami 1,3 határérték alkalmazása mellett szintén alkalmasnak bizonyult a pozitív és negatív esetek megkülönböztetésére. A poliszómia aránya 68% ($\pm 50\%$) volt (14. B-D és 15. ábra).

4.5.1. A gyermekkori esetek vizsgálata

A hat tiszta teratomás eset közül egyben sem észleltünk poliszómiát vagy 12p abnormalitást. Az előbbinél 3% ($\pm 1\%$) míg a $G>A\%$ érték esetében 2% ($\pm 1\%$) volt a jellemző átlagos érték. A 12p/CEP12 arányt 1,0 - 1,11 között figyeltük meg a különböző esetekben.



15. ábra. FISH képek negatív és pozitív kontrollokon. A: FISH negatív kontroll sejteken; a sejtekben azonos számú zöld és kék jel látható. B-C-D: FISH pozitív kontroll sejteken; a sejtekben több zöld jel látható, mint kék, a jelek száma magonként meghaladja a kettőt. B: mesenchymalis sejtek, C: mirigyhám, D: laphám.

4.5.2. A felnőttkori esetek vizsgálata

A harminc felnőttkori eset közül három mintában nem sikerült értékelhető FISH jeleket produkálni. 23 esetben 12p abnormalitás igazolódott a pozitív kontrollokon látottakhoz hasonlóan. Egyetlen eset kivételével 12-es poliszómia is jelen volt; 19-ben 21-es poliszómiát figyeltünk meg. Sem 12-es, sem 21-es poliszómia nem fordult elő 12p abnormalitás nélkül.

A 12p nyeres és a poliszómia, amennyiben megfigyelhető volt, a daganat minden területében mutatkozott beleértve a daganatot felépítő összes szövettani összetevőt. A pozitív esetekben a G>A% átlagos értéke 79% (40-100%), a poliszómia átlagos aránya 49% (12-80%) volt. Egyetlen esetben a poliszómiát mutató sejtek aránya meghaladta az álpozitivitás határértékét, bár az átlagos CEP12 jelszám nem haladta meg a 2-öt. Az utóbbi oka jelentős trunkációs hatás lehetett, ami a jelszámok alábecsülését eredményezheti. A 12p/CEP12 arány átlagosan 1,9 volt (1,3 - 3,1). Három esetben mutatkozott 1,3 arány, melynek hátterében szintén a sejtmagok trunkációja miatti egyetlen jelszámvesztés állhatott.

Hét felnőttkori teratoma esetében a G>A% érték átlaga 6% (0 - 24%), a 12-es poliszómiára utaló jelmintázat átlagosan 4%-os volt (0 - 10%). Az értékek egyik esetben sem érték el a pozitív kontrollokra jellemzőket. A 12p/CEP12 arány 1,0 - 1,2 között mutatkozott.

6.

Azonosító	Életkor	12p	21q	CEP12	G>A %	G/A arány	Poliszómia 12	Poliszómia 21
Poz		6,0	3,8	4,4	76%	1,4	84%	80%
Poz	24	4,1	2,7	2,6	84%	1,7	56%	50%
Poz	25	5,0	1,8	2,2	96%	2,5	24%	16%
Poz	33	6,9	3,3	4,1	78%	1,9	86%	66%
Poz	34	6,0	2,4	3,0	92%	2,1	68%	42%
Poz	27	4,4	2,7	4,0	44%	1,3	88%	52%
Neg		1,7	1,6	1,6	14%	1,1	0%	0%
Neg		1,7	1,7	1,8	20%	1,0	8%	4%
Neg		1,6	1,9	1,8	4%	0,9	4%	4%
Neg		1,8	1,8	1,8	20%	1,1	0%	0%
1	0,9	2,1	2,0	2,1	0%	1,0	8%	0%
2	0,4	1,9	1,7	1,8	10%	1,1	8%	0%
3	0,5	2,0	2,0	2,0	0%	1,0	0%	0%
4	0,7	2,0	2,0	2,0	0%	1,0	0%	0%
5	0,4	2,0	2,0	2,0	0%	1,0	0%	0%
6	5	2,0	2,0	2,0	0	1	0%	0%
7	18	1,8	1,6	1,8	24%	1,2	0%	0%
8	20	2,2	1,9	2,2	0%	1,0	10%	0%
9	27	2,0	2,0	2,0	0%	1,0	0%	0%
10	30	2,0	1,9	2,0	10%	1,1	10%	10%
11	33	2,1	2,2	2,1	0%	1,0	6%	6%
12	36	2,0	2,0	2,0	0%	1,0	0%	0%
13	38	1,2	1,0	1,2	8%	1,0	0%	0%

Azonosító	Életkor	12p	21q	CEP12	G>A %	G/A arány	Poliszómia 12	Poliszómia 21
14	25	3,46	2,78	2,74	40%	1,3	48%	58%
15	21	3,2	2,6	2,1	82%	1,8	40%	42%
16	32	4,6	2,6	2,6	92%	2,0	60%	52%
17	41	3,5	1,7	2,8	46%	1,3	50%	0%
18	21	5,0	2,9	3,5	84%	1,5	78%	68%
19	22	4,6	2,7	3,6	50%	1,3	64%	48%
20	38	3,1	1,9	2,0	54%	1,6	12%	12%
21	22	4,0	2,6	2,7	64%	1,7	60%	58%
22	29	4,1	2,2	2,3	72%	2,0	36%	22%
23	29	5,3	2,1	3,2	84%	1,8	68%	40%
24	18	3,8	2,7	2,8	52%	1,4	52%	56%
25	18	5,5	2,0	3,0	96%	1,9	64%	8%
26	24	4,6	1,7	1,8	100%	2,7	8%	12%
27	22	5,4	3,4	2,6	100%	2,3	40%	64%
28	38	7,8	2,8	2,8	100%	2,9	60%	52%
29	31	5,8	2,8	2,9	100%	2,3	52%	56%
30	43	5,4	2,7	3,7	100%	1,6	80%	60%
31	26	3,4	2,2	2,6	68%	1,4	52%	36%
32	36	5,8	2,5	2,3	96%	2,9	36%	40%
33	25	6,0	2,0	2,1	100%	3,1	20%	12%
34	34	NI						
35	33	NI						
36	19	NI						

6. táblázat. FISH vizsgálat eredményei. 12p: ETV6 jelek átlaga, 21q: RUNX1 jelek átlaga, CEP12: CEP12 jelek átlaga egy adott mintában, 50 sejt vizsgálata alapján, zöld: ≤ 2, narancs: >2 és < 3, piros: ≥ 3; G>A%: 12p>CEP12 sejtek százalékos aránya, G/A arány: 12p/CEP12 arány, Poliszómia 12: kettőnél több CEP12 jelet tartalmazó sejtek aránya, Poliszómia 21: kettőnél több 21q jelet tartalmazó sejtek aránya, piros: meghaladja az álpozitivitás felső határát, zöld: nem haladja meg az álpozitivitás felső határát.

5. Megbeszélés

Vizsgálataink alapján a here teratomák három, egymástól elkülöníthető csoportra oszthatók. A hagyományosan postpubertálisnak nevezett, malignus teratomák mellett a prepubertális, benignus eseteket gyermekkori, illetve felnőttkori altípusokra lehet osztani. A malignus teratomák GCNIS mellett 12p abnormalitást hordoznak, IMP3 pozitívak, jellemzően felnőttkoriak és nagyméretűek. Gyakran tartalmaznak intestinalis, illetve egyéb, nem bőr eredetű hámszövetet, valamint porcszövetet, ritkán tartalmaznak csontszövetet, illetve dermoid cystának megfelelő struktúrákat.

A felnőttkori benignus csoportban GCNIS nincs, emellett IMP3 negativitás, valamint 12p abnormalitás hiánya jellemző a tumorokra, kisméretűek, ritkán tartalmaznak porc-, illetve csontszövetet, valamint nem kután és nem intestinalis hámszövetet, illetve neuronális szövetet.

A gyermekkori teratomák GCNIS negatívak, közepes méretűek, IMP3 pozitívak, de 12p abnormalitást nem hordoznak, gyakran tartalmaznak porc-, illetve csontszövetet, jellemző rájuk a neuronális szövet megjelenése (7. táblázat).

Teratoma típus	Életkor (év)*	GCNIS	IMP3	FISH 12p	Méret (mm)*	Szövettani jellemzők
gyermekkori ¹	0-3	nem	igen	nem	17-31	gyakran porc-, csontszövet, jellemző a neuronális szövet
benignus ²	22-36	nem	nem	nem	9-19	ritkán porc-, csont-, illetve egyéb hámszövet, vagy neuronális
malignus ³	25-31	igen	igen	igen	28-49	ritkán csontszövet, gyakran egyéb hámszövet, vagy neuronális szövet

7. táblázat: A különböző here teratoma típusok jellemzői: *Az életkor és a tumorméret 95% konfidencia intervalluma látható. ¹ WHO prepubertális típusú teratoma, ² WHO prepubertális típusú teratoma postpubertális herében, ³ WHO postpubertális típusú teratoma

5.1. Az átlag életkor jelentősége

Vizsgálataink alapján a gyermekkori (prepubertális) teratomák jellemzően az első életévben fordulnak elő, a konfidencia intervallum 0 - 3 év. Egyetlen három évesnél idősebb beteg mintáját vizsgáltuk ebben a korosztályban. Bár a gyermekkori csoportra jellemző volt az IMP3 pozitívitás, illetve a porcszövet jelenléte, ebben az egy esetben nem figyeltük meg egyik paramétert sem (lásd: később).

5.2. 12p abnormalitás jelentősége teratomában

A csírasejtes heretumороk jelentős részében, beleértve a postpubertális teratomát is, gyakori genetikai aberráció a 12-es kromoszóma rövid karjának sokszorozódása, ami gyakran 12p izokromoszóma, vagy egyéb strukturális anomália formájában jelentkezik. Először ezeket a genetikai eltéréseket konvencionális kariotipizálással írták le, de a jelenség FISH vizsgálattal is kimutatható, akár formalin fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) metszeteket használva. A kezdeti tanulmányokban az izokromoszómát, vagyis egy kromoszóma egyik teljes karjának elvesztését és a másikra cserélődését centromerikus FISH szondákkal vizsgálták, hiszen az eltérés hatására a centromerikus jel megnő. Ez a jelenség azonban FFPE metszeteken nem detektálható megbízhatóan, így a legtöbben két különböző színű FISH szonda kombinációját használják az abnormalitás kimutatására. A 12p izokromoszóma - i(12p) - FISH jelmintázata két 12p-nek megfelelő szonda megjelenése egy centromerikus közvetlen közelében (224.). Ez a jelmintázat azonban csak akkor észlelhető a sejtek jelentős hányadában, ha a 12p szonda közel helyezkedik a centromerikus régióhoz; 12p11-nél telomerikusabbak esetében a jelek nem feltétlenül jelennek meg a centromer közelében interfázis magokban, a tumor-sejtek csupán 2-8%-a mutatja a klasszikus, abnormális FISH jelmintázatot (224). A legtöbb tanulmány csírasejtes tumorok 12p vizsgálatára 12p11-12 régióra specifikus szondákat alkalmazott. Vizsgálatom során 12p13 FISH szondát alkalmaztam, hiszen ez a szonda már rendelkezésre állt laboratóriumunk diagnosztikus repertoárjában, és más vizsgálók is alkalmazták hasonló körülmények között (225).

Számos tanulmány ezért a centromerikus jeleket meghaladó számú 12p jel megjelenése által definiált 12p abnormalitást értékelte csírasejtes tumorokban. A legtöbben (226, 227, 224) a $12p/CEP12 \geq 1,5$ definíciót használta, hiszen i(12p) esetben egy diszómias sejtben három 12p és 2 centromerikus jel látható. I(12p) pozitív sejtvonalak (228) és normál sejtek (229) vizsgálata alapján azonban optimálisabb határérték az $\geq 1,3$, elsősorban azért, mert normális sejtekben kiegyensúlyozott a jelek száma, míg az i(12p) teratomák gyakran mutatnak poliszómiát is. Ez a határérték azonban nem veszi figyelembe az FFPE metszetek vizsgálata során jelentkező trunkációs hatást, illetve a sejtmagok esetleges egymásra vetülése által okozott jelszám eltéréseket.

Pozitív és negatív kontrollokat alkalmazva került meghatározásra a jelmintázat optimális értékelésének stratégiája. 1,5 12p/CEP12 határértéket használva a pozitív kontrollok 16%-a (1/6), a felnőtt teratomás esetek 25%-a (5/20) bizonyult volna álnegatívnak. Mind a hat álnegatív eseten a sejtek csupán nagyjából felében mutatkozott több 12p jel, mint CEP12 jel

(15. ábra). 1,3 határérték mellett nem voltak sem álnegatív, sem álpozitív esetek. A 12p/CEP12 arány azonban megtévesztő lehet, amennyiben jelentős poliszómia is jelen van a sejtekben, illetve, ha a sejtek csupán egy része mutatja az abnormalitást (pl. mesenchymalis komponens értékelése során a tumorsejtekkel keveredő nem-neoplasztikus sejtek jelenléte esetében).

A 12p abnormalitás azonosításának egyszerűbb módja, ha pozitívnak tekintjük azokat a sejteket, melyekben több 12p jel van, mint CEP12, független a kettő arányától. Ez a jelenség azonban normális sejtekben is előfordulhat a sejtmagok trunkációja miatti jelvesztés, vagy a sejtmagok egymásra vetülése miatti jelnyerés kapcsán. Az utóbbi két jelenség következtében az álpozitivitás a negatív kontrollokon átlagosan 15%-nak, a határérték (átlag + 2 × szórás) 31%-nak bizonyult. A pozitív kontrollok vizsgálata során észlelt legkisebb G>A% érték 44% volt, a paraméter tehát nem mutatott átfedést a pozitív és negatív minták között.

5.3. A szöveti jellemzők szerepe

Valamennyi vizsgált teratoma esetében alapvetően differenciált szöveti elemek mutatkoztak, így kijelenthető, hogy a differenciáció fokának nincs prognosztikai jelentősége, annak ellenére, hogy korábban ennek fontosságát hangsúlyozták. A teratoma szekunder szomatikus malignitással nevű entitásra ez a megállapítás nem vonatkozik. A malignus teratomák átlagos mérete meghaladja a benignus teratomákat, a gyermekkoriak átlagosan nagyobbak, mint a felnőttkori benignusok. Egyértelmű, diagnosztikában használható határérték nem állapítható meg, ám 22 mm-nél nagyobb felnőttkori benignus teratomát nem láttunk, míg a malignus esetek csak nagyjából egynegyede volt 22 mm-es, vagy kisebb.

GCNIS kizárólag malignus esetekben volt megfigyelhető, 90%-ban fordult elő a jelenség. Azonban az esetek kb. 22%-ában a rendelkezésre álló szövettani minta nem tette lehetővé ennek felismerését; három esetben nem reprezentálódott here parenchyma, két esetben csak Sertoli sejtek mutatkoztak a tubulusokban. Az esetek kb. 10%-ában csupán minimális mennyiségű GCNIS komponens volt jelen, melynek felismerése kétséges, amennyiben kis mennyiségű parenchyma vizsgálható. A jelenség tehát diagnosztikus, amennyiben jelen van, de hiánya nem zárja ki malignus teratoma lehetőségét

A szövettani komponensek vonatkozásában is jelentős különbségek vannak a három teratoma csoport között. A gyermekkori teratoma és a malignus esetek között a különbséget a csontszövet gyakori előfordulása jelenti az első csoportban. A malignus és a felnőttkori, benignus esetek az intestinális, illetve az egyéb, nem bőr eredetű hámszövetek, valamint a porcshövet előfordulásában térnek el, míg a gyermekkori és a felnőttkori benignus teratomák

kapcsán a dermoid cysta, a neuronális elemek, valamint a porcszövet előfordulása a szignifikáns különbség (5. táblázat). A felnőttkori, benignus teratomák sokkal kevésbé összetettek szövettanilag, mint a másik két teratoma típus, az átlagos szöveti komponensek száma 2,4, míg gyermekkori esetekben 5,3, malignus esetekben 4,0 komponens fordult elő.

5.4. IMP-3 expresszió jelentősége

Az IMP3 expresszió jelentősége a kissé ellentmondásos irodalmi adatok tükrében nem egyértelmű. A gyermekkori esetek pozitivitása ellentmond annak, hogy benignus daganatokban nincs jelen (209,210), ugyanakkor, a felnőttkori benignus eseteink negativitása jól korrelál az i(12)p hiányával, melyek együttesen malignitás ellen szólnak. Hasonló megfigyelésre jutott Cornejo és mtsai, akik a gyermekkori teratomák 45%-ában észleltek reakciót. Érdekes, hogy 2 esetben i(12)p kimutatható volt, tehát ezek benignus volta megkérdőjelezhető, utánkövetési adatokat azonban nem közöltek (164).

Goodman és mtsai pozitív reakciót észleltek férfi és női, primer és metasztatikus teratomákban, azonban negativitást láttak az ovárium dermoid cystáiban (210). Arra a következtetésre jutottak, hogy a férfi és a női daganatok az IMP3 expresszió tekintetében megkülönböztethetők, azonban valójában malignus teratomát (Oosterhuis II-es típus) vetettek össze felnőttkori, benignus tumorokkal (Oosterhuis IV-es típus). Az ovárium malignus csírasejtes tumorait (solid teratoma, yolk sac tumor, embryonalis carcinoma stb.) azonban nem vizsgálták, így összehasonlításuk inkább a felnőttkori benignus és malignus tumorokat érintik.

A gyermekkori esetek pozitivitása azzal magyarázható, hogy a csecsemőkori és kora gyermekkori esetek pluripotens, primordialis eredetű csírasejtjei (1. tábla Oosterhuis), a foetális szövetekhez hasonlóan „megtartották” az IMP3 expressziós képességüket. Az egyetlen gyermekkori teratoma esetünk, ami IMP3 negativitást mutatott 5 éves betegről származott, így felmerül annak a lehetősége, hogy a teratoma a gyakorlatban gyakran megfigyelhető kiérés során elvesztette IMP3 expresszióját, másként fogalmazva a daganat sejtjei, az egyébként kódolt genetikai programot tovább „futtatták” és differenciálódtak - az egyébként normális - IMP3 negatív állapot felé. Vagyis az IMP3 jelenléte nem csak a malignitással - számos malignus daganatban termelődik - hanem a szöveti éréssel is összefüggésben van. Összefoglalva tehát, a gyermekkori esetek embrionális szövetekhez való hasonlósága magyarázhatja az IMP3 expressziót, akkor is, ha az irodalmi adatok alapján benignus tumorokban nincs pozitívítás.

A FISH eredmények, a morfológia és az IMP3 státusz alapján úgy gondoljuk, hogy a a gyermekkori és a felnőttkori benignus esetek tulajdonképpen azonos entitásnak felelnek meg, a közöttük észlelt különbségek (IMP3 jelenléte, szövettani összetétel) az életkorral párhuzamosan zajló „érés”, a kódolt genetikai program következményei. Ez az elmélet illeszkedik Oosterhuis és Loojitenga elképzeléséhez, mely szerint az I es típusú, gyermekkori teratoma ritkán felnőttkorban is jelentkezhet (118, 119, 1. táblázat). Mindazonáltal nem szabad elvetni annak a lehetőségét sem, hogy a fent említett daganattípusok két külön entitásnak felelnek meg. Ezt az új gondolatot független tanulmányokban, nagyobb esetszámon lehetne bizonyítani, vagy cáfolni.

Ezek azt is jelentik, hogy a jelenlegi WHO nevezéktant mindenképpen át kellene gondolni és egyszerűen „benignus” valamint „malignus” jelzőkkel illetni az egyes daganatokat kortól függetlenül.

Tapasztalataink szerint az IMP3 immunhisztokémiai vizsgálat egyértelműen segíti a felnőttkori benignus és malignus teratomák differenciáldiagnosztikáját, hiszen az IMP3 expresszió korrelált a FISH segítségével meghatározott 12p státusszal. Tekintettel arra, hogy az immunhisztokémia szélesebb körben elérhető, mint a FISH, az IMP3 vizsgálata a napi rutinban akár a kisebb kórházakban is nagyban megkönnyítheti a helyes diagnózis felállítását. (5. táblázat)

6. Új eredmények összefoglalása

1. 17 év intézeti sebészi patológiai anyagra alapozva elsőként határoztuk meg a felnőttkori benignus teratoma relatív gyakoriságát. FISH és IMP3 immunhisztokémiai eredményeink alapján minden ötödik felnőttkori tiszta teratoma benignusnak bizonyult.

2. Rámutattunk arra, hogy a felnőttkori jóindulatú esetek szövettanilag is különböznek a rosszindulatúaktól. A rutin diagnosztikában a kisebb tumorméret, valamint ritkán porc-, csont-, illetve egyéb hámszövet, vagy neuronalis elemek, a dermoid cysták illetve a GCNIS hiánya mind a felnőttkori benignus teratomára utaló jel lehet.

3. Elsőként különítettük el a felnőttkori benignus és malignus eseteket biztonsággal egy immunhisztokémiai marker segítségével. Az IMP3 antitesttel a FISH vizsgálatokkal gyakorlatilag teljes konkordancia érhető el a felnőttkori benignus esetek felismerésének tekintetében. Segítségével a kisebb diagnosztikai központokban is biztonsággal kiszűrhetőek a benignus esetek, ami felesleges műtétektől, esetleg kemoterápiától kímélheti meg a betegeket.

4. Eredményeinkre alapozva javasoltuk, a jelenlegi WHO nomenklátúra átgondolását. Úgy véljük, - és a releváns irodalmi adatok is ezt sugallják - hogy a gyermekkori és a felnőttkori benignus esetek néhány eltérő hisztológiai paramétert és az IMP3 expressziót is figyelembe véve valószínűleg egyazon daganatnak felelnek meg. Nem zárhatjuk ki azonban annak a lehetőségét sem, hogy két különböző szubtypusról van szó, ezért még több eset tanulmányozása szükséges a biztos állásfoglaláshoz.

Bármelyik elmélet is nyerjen bizonyítást a jövőben, érdemes lenne egyszerűen „benignus” és „malignus” jelzőkkel ellátni az egyes tumorokat életkorra való tekintet nélkül, a morfológiai, a hisztológiai, a FISH és az IMP3 státusz függvényében, mely egyértelmű útmutatást nyújt a beteg ellátására vonatkozólag mind az urológus, mind az onkológus kollégáknak.

7. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban témavezetőmnek, mentoromnak Dr. Tornóczki Tamásnak szeretnék köszönetet mondani az áldozatkész, kiváló szakmai vezetésért, a folyamatos támogatásért, a konstruktív javaslatokért, aki példát mutatott a mindig érdeklődő, proaktív tudományos gondolkodásról.

Jelen dolgozat nem jöhetett volna létre Dr. Bíró Krisztina segítségével, aki fáradságot nem kímélve kereste ki az Országos Onkológiai Intézet adatbázisából a tiszta teratoma felnőttkori eseteit.

Hálás köszönet Dr. Kajtár Béla munkatársamnak, aki a FISH-vizsgálatokat hatalmas szakmai tapasztalatával értékelte, valamint remek ötleteket adott a dolgozat tartalmi részeihez, objektív, minden részletre kiterjedő tanácsaival folyamatosan segített.

Hálás vagyok Dr. Kálmán Endre zsenialitásának, akivel folyamatosan együtt gondolkodva „érleltük meg” a felnőttkori benignus teratoma létezését, bizonyítását, aki a kezdeti lépéseknél is pótolhatatlan segítséget nyújtott.

Köszönöm Dr. Szuhai Károly segítségét, aki az első esetek FISH vizsgálatával segített hozzá ahhoz, hogy bizonyíthassuk ezt a ritka entitást.

Hálával tartozom a laborban dolgozó munkatársaimnak, Hosnyánszki Diának, Kapitány Emesének, Horváth Bálintnak, akik a FISH vizsgálatok precíz elvégzésével járultak hozzá a dolgozathoz. Köszönöm Pék Zsuzsának valamint Szilágyi Juditnak az immunhisztokémiai vizsgálatok, illetve Komjáthy Máténak a grafikai munkálatok terén nyújtott segítségét.

Külön köszönöm a kiváló urológus munkatársak áldozatos munkáját, akik jóvoltából rálátásom nyílik a here daganatok csodálatos világára.

Hálás vagyok családomnak, Edit feleségemnek és Sára, Dávid, Zalán gyermekeinknek a támogató türelemért, nélkülük ez a munka nem jöhetett volna létre. Végezetül dolgozatomat Sára, Zalán és a kis tudós jelölt Dávid gyermekeinknek ajánlom.

8. Referenciák

1. Langman Orvosi embriológia. Medicina Könyvkiadó, Budapest: 266-268; 270-273; 281-282 2014
2. Kleisner K, Ivell R and Flegr J The evolutionary history of testicular externalization and the origin of the scrotum. *J. Biosci.* 35 27–37, 2010
3. Moore K L The biology of the mammalian testis and scrotum. *Q. Rev. Biol.* 1 4–50 1926
4. Short R V The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire. *Acta. Paediatr. Suppl.* 422 3–7 1997
5. Bedford J M Anatomical evidence for the epididymis as the prime mover in the evolution of the scrotum. *Am. J. Anat.* 152 483–507 1978
6. Werdelin L and Nilsson A The evolution of the scrotum and testicular descent in mammals: a phylogenetic view. *J. Theor. Biol.* 196 61–72 1999
7. Chance M Reason for the externalization of the testis of mammals. *J. Zool. London* 239 691–695 1996
8. Frey R Zur Ursache des Hodenabstiegs (Descensus testicularum) bei Säugetieren. *Z. Zool. Sys. Evolut-Forsch.* 29 40–65 1991
9. Freeman S The evolution of the scrotum: a new hypothesis. *J. Theor. Biol.* 145 429–445 1990
10. Bedford J M Enigmas of mammalian gamete form and function. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 79 429–460. 2004
11. Ruibal R The evolution of the scrotum. *Evolution* 11 376–378 1957

12. Urologic Surgical Pathology Third Edition: David G Botstwick, Lian Cheng editors; Neoplasms of the testis. Thomas M. Ulbright and Robert E. Emerson 742 2014
13. Ewa Rajpert-De Meyts, Katherine A McGlynn, Keisei Okamoto, Michael A S Jewett, Carsten Bokemeyer Testicular germ cell tumours. *Lancet* 2016; 387: 1762–74 2015
14. Swerdlow AJ, De Stavola BL, Swanwick MA, Maconochie NE. Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales: evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet*; 350: 1723–28 1997
15. Kharazmi E, Hemminki K, Pukkala E, et al. Cancer risk in relatives of testicular cancer patients by histology type and age at diagnosis: a joint study from five Nordic countries. *Eur Urol*; 68: 283–89 2015
16. Forman D, Gallagher R, Moller H, Swerdlow TJ: Aetiology and epidemiology of testicular cancer: report of consensus group. *Prog Clin Biol Res.* 357:245-253 1990
17. Pearce N, Sheppard RA, Howard JK, et al.: Time trends and occupational differences in cancer of the testis in New Zealand. *Cancer.* 59:1677-1682 1987
18. Swerdlow AJ: The epidemiology of testicular cancer. *Eur Urol.*23 (Suppl 2):35-38 1993
19. Muir C, Waterhouse J, Mack T, et al.: Cancer incidence in five continents. volume V International Agency for Research on Cancer Lyon, France 1987
20. Schottenfeld D, Warshauer ME, Sherlock S, et al.: The epidemiology of testicular cancer in young adults. *Am J Epidemiol.* 112:232-246 1980
21. Thompson IM, Optenberg S, Byers R, Dove M: Increased incidence of testicular cancer in active duty members of the Department of Defense. *Urology.* 53:806-807 1999
22. Swerdlow AJ, Skeet RG: Occupational associations of testicular cancer in south east England. *Br J Indust Med.* 45:225-230 1988

23. McDowall ME, Balarajan R: Testicular cancer mortality in England and Wales 1971-80: variations by occupation. *J Epidemiol Comm Health.* 40:26-29 1986
24. Ross RK, McCurtis JW, Henderson BE, et al.: Descriptive epidemiology of testicular and prostatic cancer in Los Angeles. *Br J Cancer.* 39:284-292 1979
25. Graham S, Gibson R, West D, et al.: Epidemiology of cancer of the testis in Upstate New York. *J Natl Cancer Inst.* 58:1255-1261 1977
26. Davies JM: Testicular cancer in England and Wales: some epidemiological aspects. *Lancet.* 1:928-932 1981
27. Akre O, Ekblom A, Hsieh CC, et al.: Testicular nonseminoma and seminoma in relation to perinatal characteristics. *J Natl Cancer Inst.* 88:883-889 1996
28. Harding M, Hole D, Gillis C: The epidemiology of non-seminomatous germ cell tumours in the west of Scotland 1975-89. *Br J Cancer.* 72:1559-1562 1995
29. Haughey BP, Graham S, Brasure J, et al.: The epidemiology of testicular cancer in upstate New York. *Am J Epidemiol.* 130:25-36 1989
30. Hardell L, Nasman A, Ohlson CG, Fredrikson M: Case-control study on risk factors for testicular cancer. *Int J Oncol.* 13:1299-1303 1998
31. Marshall EG, Melius JM, London MA, et al.: Investigation of a testicular cancer cluster using a case-control approach. *Int J Epidemiol.* 19:269-273 1990
32. Centers for Disease Control and Prevention: Testicular cancer in leather workers: Fulton County, New York. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 38:105-106 1989
33. Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K: Cancer incidence in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *J Occup Environ Med.* 41:279-288 1999

34. Rhomberg W, Schmoll HJ, Schneider B: High frequency of metalworkers among patients with seminomatous tumors of the testis: a case-control study. *Am J Ind Med.* 28:79-87 1995
35. Davis RL, Mostofi FK: Cluster of testicular cancer in police officers exposed to hand-held radar. *Am J Ind Med.* 24:231-233 1993
36. Ducatman AM, Conwill DE, Crawl J: Germ cell tumors of the testicle among aircraft repairmen. *J Urol.* 136:834-836 1986
37. Foley S, Middleton S, Stitson D, Mahoney M: The incidence of testicular cancer in Royal Air Force personnel. *Br J Urol.* 76:495-496 1995
38. Gallagher RP, Huchcroft S, Phillips N, et al.: Physical activity, medical history, and risk of testicular cancer (Alberta and British Columbia, Canada). *Cancer Causes Control.* 6:398-406 1995
39. Swerdlow AJ, Huttly SR, Smith PG: Prenatal and familial associations of testicular cancer. *Br J Cancer.* 55:571-577 1987
40. DePue RH, Pike MC, Henderson BE: Estrogen exposure during gestation and risk of testicular cancer. *J Natl Cancer Inst.* 71:1151-1155 1983
41. Strohsnitter WC, Noller KL, Hoover RN, et al.: Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst.* 93:545-551 2001
42. Ekblom A: Growing evidence that several human cancers may originate in utero. *Semin Cancer Biol.* 8:237-244 1998
43. Crawford RD: The case for iron repletion as a promoter in testicular cancer. *Med Hypotheses.* 51:129-132 1998
44. Anonymous: Social, behavioural and medical factors in the aetiology of testicular cancer: results from the UK study. UK Testicular Cancer Study Group. *Br J Cancer.* 70:513-520 1994

45. Majsky A, Abrahamova J, Korinkova P, Bek V: HLA system and testicular germinative tumours. *Oncology*. 36:228-231 1979
46. Carr BI, Bach FH: Possible association between HLA-Aw24 and metastatic germ-cell tumours. *Lancet*. 1:7156-7157 1979
47. Pollack MS, Vugrin D, Hennessy W, et al.: HLA antigens in patients with germ cell cancers of the testis. *Cancer Res*.42:2470-2473 1982
48. Dieckmann KP, von Keyserlingk HJ: HLA association of testicular seminoma. *Klin Wochenschr*. 66:337-339 1988
49. Kratzik C, Aiginger P, Kuzmits R, et al.: HLA-antigen distribution in seminoma, HCG-positive seminoma and non-seminomatous tumours of the testis. *Urol Res*. 17:377-380 1989
50. Oliver RT: HLA phenotype and clinicopathological behaviour of germ cell tumours: possible evidence for clonal evolution from seminomas to nonseminomas. *Int J Androl*. 10:85-93 1987
51. DeWolf WC, Lange PH, Einarson ME, Yunis EJ: HLA and testicular cancer. *Nature*. 277:216-217 1979
52. Dieckmann KP, Klan R, Bunte S: HLA antigens, Lewis antigens, and blood groups in patients with testicular germ-cell tumors. *Oncology (Basel)*. 50:252-258 1993
53. Moss AR, Osmond D, Bacchetti P, et al.: Hormonal risk factors in testicular cancer: a case control study. *Am J Epidemiol*.124:39-52 1986
54. Weir HK, Kreiger N, Marrett LD: Age at puberty and risk of testicular germ cell cancer (Ontario, Canada). *Cancer Causes Control*. 9:253-258 1998
55. Braun MM, Ahlbom A, Floderus B, et al.: Effect of twinship on incidence of cancer of the testis, breast, and other sites (Sweden). *Cancer Causes Control*. 6:519-524 1995

56. Swerdlow AJ, De Stavola BL, Swanwick MA, Maconochie NE: Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales: evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet*. 350:1723-1728 1997
57. Lykkesfeldt G, Bennett P, Lykkesfeldt AE, et al.: Testis cancer: ichthyosis constitutes a significant risk factor. *Cancer*. 67:730-734 1991
58. Dexeus FH, Logothetis CJ, Chong C, et al.: Genetic abnormalities in men with germ cell tumors. *J Urol*. 140:80-84 1988
59. Li FP, Fraumeni JF Jr: Testicular cancers in children: epidemiologic characteristics. *J Natl Cancer Inst*. 48:1575-1582 1972
60. Cook MB, Akre O, Forman D, Madigan MP, Richiardi L, McGlynn KA.: A systematic review and meta-analysis of perinatal variables in relation to the risk of testicular cancer experiences of the son. *Int J Epidemiol*; 39: 1605–18 2010
61. Sigg C, Pelloni F: Dysplastic nevi and germ cell tumors of the testis: a possible further tumor in the spectrum of associated malignancies in dysplastic nevus syndrome. *Dermatologica*. 176:109-110 1988
62. Moller H: Clues to the aetiology of testicular germ cell tumours from descriptive epidemiology. *Eur Urol*. 23:8-13 1993
63. Bergstrom R, Adami HO, Mohner M, et al.: Increase in testicular cancer incidence in six European countries: a birth cohort phenomenon. *J Natl Cancer Inst*. 88:727-733 1996
64. Ekblom A, Akre O: Increasing incidence of testicular cancer: birth cohort effects. *APMIS*. 106:225-229 1998
65. Looijenga LHJ: Human testicular (non)seminomatous germ cell tumours: the clinical implications of recent pathobiological insights. *J Pathol*. 218:146-162 2009

66. Rajpert-De Meyts E: Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update.* 12:303-323 2006
67. Nordkap L, Joensen UN, Jensen MB, Jorgensen N: Regional differences and temporal trends in male reproductive health disorders: semen quality may be a sensitive marker of environmental exposures. *Mol Cell Endocrinol.* 355:221-230 2012
68. Yiee JH, Baskin LS: Environmental factors in genitourinary development. *J Urol.* 184:34-41 2010
69. Pottern LM, Brown LM, Hoover RN, et al.: Testicular cancer risk among young men: role of cryptorchidism and inguinal hernia. *J Natl Cancer Inst.* 74:377-381 1985
70. Pike MC, Chilvers C, Peckham MJ: Effects of age at orchidopexy on risk of testicular cancer. *Lancet.* 1:1246-1248 1986
71. Giwercman A, Muller J, Skakkebaek NE: Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes from 399 men who died suddenly and unexpectedly. *J Urol.* 145:77-80 1991
72. Dieckmann KP, Skakkebaek NE: Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features. *Int J Cancer.*83:815-822 1999
73. Dieckmann KP, Loy V: Prevalence of bilateral testicular germ cell tumors and early detection by testicular intraepithelial neoplasia. *Eur Urol.* 23 (Suppl 2):22-23 1993
74. Giwercman A, Berthelsen JG, Muller J, et al.: Screening for carcinoma-in-situ of the testis. *Int J Androl.* 10:173-180 1987
75. Loy V, Dieckmann KP: Prevalence of contralateral testicular intraepithelial neoplasia (carcinoma in situ) in patients with testicular germ cell tumour: results of the German multicentre study. *Eur Urol.* 23:120-122 1993

76. Dieckmann KP, Pichlmeier U: The prevalence of familial testicular cancer: an analysis of two patient populations and a review of the literature. *Cancer*. 80:1954-1960 1997
77. Fuller DB, Plenk HP: Malignant testicular germ cell tumors in a father and two sons: case report and literature review. *Cancer*.58:955-958 1986
78. Tollerud DJ, Blattner WA, Fraser MC, et al.: Familial testicular cancer and urogenital developmental anomalies. *Cancer*.55:1849-1854 1985
79. Forman D, Oliver RT, Brett AR, et al.: Familial testicular cancer: a report of the UK family register, estimation of risk and an HLA class 1 sib-pair analysis. *Br J Cancer*. 65:255-262 1992
- 80 Rutgers JL, Scully RE: Pathology of the testis in intersex syndromes. *Semin Diagn Pathol*. 4:275-291 1987
81. Hughesdon PE, Kumarasamy T: Mixed germ cell tumours (gonadoblastomas) in normal and dysgenetic gonads: case reports and review. *Virchows Arch A Pathol Pathol Anat.*;349(3):258-80 1970
82. Manuel M, Katayama KP, Jones HW: The age of occurrence of gonadal tumors in intersex patients. *Am J Obstet Gynecol*.124:293-306 1976
83. Morris JM: The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. *Am J Obstet Gynecol*. 65:1192-1211 1953
84. Rutgers JL: Advances in the pathology of intersex syndromes. *Hum Pathol*. 22:884-891 1991
85. Rutgers JL, Scully RE: The androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a clinicopathologic study of 43 cases. *Int J Gynecol Pathol*. 10:126-145 1991
86. Ewing J: Teratoma testis and its derivatives. *Surg Gynecol* 12: 230-261 1911

87. Ivan Damjanov and Nicolai Wewer-Albrechtsen: Testicular germ cell tumors and related research from a historical point of view *Int. J. Dev. Biol.* 57: 197-200 2013
88. Stevens LC: The development of transplantable teratocarcinoma from intratesticular grafts of pre- and post-implantation mouse embryos. *Dev Biol* 21: 364-381 1970
89. Damjanov I and Solter D: Experimental teratoma. *Curr Top Pathol* 59: 69-130 1974
90. Stevens LC: Biology of teratomas. *Adv Morphog* 6: 1-31 1967
91. Young RH and Scully RE: Testicular and paratesticular tumors and tumor-like lesions of ovarian common epithelial and müllerian types. *Am J Clin Pathol* 12:56-64 1986
92. Dahl V and Bahn RC: Abnormal adrenal cortical tissue near the testis in human infants. *Am J Pathol* 40: 587-591 1962
93. Friedman NB and Moore RA: Tumors of the testis. *Military Surg* 99: 573-593 1946
94. Skakkebaek NE: Carcinoma in situ of the testis: frequency and relationship to invasive germ cell tumours in infertile men. *Histopathology* 2: 157-170 1978
95. Dixon FJ and Moore RA: Tumors of the Male Sex Organs. Fascicles 31b and 32. *Atlas of Tumor Pathology*, Armed Forces Institute of Pathology, Washington 1952
96. Pierce GB and Abell MR: Embryonal carcinoma of the testis. *Pathol Annu* 5:27-60 1970
97. Mostofi FK and Sobin LH: *Histologic Typing of Testis Tumours*. World Health Organization, Geneva 1977
98. Pugh RCB: *Pathology of the Testis*. Blackwell Scientific, Oxford. pp. 139-159 1976
99. Eble JE, Sauter G, Epstein JI and Sesterhenn IA, Eds.: *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. IARC Press, Lyon 2004

100. Zhang C, Berney DM, Hirsch MS, Cheng L, Ulbright TM.: Evidence supporting the existence of benign teratomas of the postpubertal testis: a clinical, histopathologic, and molecular genetic analysis of 25 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*; 37; 827–835 2013
101. Semjen D, Kalman E, Tornoczky T, Szuhai K.: Further Evidence of the Existence of Benign Teratomas of the Postpubertal Testis. *Am. J. Surg. Pathol.* 38; 580-581 2014
102. Williamson S R, Delahunt B, Magi-Galluzzi C, Algaba F, Egevad L, Ulbright T M, Tickoo S K, Srigley J R, Epstein J I & Berney DM: 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*; 70: 335–346 2017
103. Skakkebaek NE.: Possible carcinoma-in-situ of the testis. *Lancet*; 2 (7776):516-72; 7 1972
104. Skakkebaek NE.: Atypical germ cells in the adjacent ‘normal’ tissue of testicular tumours. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. A*; 83; 127–130 1975
105. Emerson RE, Cheng L.: Premalignancy of the testis and paratestis. *Pathology*; 45; 264–272 2013
106. Jones TD, Ulbright TM, Eble JN, Cheng L. OCT4: a sensitive and specific biomarker for intratubular germ cell neoplasia of the testis. *Clin. Cancer Res.*; 10; 8544–8547 2004
107. von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, Sorensen BL, Christophersen IS, Hald T, et al. Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 293:1398-401 1986
108. Skakkebaek N, Berthelsen J, Visfeldt J. Clinical aspects of testicular carcinoma-in-situ. *Int J Androl* . 4 Suppl:153-62 1981
109. Berney DM, Lee A, Shamash J, Oliver RT. The association between intratubular seminoma and invasive germ cell tumors. *Hum. Pathol.*; 37; 458–461 2006

110. Lau SK, Weiss LM, Chu PG.: Association of intratubular seminoma and intratubular embryonal carcinoma with invasive testicular germ cell tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*; 31; 1045–1049 2007
111. Oosterhuis JW, Kersemaekers AM, Jacobsen GK et al. Morphology of testicular parenchyma adjacent to germ cell tumours. An interim report. *APMIS*; 111; 32–40; discussion 41–42 2003
112. Berney DM, Lee A, Randle SJ, Jordan S, Shamash J, Oliver RT. The frequency of intratubular embryonal carcinoma: implications for the pathogenesis of germ cell tumours. *Histopathology*; 45; 155–161 2004
113. Balzer BL, Ulbright TM. Spontaneous regression of testicular germ cell tumors: an analysis of 42 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*; 30; 858–865 2006
114. Rakheja D, Hoang MP, Sharma S, Albores-Saavedra J. Intratubular embryonal carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.*; 126; 487–490 2002
115. Berney DM, Lee A, Shamash J, Oliver RT. The frequency and distribution of intratubular trophoblast in association with germ cell tumors of the testis. *Am. J. Surg. Pathol.*; 29; 1300–1303 2005
116. Eble JN. Spermatocytic seminoma. *Hum. Pathol.*; 25; 2 1994
117. Ulbright TM, Amin MB, Balzer B et al. Germ cell tumours. In Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE eds. *World Health Organization classification of tumours of the urinary system and male genital organs*. Lyon: IARC Press; 189–226 2016
118. Pathology and Biology of Human Germ Cell Tumors: Francisco F. Nogales, Rafael E. Jimenez Editors; *Germ Cell Tumors from a Developmental Perspective: Cells of Origin, Pathogenesis, and Molecular Biology (Emerging Patterns)* J. Wolter Oosterhuis and Leendert H.J. Looijenga; 22-29 2017

119. Oosterhuis J.W. and Looijenga L.H.J. Testicular germ-cell tumors in a broader perspective
Article in Nature reviews. Cancer · April 2005
120. Surani MA, Barton SC, Norris ML. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature.*; 308(5959):548–50 1984
121. McGrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell.*;37(1):179–183 1984
- 122.. Surani MA, Barton SC, Norris ML. Nuclear transplantation in the mouse: heritable differences between parental genomes after activation of the embryonic genome. *Cell.*;45(1):127–136 1986
123. Gkountela S, Li Z, Vincent JJ, Zhang KX, Chen A, Pellegrini M, et al. The ontogeny of cKIT⁺ human primordial germ cells proves to be a resource for human germ line reprogramming, imprint erasure and in vitro differentiation. *Nat Cell Biol.*;15(1):113–122 2013
124. Kim S, Gunesdogan U, Zyllicz JJ, Hackett JA, Cougot D, Bao S, et al. PRMT5 protects genomic integrity during global DNA demethylation in primordial germ cells and preimplantation embryos. *Mol Cell.*;56(4):564–579 2014
125. Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maarri O, Reik W, et al. Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech Dev.*;117(1–2):15–23 2002
126. Hajkova P, Jeffries SJ, Lee C, Miller N, Jackson SP, Surani MA. Genome-wide reprogramming in the mouse germ line entails the base excision repair pathway. *Science.*;329(5987):78–82 2010
127. Surani A, Tischler J. Stem cells: a sporadic super state. *Nature.*;487(7405):43–45 2012
128. Slack JM. Origin of stem cells in organogenesis. *Science.*;322(5907):1498–1501 2008
129. Wylie C. Germ cells. *Cell.*;96(2):165–174 1999

130. McLaren A. Primordial germ cells in the mouse. *Dev Biol.*;262(1):1–15 2003
- 131.129. Scholer HR, Balling R, Hatzopoulos AK, Suzuki N, Gruss P. Octamer binding proteins confer transcriptional activity in early mouse embryogenesis. *EMBO J.*;8(9):2551–7 1989
132. Scholer HR, Hatzopoulos AK, Balling R, Suzuki N, Gruss P. A family of octamer-specific proteins present during mouse embryogenesis: evidence for germline-specific expression of an Oct factor. *Embo J.*;8(9):2543–50 1989
133. Ovitt CE, Scholer HR. The molecular biology of Oct-4 in the early mouse embryo. *Mol Hum Reprod.*;4(11):1021–31 1998
134. Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, Niwa H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell.*;95(3):379–391 1998
135. Yeom YI, Fuhrmann G, Ovitt CE, Brehm A, Ohbo K, Gross M, et al. Germline regulatory element of Oct-4 specific for the totipotent cycle of embryonal cells. *Development.*;122(3):881–94 1996
136. Niakan KK, Eggan K. Analysis of human embryos from zygote to blastocyst reveals distinct gene expression patterns relative to the mouse. *Dev Biol.*;375(1):54–64 2013
137. Honecker F, Stoop H, de Krijger RR, Chris Lau YF, Bokemeyer C, Looijenga LH. Pathobiological implications of the expression of markers of testicular carcinoma in situ by fetal germ cells. *J Pathol.*;203(3):849–57 2004
138. Schepers GE, Teasdale RD, Koopman P. Twenty pairs of sox: extent, homology, and nomenclature of the mouse and human sox transcription factor gene families. *Dev Cell.*;3(2):167–170 2002

139. Clark AT, Rodriguez RT, Bodnar MS, Abeyta MJ, Cedars MI, Turek PJ, et al. Human STELLAR, NANOG, and GDF3 genes are expressed in pluripotent cells and map to chromosome 12p13, a hotspot for teratocarcinoma. *Stem Cells.*;22(2):169–79 2004
140. Irie N, Weinberger L, Tang WW, Kobayashi T, Viukov S, Manor YS, et al. SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate. *Cell.*;160(1–2):253–268 2015
141. Mamsen LS, Brochner CB, Byskov AG, Mollgard K. The migration and loss of human primordial germ stem cells from the hind gut epithelium towards the gonadal ridge. *Int J Dev Biol.*;56(10–12):771–778 2012
142. Teilum G. Special tumors of ovary and testis and related extragonadal lesions: comparative pathology and histological identification. Copenhagen: Munksgaard 1976
143. Gonzalez-Crussi F. Extragonadal teratomas. atlas of tumor pathology, Second Series. Armed Forces Institute of Pathology: Washington, D.C 1982.
144. Oosterhuis JW, Stoop H, Honecker F, Looijenga LH. Why human extragonadal germ cell tumours occur in the midline of the body: old concepts, new perspectives. *Int J Androl.*;30(4):256–63; discussion 263–4 2007
145. Runyan C, Gu Y, Shoemaker A, Looijenga L, Wylie C. The distribution and behavior of extragonadal primordial germ cells in Bax mutant mice suggest a novel origin for sacrococcygeal germ cell tumors. *Int J Dev Biol.*;52(4):333–344 2008
146. Matsui Y, Mochizuki K. A current view of the epigenome in mouse primordial germ cells. *Mol Reprod Dev.*;81(2):160–70 2014
147. Ly L, Chan D, Trasler JM. Developmental windows of susceptibility for epigenetic inheritance through the male germline. *Semin Cell Dev Biol.*;43:96–105 2015

148. Macfarlan TS, Gifford WD, Driscoll S, Lettieri K, Rowe HM, Bonanomi D, et al. Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity. *Nature*.;487(7405):57–63 2012
149. Ulbright TM. Gonadal teratomas: a review and speculation. *Adv. Anat. Pathol.*; 11; 10–23 2004
150. Ulbright TM, Loehrer PJ, Roth LM, Einhorn LH, Williams SD, Clark SA.: The development of non-germ cell malignancies within germ cell tumors. A clinicopathologic study of 11 cases. *Cancer*; 54; 1824–1833 1984
151. Motzer RJ, Amsterdam A, Prieto V et al.: Teratoma with malignant transformation: diverse malignant histologies arising in men with germ cell tumors. *J. Urol.*; 159; 133–138 1998
152. Ahmed T, Bosl GJ, Hajdu SI.: Teratoma with malignant transformation in germ cell tumors in men. *Cancer*; 56; 860– 863 1985
153. Michael H, Hull MT, Foster RS, Sweeney CJ, Ulbright TM.: Nephroblastoma-like tumors in patients with testicular germ cell tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*; 22; 1107–1114 1998
154. Michael H, Hull MT, Ulbright TM, Foster RS, Miller KD.: Primitive neuroectodermal tumors arising in testicular germ cell neoplasms. *Am. J. Surg. Pathol.*; 21; 896–904 1997
155. Idrees MT, Kuhar M, Ulbright TM et al.: Clonal evidence for the progression of a testicular germ cell tumor to angiosarcoma. *Hum. Pathol.*; 41; 139–144 2010
156. Allen EA, Burger PC, Epstein JI.: Microcystic meningioma arising in a mixed germ cell tumor of the testis: a case report. *Am. J. Surg. Pathol.*; 23; 1131–1135 1999
157. Emerson RE, Ulbright TM, Zhang S, Foster RS, Eble JN, Cheng L.: Nephroblastoma arising in a germ cell tumor of testicular origin. *Am. J. Surg. Pathol.*; 28; 687–692 2004
158. Kasai T, Moriyama K, Tsuji M, Uema K, Sakurai N, Fujii Y.: Adenocarcinoma arising from a mature cystic teratoma of the testis. *Int. J. Urol.*; 10; 505–509 2003

159. Williamson SR, Kum JB, Shah SR et al.: Signet ring cell carcinoma of the testis: clinicopathologic and molecular evidence for germ cell tumor origin - a case report. *Am. J. Surg. Pathol.*; 36; 311–315 2012
160. Guo CC, Punar M, Contreras AL et al.: Testicular germ cell tumors with sarcomatous components: an analysis of 33 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*; 33; 1173–1178 2009
161. Kum JB, Ulbright TM, Williamson SR et al.: Molecular genetic evidence supporting the origin of somatic-type malignancy and teratoma from the same progenitor cell. *Am. J. Surg. Pathol.*; 36; 1849–1856 2012
162. Bussey KJ, Lawce HJ, Olson SB et al.: Chromosome abnormalities of eighty-one pediatric germ cell tumors: sex-, age-, site-, and histopathology-related differences—a Children’s Cancer Group study. *Genes Chromosom. Cancer*; 25; 134–146 1999
163. Cornejo KM, Cheng L, Church A, Wang M, Jiang Z.: Chromosome 12p abnormalities and IMP3 expression in prepubertal pure testicular teratomas. *Hum. Pathol.*; 49; 54–60 2016
164. Grady RW, Ross JH, Kay R.: Epidemiological features of testicular teratoma in a prepubertal population. *J. Urol.*; 158; 1191–1192 1997
165. Visfeldt J, Jorgensen N, Muller J, Moller H, Skakkebaek NE.: Testicular germ cell tumours of childhood in Denmark, 1943– 1989: incidence and evaluation of histology using immunohistochemical techniques. *J. Pathol.*; 174; 39–47 1994

166. Semjén D, Farkas A, Kalman E, Kaszas B, Kovács A, Pusztai Cs, Szuhai K, Tornóczy More Cases of Benign Testicular Teratomas are Detected in Adults than in Children. A Clinicopathological Study of 543 Testicular Germ Cell Tumor Cases: *T Pathol. Oncol. Res.* 016-0120-3 2016
167. Ulbright TM, Srigley JR. Dermoid cyst of the testis: a study of five postpubertal cases, including a pilomatrixoma-like variant, with evidence supporting its separate classification from mature testicular teratoma. *Am. J. Surg. Pathol.*; 25; 788–793 2001
168. Oosterhuis JW, Castedo SM, de Jong B, et al.: Ploidy of primary germ cell tumors of the testis. Pathogenetic and clinical relevance. *Lab Invest*; 60: 14–21 1989
169. Atkin NB, Baker MC.: Specific chromosome change, i(12p), in testicular tumours? *Lancet*; 2: 1349 1982
170. Goddard NC, McIntyre A, Summersgill B, Gilbert D, Kitazawa S, Shipley J.: KIT and RAS signalling pathways in testicular germ cell tumours: new data and a review of the literature. *Int J Androl*; 30: 337–49 2007
171. Tian Q, Frierson HF Jr, Krystal GW, Moskaluk CA.: Activating c-kit gene mutations in human germ cell tumors. *Am J Pathol*; 154: 1643–47 1999
172. Biermann K, Göke F, Nettersheim D, et al. c-KIT is frequently mutated in bilateral germ cell tumours and down-regulated during progression from intratubular germ cell neoplasia to seminoma. *J Pathol*; 213: 311–18 2007
173. Ewa Rajpert-De Meyts, Katherine A McGlynn, Keisei Okamoto, Michael A S Jewett, Carsten Bokemeyer Testicular germ cell tumours *Lancet*; 387: 1762–74 2016
174. Pathak A, Stewart DR, Faucz FR, et al.: Rare inactivating PDE11 A variants associated with testicular germ cell tumors. *Endocr Relat Cancer*; 22: 909–17 2015
175. Pleskacova J, Hersmus R, Oosterhuis JW, et al. Tumor risk in disorders of sex development. *Sex Dev*; 4: 259–69 2010

176. Lottrup G, Jørgensen A, Nielsen JE, et al.: Identification of a novel androgen receptor mutation in a family with multiple components compatible with the testicular dysgenesis syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*; 98: 2223–29 2013
177. Nathanson KL, Kanetsky PA, Hawes R, et al. The Y deletion gr/gr and susceptibility to testicular germ cell tumor. *Am J Hum Genet*; 77: 1034–43 2005
178. Ferlin A, Ganz F, Pengo M, Selice R, Frigo AC, Foresta C.: Association of testicular germ cell tumor with polymorphisms in estrogen receptor and steroid metabolism genes. *Endocr Relat Cancer*; 17: 17–25 2010
179. Kristiansen W, Andreassen KE, Karlsson R, et al.: Gene variations in sex hormone pathways and the risk of testicular germ cell tumour: a case-parent triad study in a Norwegian-Swedish population. *Hum Reprod*; 27: 1525–35 2012
180. Kanetsky PA, Mitra N, Vardhanabhuti S, et al.: Common variation in KITLG and at 5q31.3 predisposes to testicular germ cell cancer. *Nat Genet*; 41: 811–15 2009
181. Rapley EA, Turnbull C, Al Olama AA, et al, and the UK Testicular Cancer Collaboration.: A genome-wide association study of testicular germ cell tumor. *Nat Genet*; 41: 807–10 2009
182. Karlsson R, Andreassen KE, Kristiansen W, et al.: Investigation of six testicular germ cell tumor susceptibility genes suggests a parent-of-origin effect in SPRY4. *Hum Mol Genet*; 22: 3373–80 2013
183. Turnbull C, Rapley EA, Seal S, et al, and the UK Testicular Cancer Collaboration.: Variants near DMRT1, TERT and ATF7IP are associated with testicular germ cell cancer. *Nat Genet*; 42: 604–07 2010
184. Kanetsky PA, Mitra N, Vardhanabhuti S, et al.: A second independent locus within DMRT1 is associated with testicular germ cell tumor susceptibility. *Hum Mol Genet*; 20: 3109–17 2011

185. Ruark E, Seal S, McDonald H, et al, and the UK Testicular Cancer Collaboration (UKTCC).: Identification of nine new susceptibility loci for testicular cancer, including variants near DAZL and PRDM14. *Nat Genet*; 45: 686–89 2013
186. Chung CC, Kanetsky PA, Wang Z, et al.: Meta-analysis identifies four new loci associated with testicular germ cell tumor. *Nat Genet*; 45: 680–85 2013
187. Matson CK, Murphy MW, Sarver AL, Griswold MD, Bardwell VJ, Zarkower D. DMRT1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. *Nature*; 476: 101–04 2011
188. Jørgensen A, Nielsen JE, Almstrup K, Toft BG, Petersen BL, Rajpert-De Meyts E.: Dysregulation of the mitosis–meiosis switch in testicular carcinoma in situ. *J Pathol*; 229: 588–98 2013
189. Mazaud-Guittot S, Nicolas Nicolaz C, Desdoits-Lethimonier C, et al.: Paracetamol, aspirin, and indomethacin induce endocrine disturbances in the human fetal testis capable of interfering with testicular descent. *J Clin Endocrinol Metab*; 98: e1757–67 2013
190. Kawakami T, Zhang C, Okada Y, Okamoto K.: Erasure of methylation imprint at the promoter and CTCF-binding site upstream of H19 in human testicular germ cell tumors of adolescents indicate their fetal germ cell origin. *Oncogene*; 25: 3225–36 2006
191. Smiraglia DJ, Szymanska J, Kraggerud SM, Lothe RA, Peltomäki P, Plass C.: Distinct epigenetic phenotypes in seminomatous and nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Oncogene*; 21: 3909–16 2002
192. Netto GJ, Nakai Y, Nakayama M, et al.: Global DNA hypomethylation in intratubular germ cell neoplasia and seminoma, but not in nonseminomatous male germ cell tumors. *Mod Pathol*; 21: 1337–44 2008
193. Almstrup K, Nielsen JE, Mlynarska O, et al.: Carcinoma in situ testis displays permissive chromatin modifications similar to immature foetal germ cells. *Br J Cancer*; 103: 1269–76 2010

194. Wermann H, Stoop H, Gillis AJ, et al.: Global DNA methylation in fetal human germ cells and germ cell tumours: association with differentiation and cisplatin resistance. *J Pathol*; 221: 433–42 2010
195. Ushida H, Kawakami T, Minami K, et al.: Methylation profile of DNA repetitive elements in human testicular germ cell tumor. *Mol Carcinog*; 51: 711–22 2012
196. Okamoto K. Epigenetics: a way to understand the origin and biology of testicular germ cell tumors. *Int J Urol*; 19: 504–11 2012
197. Nettersheim D, Heukamp LC, Fronhoff s F, et al. Analysis of TETexpression/activity and 5mC oxidation during normal and malignant germ cell development. *PLoS One*; 8:e82881 2013
198. Kristensen DG, Nielsen JE, Jørgensen A, Skakkebcck NE, Rajpert-De Meyts E, Almstrup K. Evidence that active demethylation mechanisms maintain the genome of carcinoma in situ cells hypomethylated in the adult testis. *Br J Cancer*; 110: 668–78 2014
199. Looijenga LH, Stoop H, de Leeuw HP, et al. POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res*; 63: 2244–50 2003
200. Almstrup K, Hoei-Hansen CE, Wirkner U, et al. Embryonic stem cell-like features of testicular carcinoma in situ revealed by genome-wide gene expression profiling. *Cancer Res*; 64: 4736–43 2004
201. Skotheim RI, Lind GE, Monni O, et al. Differentiation of human embryonal carcinomas in vitro and in vivo reveals expression profiles relevant to normal development. *Cancer Res*; 65: 5588–98 2005
202. Minami K, Chano T, Kawakami T, et al. DNMT3L is a novel marker and is essential for the growth of human embryonal carcinoma. *Clin Cancer Res*; 16: 2751–59 2010
203. West JA, Viswanathan SR, Yabuuchi A, et al. A role for Lin28 in primordial germ-cell development and germ-cell malignancy. *Nature*; 460: 909–13 2009

204. Monk D, Bentley L, Beechey C, Hitchins M, Peters J, Preece MA, et al. Characterisation of the growth regulating gene IMP3, a candidate for Silver-Russell syndrome. *J Med Genet.*;39(8):575–81 2002
205. Poole RL, Leith DJ, Docherty LE, Shmela ME, Gicquel C, Splitt M, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome caused by maternally inherited mutation of an OCT-binding motif in the IGF2/H19-imprinting control region, ICR1. *Eur J Human Genet: EJHG.*;20(2):240–3 2012
206. Gong Y, Woda BA and Jiang Z: Oncofetal protein IMP3, a new cancer biomarker. *Adv Anat Pathol*;21: 191-200 2014
207. Vikesaa J, Hansen TV, Jønson L, Borup R, Wewer UM, Christiansen J and Nielsen FC: RNA-binding IMPs promote cell adhesion and invadopodia formation. *EMBO J*; 25: 1456-1468. 2006
208. Hammer NA, Hansen T, Byskov AG, Rajpert-De Meyts E, Grondahl ML, Bredkjaer HE, et al. Expression of IGF-II mRNA-binding proteins (IMPs) in gonads and testicular cancer. *Reproduction.*;130(2):203–12 2005
209. Shi M, Fraire AE, Chu P, Cornejo K, Woda BA, Dresser K, et al. Oncofetal protein IMP3, a new diagnostic biomarker to distinguish malignant mesothelioma from reactive mesothelial proliferation. *Am J Surg Pathol.*;35(6):878–82 2011
210. Goodman S, Zhang L, Cheng L, Jiang Z. Differential expression of IMP3 between male and female mature teratomas-immunohistochemical evidence of malignant nature. *Histopathology.*;65(4):483–9 2014
211. Jiang Z, Lohse CM, Chu PG, Wu CL, Woda BA, Rock KL and Kwon ED: Oncofetal protein IMP3: A novel molecular marker that predicts metastasis of papillary and chromophobe renal cell carcinomas. *Cancer*; 112: 2676-2682 2008

212. Damasceno EA, Carneiro FP, Magalhães AV, Carneiro MV, Takano GH, Vianna LM, Seidler HB, Castro TM, Muniz-Junqueira MI, Amorim RF, et al: IMP3 expression in gastric cancer: Association with clinicopathological features and HER2 status. *J Cancer Res Clin Oncol*; 140: 2163-2168 2014
213. Jeng YM, Chang CC, Hu FC, Chou HY, Kao HL, Wang TH and Hsu HC: RNA-binding protein insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression promotes tumor invasion and predicts early recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*;48:1118-1127 2008
214. Xu H, Bourne PA, Spaulding BO and Wang HL: High-grade neuroendocrine carcinomas of the lung express K homology domain containing protein overexpressed in cancer but carcinoid tumors do not. *Hum Pathol*;38:555-563 2007
215. Li D, Yan D, Tang H, Zhou C, Fan J, Li S, Wang X, Xia J, Huang F, Qiu G, et al: IMP3 is a novel prognostic marker that correlates with colon cancer progression and pathogenesis. *Ann Surg Oncol*;16: 3499-3506 2009
216. Lok T, Chen L, Lin F and Wang HL: Immunohistochemical distinction between intrahepatic cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Hum Pathol*;45: 394-400 2014
217. Marcela Chiste', John Alexis, Monica Recine: IMP3 Expression in Serous Tumors of the Ovary *Appl Immunohistochem Mol Morphol*;22:658–662 2014
218. Yan J, Wei Q, Jian W, Qiu B, Wen J, Liu J, Fu B, Zhou X and Zhao T: IMP3 predicts invasion and prognosis in human lung adenocarcinoma. *Lung* 194: 137-146 2016.
219. Schaeffer DF, Owen DR, Lim HJ, Buczkowski AK, Chung SW, Scudamore CH, Huntsman DG, Ng SS and Owen DA: Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3 (IGF2BP3) overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma correlates with poor survival. *BMC Cancer* 10: 59 2010.

220. Jiang Z, Chu PG, Woda BA, Rock KL, Liu Q, Hsieh CC, Li C, Chen W, Duan HO, McDougal S, et al: Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: A retrospective study. *Lancet Oncol* 7: 556-564 2006.
221. Pathology and Biology of Human Germ Cell Tumors: Francisco F. Nogales • Rafael E. Jimenez Editors; Diagnostic Immunopathology of Germ Cell Tumors. Ovidiu Preda and Francisco F. Nogales; 145-146 2017
222. Pajor L, Szuhai K, Mehes G, et al. Combined metaphase, interphase cytogenetic, and flow cytometric analysis of DNA content of pediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Cytometry*;34:87–94 1998
223. Tamás Tornóczky, Endre Kálmán, Zoltán Sápi, Zsolt Orosz, László Pajor Cytogenetic abnormalities of alveolar soft-part sarcomas using interphase fluorescent in situ hybridization: trisomy for chromosome 7 and monosomy for chromosomes 8 and 18 seem to be characteristic of the tumor *Virchows Arch* 438:173–180 2001
224. Cossu-Rocca P. Chromosoma 12p abnormalities in dysgerminoma of the ovary: a FISH analysis. *Modern Pathology* 19, 611–615 2006
225. Velagaleti GV1, Tapper JK, Rampy BA, Zhang S, Hawkins JC, Lockhart LH. A rapid and noninvasive method for detecting tissue-limited mosaicism: detection of i(12)(p10) in buccal smear from a child with Pallister-Killian syndrome. *Genet Test*. Fall;7(3):219-23 2003
226. Cheng L, Zhang S, Eble JN, Beck SD, Foster RS, Wang M, Ulbright TM. Molecular genetic evidence supporting the neoplastic nature of fibrous stroma in testicular teratoma. *Mod Pathol*. Oct;25(10):1432-8 2012
227. Kernek KM, Brunelli M, Ulbright TM, et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of chromosome 12p in paraffin-embedded tissue is useful for establishing germ cell origin of metastatic tumors. *Mod Pathol*;17:1309–1313 2004

228. Mostert MM, van de Pol M, van Echten J, Olde Weghuis D, Geurts van Kessel A, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Fluorescence in situ hybridization-based approaches for detection of 12p overrepresentation, in particular i(12p), in cell lines of human testicular germ cell tumors of adults. *Cancer Genet Cytogenet.*;87(2):95-102 1996

229. Wehle D, Yonescu R, Long PP, Gala N, Epstein J, Griffin CA. Fluorescence in situ hybridization of 12p in germ cell tumors using a bacterial artificial chromosome clone 12p probe on paraffin-embedded tissue: clinical test validation. *Cancer Genet Cytogenet.*;183(2):99-104 2008

9. Az értekezés alapját képező publikációk

Eredeti közlemények

1. **Semjen D**, Kalman E, Tornoczky T, Szuhai K.: Further Evidence of the Existence of Benign Teratomas of the Postpubertal Testis. *Am. J. Surg. Pathol.* 38; 580-581 2014. If.: 5.145

2. **Semjen D**, Farkas A, Kalman E, Kaszas B, Kovacs A, Pusztai Cs, Szuhai K, Tornoczky More Cases of Benign Testicular Teratomas are Detected in Adults than in Children. A Clinicopathological Study of 543 Testicular Germ Cell Tumor Cases: *T Pathol. Oncol. Res.*016-0120-3 2016. If.: 1.736

Impakt faktor összesen: 6,881

Előadások:

1. A here daganatok patológiája. **Semjén Dávid** 73. Patológus Kongresszus Siófok, Prémium Hotel Panoráma 2017.09.29

Poszter előadás:

1. Benignus testicularis teratoma gyakrabban detektálható felnőttekben mint gyerekekben. Klinikopatológiai tanulmány 541 testicularis csírasejtes tumor kapcsán. **Semjén Dávid**, Kajtár Béla, Tornóczki Tamás, 72. Patológus Kongresszus Hajdúszoboszló, Hunguest Béke Hotel, 2015. szeptember 24-26.

2. Benignus testicularis teratoma gyakrabban detektálható felnőttekben mint gyerekekben. Klinikopatológiai tanulmány 541 testicularis csírasejtes tumor kapcsán. **Semjén Dávid**, Kajtár Béla, Tornóczki Tamás, Fűvészkerti urológus napok - urofarsang 2016 továbbképző tanfolyam, Budapest, Hilton 2016. február 19-20. poszter bemutató és szóbeli előadás.

3. Ruzsics István, **Semjén Dávid**, Dérczy Katalin, Sárosi Veronika A tüdőrák, mint stigma A Magyar Tüdőgyógyász Társaság Onkopulmonológiai és Légzésrehabilitációs szekció konferenciája, 2011. december 1-3., Legjobb Poszter díj 2011

Egyéb publikációk - eredeti közlemények

1. Lukacs G, Toth Z, Sipos D, Csima M, Hadjiev J, Bajzik G, Cselik Zs, **Semjen D**, Repa I, Kovacs A Long term follow-up results of concomitant chemoradiotherapy followed by adjuvant temozolomide therapy for glioblastoma multiforme patients. The importance of MRI information in survival: Single-center experience IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE 71:(3-4) pp. 95-103. 2018

2. Fábíán Károly, Mohay Gabriella, **Semjén Dávid**, Pintér András, Vástyán Attila Herecysta gyermekkorban – Egy kevésbé ismert entitás GYERMEKGYÓGYÁSZAT 68:(2) pp. 117-119. 2017

3. Tamas A, Javorhazy A, Reglodi D, Sarlos DP, Banyai D, **Semjen D**, Nemeth J, Lelesz B, Fulop DB, Szanto Z Examination of PACAP-Like Immunoreactivity in Urogenital Tumor Samples. JOURNAL OF MOLECULAR NEUROSCIENCE 59:(2) pp. 177-183. 2016 If.: 2.229

4. Nagy A, Banyai D, **Semjen D**, Beothe T, Kovacs G Sciellin is a marker for papillary renal cell tumours VIRCHOWS ARCHIV 467:(6) pp. 695-700. 2015 If.: 2.627

5. Pusztai Csaba, **Semjén Dávid**, Bányai Dániel, Sarlós Donát Péter, Farkas László, Szántó Árpád Laparoszófia szerepe a vese angiomyolipomák sebészi kezelésében MAGYAR UROLÓGIA 27:(1) pp. 2-6. (2015)

6. **Semjén D**, Fábos Z, Pakodi F, Vincze A, Szabó I, Degrell P, Csete M, Tornóczy T Renal involvement in Crohn's disease: granulomatous inflammation in the form of mass lesion EUROPEAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 23:(12) pp. 1267-1269. 2011 If.:1.757

7. Bányai D, Pusztai Cs, Bagheri F, **Semjén D**, Farkas L A kórszövettani vizsgálatkor "kritikusnak" vagy "pozitívnak" véleményezett sebészi szél klinikai relevanciája parciális nephrectomiák kapcsán MAGYAR UROLÓGIA 22:(3) p. 151. (2010)

8. Tornóczy T, **Semjen D**, Shimada H, Ambros IM Pathology of peripheral neuroblastic tumors: Significance of prominent nucleoli in undifferentiated/poorly differentiated neuroblastoma PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 13:(4) pp. 269-275. 2007 If.: 1.272

Impakt faktor összesen: 14,766