



**TESTİKÜLER SEMİNOMDA TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN
İMMÜNFENOTİPİK ANALİZİ**

**Ramadan Bilgin AKALIN
1198209202**

**TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül İSAL ARSLAN**

Tez No: 2023/280

2025-TEKİRDAĞ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TESTİKÜLER SEMİNOMDA TÜMÖR
MİKROÇEVRESİNİN İMMÜNFENOTİPİK ANALİZİ**

Ramadan Bilgin AKALIN

1198209202

**TÜMÖR BİYOLJİSİ VE İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül İSAL ARSLAN**

Tez No: 2023/280

2025- TEKİRDAĞ

KABUL VE ONAY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül İSAL ARSLAN danışmanlığında yürütölmüş bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

13 / 06 / 2025



Jüri Başkanı

Üye

Üye

Üye

Üye

Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Ramadan Bilgin AKALIN'ın “Testiküler Seminomda Tümör Mikroçevresinin İmmünfenotipik Analizi” başlıklı tezi 13/06/2025 günü saat 14:00’da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğı’nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecinde danışmanlığımı üstlenen, akademik rehberliği ve yönlendirmeleri ile bana yol gösteren, danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül İSAL ARSLAN'a

Tez çalışmam sürecinde bana her konuda destek olan, içinden çıkmakta zorlandığım süreçlerde maddi-manevi yanımda olduğunu hissettiren değerli arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali ŞİMŞEK'e

Çalışmalarım süresince destekleriyle yanımda olan ve bu süreçte sınırsız bir şekilde laboratuvarının kapılarını bana açan, tez izleme komitemde de bulunarak beni destekleyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif POLAT'a, yine tez izleme komitemde bulunarak bana yol gösteren hocam Sayın Prof. Dr. Nuray CAN'a

Tezimde kullanmış olduğum klinik verileri toplamamda bana yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Dr. Erdem Can TOPKAÇ'a

Bütün bu yorucu ve güçlüklerle dolu doktora eğitimimde beni daima destekleyen, manevi olarak bana güç veren, başta annem olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Akahn, R.B. Testiküler Seminomda Tümör Mikroçevresinin İmmünofenotipik Analizi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Tekirdağ, 2025.

Testiküler seminom, erkeklerde en sık görülen germ hücreli tümörlerden biridir. Bu tezin amacı, testiküler seminomun tümör mikroçevresini immünofenotipik açıdan incelenerek, testiküler seminom örneklerinde CD4+, CD8+ ve CD163+ hücrelerin varlığının belirlenmesi ve bunların tümör evreleri, serum tümör belirteçleri ve lenfovasküler invazyon (LVI) ile ilişkilerini araştırmaktır. Ayrıca, immün hücrelerin tümör mikroçevresindeki dağılımının tümör prognozuna etkisi incelenmesidir. Bu amaçla materyal olarak, çeşitli klinik evrelerdeki seminom hastalarından alınan testis dokusu örnekleri kullanılmıştır. Bu örnekler immünohistokimyasal yöntemle boyanarak, CD4+, CD8+ ve CD163+ hücreler analiz edilmiştir. Yapay zeka destekli dijital patoloji analizi, özellikle CD8+ hücrelerin sayımı ve yerleşiminin hassasiyetle yapılmasına olanak sağlamıştır. YOLO modelinden faydalanılarak yapılan bu analiz, immün hücrelerin yoğunluklarını doğru bir şekilde tespit etmeye katkı sağlamıştır. İstatistiksel analizler sonucunda, CD4+ hücrelerin evre II seminomada daha yoğun olduğu, ancak CD8+ ve CD163+ hücrelerin dağılımındaki farkların klinik açıdan anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, testiküler seminomun tümör mikroçevresindeki immün hücrelerin rolünü anlamada önemli bir katkı sunmaktadır. CD4+ hücre yoğunluğundaki artışın evre II seminomlarda belirgin olduğu ve bu artışın prognoz üzerinde potansiyel olarak olumlu bir etkisi olabileceği ortaya konmuştur. Yapay zeka desteğiyle yapılan analizler, immün hücrelerin daha hassas bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlamış ve gelecekteki çalışmalar için dijital patoloji analizlerinin önemini vurgulamıştır. Bu çalışma, testiküler seminomun tedavi ve prognoz yönetiminde yeni yaklaşımlar geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Testiküler Seminom, Tümör Mikroçevresi, İmmünofenotipik Analiz, Yapay Zeka, CD4+ T Hücreleri, CD8+ T Hücreleri, CD163+ T Hücreleri

ABSTRACT

Akalin, R.B. Immunophenotypic Analysis of Tumor Microenvironment in Testicular Seminoma, PhD Thesis, Department of Tumor Biology and Immunology, Institute of Health Sciences, Tekirdağ Namık Kemal University, Tekirdağ, 2025. Testicular seminoma is one of the most common germ cell tumors in men. The aim of this thesis is to examine the tumor microenvironment of testicular seminoma from an immunophenotypic perspective, to determine the presence of CD4+, CD8+ and CD163+ cells in testicular seminoma samples and to investigate their relationship with tumor stages, serum tumor markers and lymphovascular invasion (LVI). In addition, to examine the effect of the distribution of immune cells in the tumor microenvironment on tumor prognosis. For this purpose, testicular tissue samples taken from seminoma patients at various clinical stages were used as material. These samples were stained with immunohistochemical methods and CD4+, CD8+ and CD163+ cells were analyzed. Artificial intelligence-supported digital pathology analysis allowed the counting and localization of CD8+ cells in particular with precision. This analysis, which was performed by utilizing the YOLO model, contributed to the accurate determination of the density of immune cells. As a result of statistical analyses, it was observed that CD4+ cells were more dense in stage II seminoma, but the differences in the distribution of CD8+ and CD163+ cells were not clinically significant. These findings provide an important contribution to understanding the role of immune cells in the tumor microenvironment of testicular seminoma. It was revealed that the increase in CD4+ cell density was significant in stage II seminomas and that this increase could have a potential positive effect on prognosis. The analyses performed with the support of artificial intelligence allowed for a more sensitive evaluation of immune cells and emphasized the importance of digital pathology analyses for future studies. This study may contribute to the development of new approaches in the treatment and prognosis management of testicular seminoma.

Keywords: Testicular Seminomas, Tumor Microenvironment, Immunophenotypic Analysis, Artificial Intelligence, CD4+ T Cells, CD8+ T Cells, CD163+ T Cells

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	iv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Testis Anatomisi ve Fizyolojisi.....	5
2.2. Testis Tümörleri ve Epidemiyolojisi.....	8
2.2.1. Genel Sınıflandırma (Germ Hücreli ve Germ Hücre Dışı Tümörler)	8
2.2.2. Germ Hücreli Tümörlerin Alt Tipleri: Seminom ve Non-Seminom.....	9
2.2.3. Epidemiyoloji (Yaş, Coğrafi Dağılım, İnsidans)	10
2.2.4. Seminomanın Diğer Türlerden Ayırt Edici Özellikleri.....	11
2.3. Testiküler Seminom: Histopatolojik Özellikler	13
2.3.1. Mikroskopik ve Makroskopik Yapı	13
2.3.2. İmmünohistokimyasal Belirteçler	14
2.3.3. TNM Evreleme Sistemine Genel Bakış	16
2.4. Tümör Mikroçevresi (TMÇ) Kavramı	18
2.4.1. TMÇ'nin Tanımı ve Bileşenleri	18
2.4.2. İmmün Sistemin TMÇ İçindeki Rolü.....	21
2.5. Tümör İnfiltrat Lenfositler (TIL) ve İmmünolojik Profil.....	22
2.5.1. CD4+ Yardımcı T Hücreleri ve CD8+ Sitotoksik T Hücreleri	24
2.5.2. CD163+ M2 Makrofajlar ve Tümör Destekleyici Etkileri.....	25
2.5.3. İmmün Hücre Yoğunluğu, Lokalizasyonu ve Prognostik Değerleri.....	26
2.6. İmmün Mikroçevre Analizinde Yapay Zeka Destekli Değerlendirilmesi	28
2.7. Literatürdeki Boşluklar ve Bu Çalışmanın Gerekliliği	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32

3.1. Patolojik Sayım ve İmmünofenotipik Analiz.....	32
3.1.1 Çalışma Grubu ve Klinik Veriler	32
3.1.2. Histopatolojik İnceleme	32
3.1.3. İmmünohistokimyasal Yöntemler	32
3.1.4. İmmünreaktivite Değerlendirmesi	33
3.2. Yapay Zekaya Dayalı İmmünofenotipik Analiz	33
3.2.1. Veri seti	34
3.2.2. Deney ortamı	37
3.2.3. Kullanılan Metrikler	37
3.3. İstatiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR.....	40
4.1. Patolojik Sayım ve İmmünofenotipik Analiz.....	40
4.1.1. Katılımcılara İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler	40
4.1.2. Normal Dağılım İncelemesi	41
4.1.3. Hipotez Testleri	41
4.2. Yapay Zekaya Dayalı İmmünofenotipik Analiz	43
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	67
EKLER.....	79
ÖZGEÇMİŞ	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	Alfa-fetoprotein
AI	Artificial Intelligence (Yapay Zeka)
CD	Cluster of Differentiation
CD4+	Yardımcı T hücreleri
CD8+	Sitotoksik T hücreleri
CD163+	M2 fenotipli makrofajlar
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECM	Ekstraselüler Matris
EGF	Epidermal büyüme faktörü
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
LVI	Lenfovasküler invazyon
mAP	Mean Average Precision
MMP	Matriks metalloproteinaz
PD-1	Programmed cell death protein 1
PD-L1	Programmed cell death ligand 1
TIL	Tümör infiltre lenfositler
YOLO	You Only Look Once (derin öğrenme tabanlı görüntü tanıma modeli)
β -HCG	Beta-human chorionic gonadotropin
LDH	Laktat dehidrogenaz
TNM	Tümör-Lenf Nodları-Metastaz (evreleme sistemi)
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü
H&E	Hematoksilen ve Eozin (histolojik boyama yöntemi)
B7-H1	B7-Homolog 1 (PD-L1'nin alternatif adı)
MHC	Major histocompatibility complex
TME	Tümör mikroçevresi (Tumor Microenvironment)
GCNIS	Germ hücre neoplazisi in situ
Treg	Regülatör T hücreleri
SALL4	Sal-like protein 4 (pluripotens transkripsiyon faktörü)
c-KIT (CD117)	Stem hücre faktör reseptörü

PLAP	Plasental alkalen fosfataz
OCT4	Octamer-binding transcription factor 4
SOX2	SRY-box 2 (embriyonik kök hücre belirteci)
BCL-2	B-cell lymphoma 2 (anti-apoptotik protein)
M2	Makrofajların polarize olmuş anti-inflamatuar formu
M1	Makrofajların polarize olmuş pro-inflamatuar formu
TGF- β	Transforming Growth Factor Beta (dönüştürücü büyüme faktörü beta)
TNF- α	Tümör nekroz faktörü alfa
Ki-67	Hücre proliferasyon belirteci
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole (DNA boyama)
TGF- β	Transforming growth factor-beta
NOD	Node of Ranvier (sinirsel ileti noktası, bağışıklık sistemi içinde)
BCR	B hücre reseptörü
AIC	Akaike Information Criterion (model değerlendirme aracı)
CNN	Convolutional Neural Network (derin öğrenme ağı)
ROC	Receiver Operating Characteristic (algoritma doğruluk ölçümü)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Testisin Anatomik Yapısı	5
Şekil 2.2. Testis ve Epididimis	6
Şekil 2.3. Seminifer tübüller ile interstisyel bölmenin bileşenleri arasındaki morfolojik ilişkileri gösteren düşük güçte transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü..	7
Şekil 2.4. Işık mikroskobu altında hematoksilin ve eozin boyama ile değerlendirilen farklı testis germ hücre tümörlerinin (TGCT'ler) histolojik kompozisyonu	9
Şekil 2.5. Tümör hücreleri, tümör gelişimi sırasında çevre dokulardan stromal hücreleri.....	19
Şekil 2.6. Kanser ilişkili fibroblastların (CAF) olası hücrel kökenleri ve tümör progresyonundaki temel rolleri.	20
Şekil 3.1. Ventana Benchmark XT Otomatik Boyama Cihazı (solda) ve Boyamada kullanılan primer antikorlar.....	33
Şekil 3.2. CD8 primer antikor ile boyanmış hücre görüntüleri.....	36
Şekil 3.3. RoboFlow aracılığı ile etiketlenmiş bir hücre görüntüsü	37
Şekil 4.1. 200 epoch boyunca elde edilen eğitim verileri.	45
Şekil 4.2. Test verisine ait bir CD8 immünboyamalı doku görüntüsü üzerinde model tarafından yapılan tespitler.	46
Şekil 4.3. Test veri setine ait örnek görüntülerin etiketlenmiş ve model tahminleriyle elde edilmiş halleri	47
Şekil 4.4. Test veri setine ait karışıklık matrisi.....	49

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. İmmünohistokimyasal Belirteçler	15
Tablo 2.2. Testis Tümörlerinde TNM+S Evreleme Tablosu.....	18
Tablo 4.1. Katılımcılara İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler	40
Tablo 4.2. Tümör Evresi ve LVİ Dağılımı	40
Tablo 4.3. Normal Dağılım İncelemesi	41
Tablo 4.4. Korelasyon Analizi Sonuçları	41
Tablo 4.5. Bağımsız Gruplarda T Testi Sonuçları (Tümör Evresi).....	42
Tablo 4.6. Bağımsız Gruplarda T Testi Sonuçları (LVİ)	43
Tablo 4.7. Model performans metrikleri	44
Tablo 4.8. Test veri setinden seçilen üç örnek görüntüye ait model tahmin performansı	48

1. GİRİŞ

Testis germ hücreli tümörleri (TGCT), özellikle genç erişkin erkeklerde en sık görülen malign neoplazilerden biridir (Gayer ve diğ. 2022; van der Meer ve diğ. 2024). TGCT'nin temel alt tipleri olan seminoma ve non-seminoma, sıklık bakımından birbirine yakındır; güncel epidemiyolojik çalışmalar her iki grupta tümör oranlarının yaklaşık %50'ye yakın olduğunu göstermiştir (Gayer ve diğ. 2022; McHugh ve diğ. 2024). Bununla birlikte, dünya genelinde beyaz/kafkasyalı popülasyonda insidans en yüksektir (National Cancer Institute 2025). Örneğin, 2010-2019 döneminde Hollanda'da 20–34 yaş arası genç erişkinlerde seminom insidansı 4.4'den 11.4'e çıkmıştır (van der Meer ve diğ. 2024). Amerika Birleşik Devletleri'ne ait verilerde testis kanseri insidansı yılda erkek başına 6.0/100.000 civarında rapor edilmiştir (National Cancer Institute 2025). Kriptorşidizm, ailede testis tümörü öyküsü, kısırlık ve bazı genetik sendromlar gibi risk faktörleri seminom gelişiminde rol oynar. Genel sağkalım TGCT'lerde çok iyi (%95'in üzerinde beş yıllık sağkalım) olmakla birlikte, ilerlemiş veya nüks riski yüksek olgularda hastalık gidişatı daha karmaşıktır (Lobo ve diğ. 2019).

Histopatolojik olarak klasik seminomalar, geniş, düzgün yuvarlak veya çokgen hücre kümelerinden oluşur; hücre sitoplazması genellikle berrak ve glikojen-yoğun olup belirgin hücre sınırları içerir. Hücre çekirdekleri tek veya birden fazla belirgindir. Seminoma lezyonları, hassas fibröz septalarla ayrılmış çok nodüler demetler veya örgüler hâlinde büyüme eğilimindedir; bu septalar, genellikle zengin lenfosit, plazma hücresi ve eozinofil infiltrasyonu ile karakterizedir. Bu yaygın inflamatuvar infiltrat seminomayı diğer GCT'lerden ayıran önemli bir özelliktir (Alexiev ve diğ. 2016; National Cancer Institute 2025). Hücre hiyerarşisi veya farklılaşma derecesi düşük olduğunda, lokal nekroz veya syncytiotroblastik yapılaşmalar nadir de olsa görülebilir. Seminoma tanısı genellikle CD117 (c-KIT) ve OCT4 gibi germ hücre markırlarıyla doğrulanır; patolojide seminomalara özgü moleküler değişiklikler klasifikasyon sistemleriyle tanımlanmıştır (ör. Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırması) (McHugh ve diğ. 2024).

Testis doğal olarak immün ayrıcalıklı (immune-privileged) bir organdır; kan-testi bariyeri, Leydig ve Sertoli hücrelerinden salınan immünsüpresif faktörler ile özel immün modülatör hücre popülasyonları sayesinde germ hücrelerini otoimmün yanıtıtan korur (Khambata ve diğ. 2021). Bununla birlikte, seminom gelişimiyle bu tolerojenik ortam bozulur ve tümör mikroçevresi önemli ölçüde değişime uğrar. Seminom dokularında karakteristik olarak belirgin bir tümör-infiltrasyonlu lenfosit (TIL) ve makrofaj infiltrasyonu gözlenir (Alexiev ve diğ. 2016; Gayer ve diğ. 2022). Önemli bir yapı olarak seminom odağında yüksek endotelial venül (HEV) benzeri damar oluşumu rapor edilmiştir; bu HEV-benzeri yapılar lenfositlerin tümör ortamına etkin göçünü kolaylaştırarak, tıpkı lenf düğümlerindeki lenfosit homing'ine benzer mekanizmalarla işlev görür. Sakai ve diğ. (2014) çalışması, seminomalarda MECA-79 ile tanımlanan HEV-benzeri damarların varlığını ve bunlara tutunan lenfositlerin çoğunluğunun T hücresi olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, seminom mikroçevresindeki lenfositik infiltrasyonun aktif ve düzenli bir sürecin sonucu olduğunu işaret eder (Sakai ve diğ. 2014). Öte yandan, tümör etrafında toplanan lenfoid yapılar (tertiyer lenfoid yapılar) ve bu yapıları besleyen endotel hücreleri seminomda hala araştırılması gereken bir konudur.

Seminom dokusunda gözlenen bağışıklık hücresi profili, esas olarak sitotoksik T lenfositlerin (CD8+) predominansı ile tanımlanır. Çok sayıda vaka serisinde, seminom dokusundaki T hücrelerinin çoğunluğunu CD8+ hücreler oluşturmakta; CD4/CD8 oranı büyük çoğunlukta 1'in altında kalmaktadır (Lobo ve diğ. 2019; Gayer ve diğ. 2022). Bir çalışmada hastaların %81,4'ünde CD8+ hücreler CD4+ hücrelerden fazla iken, sadece %18,6 vakada T-hücrelerinin çoğu CD4+ olduğu gösterilmiştir (Lobo ve diğ. 2019). Benzer şekilde, literatürde seminoma antijenlerine karşı spontan CD4+ ve CD8+ T hücre yanıtları rapor edilmiştir (Gayer ve diğ. 2022). Makrofaj infiltrasyonu da seminomalarda anlamlıdır; normal testise kıyasla hem CD68+ hem de CD163+ makrofaj yoğunluğu belirgin şekilde artmıştır. CD163, M2 tipi (anti-inflamatuar) makrofajların yüzey belirteci olarak bilinir ve seminomalarda da CD163+ hücrelerin sıklıkla olduğunu gösteren immunhistokimyasal bulgular vardır (Zheng ve diğ. 2016). Bu durum, tümör mikroçevresinin pro-inflamatuar bir ortam oluşturduğunu gösterse de CD163 ekspresyonunun sadece M2 polarizasyonu değil, aynı zamanda

TME'deki IL-6 ve laktat gibi sinyaller tarafından uyarılabildiği düşünülebilir (Gayer ve diğ. 2022).

Seminomun immünolojik profili klinik anlam taşır. Testiküler GCT'lerde yaygın olarak saptanan PD-L1 ve CTLA-4 gibi immün baskılayıcı moleküller, tümör çevresindeki bağışıklık hücrelerinde yüksektir (Lobo ve diğ. 2019; Sadigh ve diğ. 2020). Özellikle seminom olgularında, tümör hücrelerinden ziyade tümör ilişkili makrofajlarda PD-L1 pozitifliği baskındır. Sadigh ve diğ. (2020) seminomlarda intratümoral PD-L1+ makrofaj sayısının NSGCT'lere göre anlamlı derecede fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca, lokalize seminomlarda aktifleşmiş TIL oranı ileri evreye kıyasla daha yüksek bulunmuş; PD-L1 pozitif immün hücre yokluğu ise relapsız sağkalımı olumsuz etkilemiştir (Lobo ve diğ. 2019; Sadigh ve diğ. 2020). Bu bulgular, immün mikroçevredeki fenotipin seminomun prognozu ve tedavi yanıtıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, seminomda spesifik olarak CD163+ makrofajların rolü ve bunların prognozla ilişkisi konusunda literatürde sınırlı veri vardır. Benzer şekilde, immün hücrelerin doku içindeki dağılımı, Treg hücreleri ve sitokin profillerinin seminom biyolojisindeki önemi henüz tam olarak aydınlatılmış değildir.

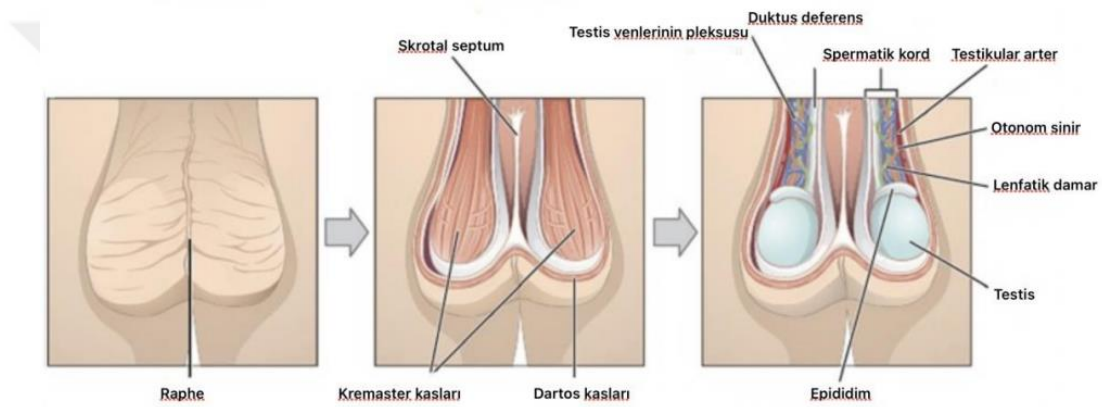
Son yıllarda dijital patoloji alanında yapay zekâ uygulamaları giderek önem kazanmaktadır. Seminomalarda dijital histolojik görüntü analizi, tümör mikromorfolojisinin niceliksel değerlendirilmesi için potansiyel sunar. Örneğin, Ghosh ve diğ. (2021) seminom dokusundaki lenfovasküler invazyonu saptamak üzere yapay zekâ algoritması geliştirmiş ve dijital slaytlarda invazyon şüpheli alanları otomatik işaretlemenin mümkün olduğunu göstermiştir. Ayrıca bazı çalışmalar, derin öğrenme tabanlı yöntemlerle tümör-infiltrasyonlu lenfositleri otomatik olarak tanımayı denemiştir (Colling ve diğ. 2021). Nesne algılama modellerinden YOLO (You Only Look Once) ve türevleri, çok yüksek hız ve doğrulukla nükleus veya hücre tespiti yapabilmeleri nedeniyle tıp görüntülerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Liu ve diğ. 2023). Bu yaklaşımlar sayesinde, immunfenotipik analizin nicel parametrelere dönüştürülmesi ve hasta bazlı analizlerin standartlaştırılması mümkün olabilir.

Literatürde seminom mikroçevresine ilişkin bilgiler artmakla birlikte, bu alanda hâlâ açıklanmamış noktalar bulunmaktadır. Örneğin, seminom hücre türleri arasında ve hastadan hastaya görülen immün hücre profili farklılıkları tam netlik kazanmış değildir. Özellikle CD163+ makrofajların klinik önemi ve diğer immün belirteçlerle ilişkisi kapsamlı çalışmalar gerektirmektedir. Ayrıca yapay zekâ temelli yöntemlerle dijital patoloji analizi halen gelişme aşamasındadır; seminom örneklerinde bu tür bir analiz ile hangi biyobelirteçlerin bulunabileceği, terapötik hedeflerin belirlenmesi veya prognoz tahmini için nasıl kullanılabileceği henüz tam aydınlatılmamıştır. Bu bağlamda, bu tez çalışmasının amacı testiküler seminomda tümör mikroçevresi ve immün infiltrasyonu (özellikle CD4+, CD8+ T hücreleri ve CD163+ makrofajlar) detaylı olarak incelemek; ayrıca dijital patolojide yapay zekâ temelli yaklaşımların bu süreçteki potansiyel katkısını ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

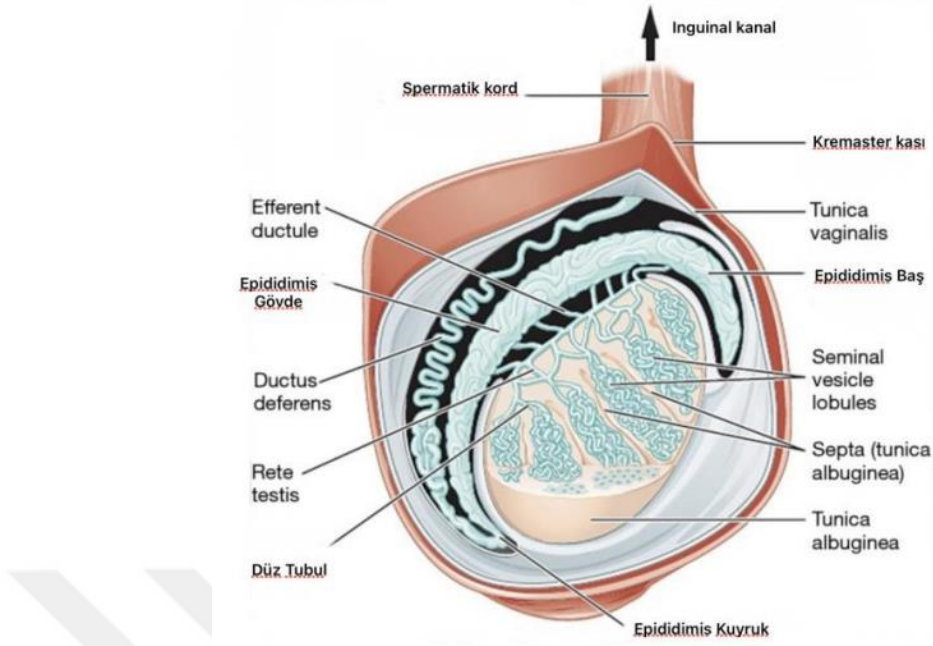
2.1. Testis Anatomisi ve Fizyolojisi

Testisler, erkek üreme sisteminin çift yapıtlı gonadlarıdır ve hem sperm üretimi (ekzokrin fonksiyon) hem de testosteron gibi androjen hormonlarının sentezi (endokrin fonksiyon) açısından merkezi bir rol oynarlar (O'Donnell ve diğ. 2017). Skrotum içinde yer alan bu oval yapılar (Şekil 2.1), vücut sıcaklığından birkaç derece daha düşük bir ortamda bulunarak spermatogenez için optimal termal koşulları sağlarlar (Abdelhamid ve diğ. 2019).



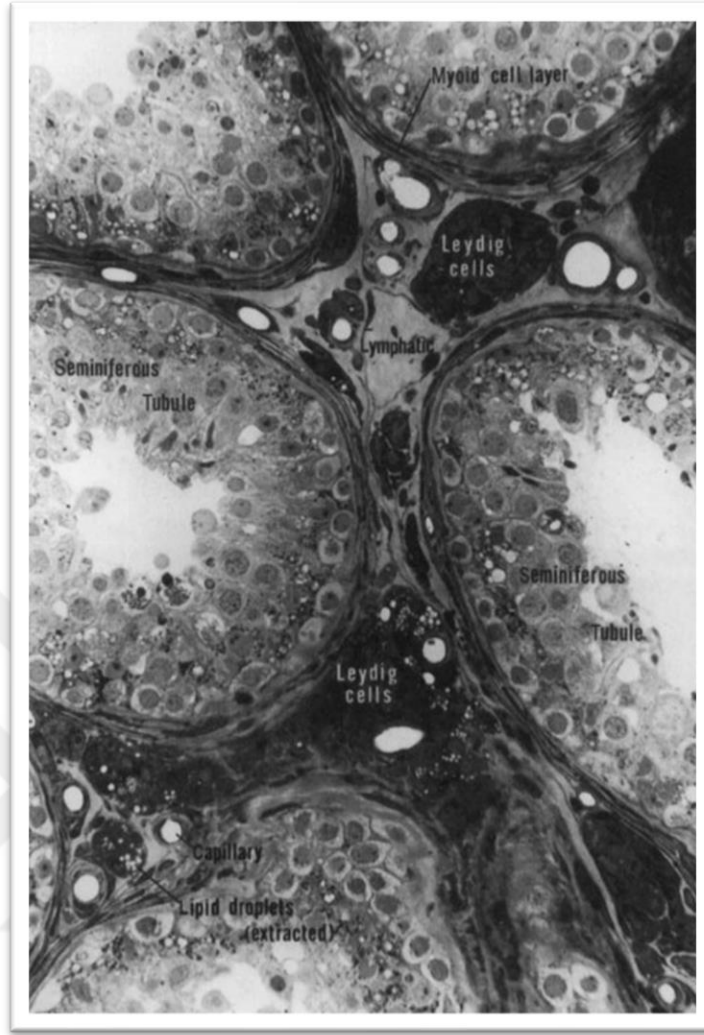
Şekil 2.1. Testisin Anatomik Yapısı (Ekinci, 2024)

Her bir testis, dıştan içe doğru çift katmanlı seröz zar olan tunika vajinalis ve dayanıklı bağ dokusundan oluşan tunika albuginea ile çevrilidir. Tunika albuginea, testis parankimini yaklaşık 200–300 lobülcüğe ayıran septaları oluşturur. Her lobülcük, sperm üretiminin gerçekleştiği kıvrımlı seminifer tübülleri içerir. Bu tübüller, germ hücreleri ve bunlara destek olan Sertoli hücrelerinden oluşan çok katmanlı bir germinal epitel ile döşelidir. Sertoli hücreleri, bazal lamina ile lümene kadar uzanır ve gelişen germ hücrelerini sararak besler. Ayrıca, komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantılar kurarak kan-testis bariyerini (BTB) oluştururlar (Şekil 2.2) (O'Donnell ve diğ. 2017; Gurung ve diğ. 2023).



Şekil 2.2. Testis ve Epididimis (Ekinci, 2024)

BTB, özellikle mayoz bölünmeye giren haploid germ hücrelerini bağışıklık sisteminden koruyan ve tübül içinde gereken mikroçevreyi sağlayan özel bir yapıdır. Seminifer tübülün etrafında peritübüler miyoid hücreler ve kollajen içeren bir bazal membran bulunur; bu yapı seminifer epitelyumu interstisyel alandan ayırır. Interstisyel dokuda, Leydig hücreleri adı verilen ve testosteron üreten endokrin hücreler çoğunluktadır. Ayrıca interstisyel alanda kan ve lenf damarları ile az sayıda bağışıklık hücresi yer alır (Şekil 2.3) (Fietz ve Bergmann 2017).



Şekil 2.3. Seminifer tübüller ile interstisyel bölmenin bileşenleri arasındaki morfolojik ilişkileri gösteren düşük güçte transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü (Cameron ve Hudson 2014).

Normal erişkin testisinde en bol bulunan immün hücre makrofajlar olup, bunlar anti-inflamatuar fenotipte ve testisin immün ayrıcalıklı durumuna katkıda bulunacak şekilde görev yapar. Bunun yanında, dendritik hücreler (az sayıda ve tolerojenik özellikte) ve regülatör T hücreleri (Treg) de testiste mevcuttur; bu hücreler gelişen germ hücrelerine karşı sistemik toleransın oluşmasında rol oynar (Islam ve diğ. 2024; Dimitriadis ve diğ. 2025). Bu sayede testis, vücudun “immün ayrıcalıklı” organlarından biri olarak, otoantijenik özelliği olan sperm hücrelerini immün sistemin saldırısından koruyabilir. Nitekim kan-testis bariyeri ve lokal immunsupresif faktörler sayesinde, ergenlik sonrası ortaya çıkan haploid germ hücreleri bağışıklık tarafından

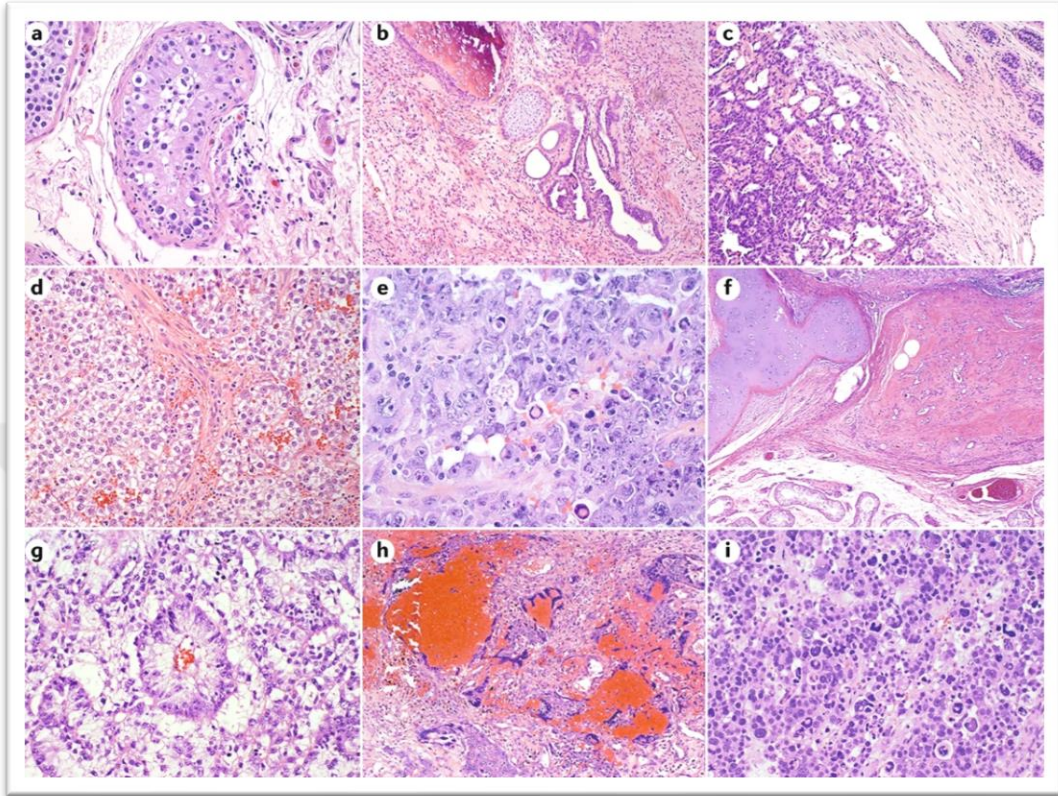
tanınmadan gelişir (Qu ve diğ. 2019). Ancak bu immün ayrıcalık, her ne kadar germ hücrelerini koruyucu bir rol üstlense de testiküler homeostazın bozulduğu durumlarda paradoksal sonuçlara zemin hazırlayabilir. Özellikle immün düzenin kırıldığı, hücrel stres, hormonal dengesizlik veya genetik instabilite gibi etkenlerde, immün mikroçevredeki tolerojenik denge yerini proinflamatuvar yanıtlara bırakabilir (Fijak ve diğ. 2011; Bhushan ve diğ. 2020). Bu durum, germ hücrelerinin malign transformasyon sürecini tetikleyerek tümör gelişimine katkı sağlayabilir (Guazzone ve diğ. 2009). Nitekim testis, genç erişkin erkeklerde en sık karşılaşılan solid malignitelerden biri olan germ hücreli testis tümörlerinin geliştiği immünolojik olarak ayrıcalıklı ama aynı zamanda savunmasız bir ortam sunmaktadır (Rajpert-De Meyts ve diğ. 2016). Germ hücre kökenli bu neoplazmlar yalnızca genetik veya epigenetik değişikliklerle değil, aynı zamanda immün mikroçevrenin destekleyici ya da baskılayıcı etkileriyle de şekillenmektedir. Bu bağlamda, testisin immünolojik özellikleri ile tümör gelişimi arasındaki ilişki, testis tümörlerinin epidemiyolojik ve biyolojik doğasını anlamada kritik bir rol oynamaktadır (Ji ve diğ. 2020; Gayer ve diğ. 2023; Islam ve diğ. 2024)

2.2. Testis Tümörleri ve Epidemiyolojisi

2.2.1. Genel Sınıflandırma (Germ Hücreli ve Germ Hücre Dışı Tümörler)

Testis tümörleri, köken aldıkları hücre tipine göre başlıca iki gruba ayrılır; germ hücreli tümörler ve germ hücre dışı (non-germinal) tümörler (Katabathina ve diğ. 2021; Nauman ve Leslie 2023). Germ hücreli tümörler (GCT), testisteki primordial germ hücrelerinden veya gonositlerden gelişen neoplazmlardır ve tüm testis kanserlerinin %90-95'ini oluşturur (Şekil 2.4) (Singla ve diğ. 2025). Bu tümörler çoğunlukla malign karakterdedir. Germ hücre dışı testis tümörleri ise daha nadir olup, esas olarak testis stromasının veya diğer destek hücrelerinin tümörlerini kapsar; örneğin Leydig hücre tümörü, Sertoli hücre tümörü gibi cinsiyet kord-stromal tümörler ile testisin lenfomaları bu gruptadır. Özellikle yaşlı erkeklerde testis yerleşimli en sık tümör, testisin primer germ hücreli kanserinden ziyade bir diffüz büyük B hücreli lenfoma olabilir (Cheah ve diğ. 2014; David ve diğ. 2023; Kowalik ve diğ. 2024).

Ancak genç erişkin yaş grubunda ortaya çıkan primer testis tümörlerinin büyük çoğunluğu germ hücre kaynaklıdır.



Şekil 2.4. Işık mikroskobu altında hematoksilen ve eozin boyama ile değerlendirilen farklı testis germ hücre tümörlerinin (TGCT'ler) histolojik kompozisyonu gösterilmiştir. Germ hücre neoplazisi in situ (GCNIS) (panel a; büyütme $\times 400$), çoğu testis kanserinin öncü lezyonudur, ancak tip I TGCT'ler GCNIS'ten türetilmez ve tipik olarak pediatriktir. Histolojik olarak, tip I TGCT'ler prepubertal teratomlardır (panel b; büyütme $\times 100$) veya prepubertal yolk kesesi tümörleridir (panel c; büyütme $\times 100$). Tip II TGCT'ler GCNIS'ten türemiştir ve histolojik olarak bunlar seminomlardır (panel d; büyütme $\times 200$) veya embriyonal karsinom (panel e; büyütme $\times 400$), teratomlar (panel f; büyütme $\times 100$), yolk kesesi tümörleri (panel g; büyütme $\times 200$) ve koryokarsinomlar (panel h; büyütme $\times 100$) gibi seminom dışı tümörlerdir. Tip III TGCT'ler GCNIS'ten türetilmez ve spermatositik tümörlerdir (panel i; büyütme $\times 20$) (Cheng ve diğ. 2018).

2.2.2. Germ Hücreli Tümörlerin Alt Tipleri: Seminom ve Non-Seminom

Testiküler germ hücreli tümörler (TGCT), histolojik ve klinik davranış özelliklerine göre iki ana alt gruba ayrılır: Seminomlar ve Non-seminomatöz germ

hücreli tümörler (non-seminom). Klasik seminom, postpubertal dönemde görülen ve primordial germ hücresinin gelişiminin en erken safhasında (gonosit evresinde) takılı kalmış hücrelerden oluşan tümördür (Islam ve diğ. 2024).

Seminomlar, makroskopik ve mikroskopik olarak nispeten homojen bir görünüm sergiler ve çoğunlukla sadece seminomatöz komponent içerir. Saf (pure) seminomlar, tüm TGCT'lerin yaklaşık %50-60'ını oluşturur (American Cancer Society 2023). Non-seminomatöz GCT ise embriyonal farklılaşma yoluna girmiş germ hücrelerinden gelişir ve daha heterojen yapıya sahip olabilir. Non-seminomlar, tek tipte olabileceği gibi çoğunlukla karışık germ hücreli tümör formunda birden fazla alt tip içerir. Başlıca non-seminom alt tipleri şunlardır: embriyonel karsinom, yolk sac (vitellüs kesesi) tümörü, koryokarsinom ve teratom (Fichtner ve diğ. 2024).

Postpubertal testis tümörlerinde non-seminom komponentleri genellikle bir arada (karışık) bulunur; örneğin embriyonel karsinom sıklıkla yolk sac tümörü ve teratom ile kombinasyon yapar. Bu alt tiplerin her biri farklı mikroskopik özelliklere ve tümör belirteci profiline sahiptir. Örneğin, yolk sac tümörü AFP üretirken koryokarsinom β -hCG üretir; embriyonel karsinom ise çoğunlukla CD30 ve sitokeratin pozitifliği ile ayırt edilir (Stamer ve Clark 2022). Spermatositik tümör (eski adıyla spermatositik seminom), daha ileri yaşlarda görülen ve diğer TGCT'lerden ayrı patogeneze sahip bir germ hücreli tümör olup, klasik seminomdan farklı klinik seyir gösterir.

2.2.3. Epidemiyoloji (Yaş, Coğrafi Dağılım, İnsidans)

Testis kanseri, genç erkeklerde en sık görülen solid malignitedir. Dünyada her yıl yaklaşık 70-75 bin yeni testis kanseri vakası teşhis edilmektedir. Küresel insidans 2020 itibarıyla ~1,7/100.000 olarak raporlanmıştır ancak coğrafi bölgeler arasında belirgin farklar mevcuttur. En yüksek insidans, Kuzey ve Batı Avrupa ülkelerinde görülmektedir. Avrupa genelinde yaşa standardize yıllık insidans ~6,4/100.000 ile dünya ortalamasının oldukça üzerindedir. Kuzey Amerika ve Okyanusya'da insidans (~5,5/100.000) yüksektir; Latin Amerika'da orta düzeyde (~3,8/100.000) iken Asya ve Afrika'da oldukça düşüktür (0,5-0,8/100.000) (Mhamane ve diğ. 2024). Örneğin,

İskandinav ülkelerinde testis kanseri genç erkeklerde çok yayginken, Doğu Asya veya Afrika toplumlarında nadir rastlanır. Türkiye, Orta Doğu ve Kuzey Afrika (MENA) bölgesinde testis kanseri insidansının görece yüksek olduğu ülkeler arasındadır; 2019 verilerine göre MENA bölgesinde en yüksek insidans Türkiye’de (~5,0/100.000) saptanmıştır. Son yıllarda birçok ülkede testis kanseri insidansında artış eğilimi rapor edilmektedir (Safiri ve diğ. 2023). Bu artışın kesin nedeni tam anlaşılamamış olsa da çevresel faktörler, endokrin bozucular ve yaşam tarzı değişiklikleri gibi etkenlerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Testis tümörleri en sık 15-40 yaş arası erkeklerde görülür ve ortalama tanı yaşı ~33’tür (Singla ve diğ. 2025). Seminomlar genellikle non-seminomlardan biraz daha ileri yaşta ortaya çıkar; klasik seminom için pik insidans ~35 yaş civarında iken non-seminomatöz tümörler 20’li yaşların ortalarında daha sıktır (Stamer ve Clark 2022; American Cancer Society 2023). Prepubertal dönemde görülen testis tümörleri ise çoğunlukla benign seyirli prepubertal tip yolk sac tümörü veya teratomdur; ergenlik öncesi testis tümörleri, erişkin tip TGCT’lerden patolojik olarak farklıdır ve genellikle GCNIS (germ hücre neoplazisi in situ) ile ilişkili değildir (Katabathina ve diğ. 2021; Çakmak ve diğ. 2023).

2.2.4. Seminomanın Diğer Türlerden Ayırt Edici Özellikleri

Seminomlar ile non-seminomatöz TGCT’ler arasında klinik ve patolojik açıdan önemli farklılıklar vardır. Klinik olarak, seminomlar genelde daha yavaş büyür ve daha geç metastaz yapar; evre I seminomların %80’inden fazlası sadece testiste sınırlı kalırken, non-seminomların daha büyük bir kısmı tanı anında metastaz göstermeye meyillidir (Scandura ve diğ. 2021; Kabaalioğlu 2024). Seminomlar sıklıkla retroperitoneal lenf nodlarına metastaz yapar ve radyoterapiye son derece duyarlıdır. Non-seminomlar ise radyoterapiye daha dirençli olup yaygın metastaz (akciğer, karaciğer gibi) potansiyeli daha yüksektir; bu nedenle tedavide daha çok kombinasyon kemoterapisi kullanılır. Tümör belirteçleri yönünden, seminomlar genellikle serum alfa-fetoprotein (AFP) yükselmesine yol açmaz (AFP düzeyi yüksek ise tümörde non-seminom komponenti varlığı düşünülür) (Stamer ve Clark 2022; American Cancer Society 2023). Seminom hastalarının ~%15’inde plasenta benzeri sinsityotrofoblast hücrelerine bağlı olarak β -human koryonik gonadotropin (β -hCG)

hafifçe yüksek olabilir, ancak bu genellikle <1000 mIU/mL düzeyindedir. Non-seminomatöz tümörlerde ise tümör tipine göre AFP ve/veya β -hCG belirgin olarak yükselir; örneğin saf yolk sac tümöründe AFP yüksekliği tipiktir, koryokarsinomda β -hCG çok yüksektir (Stamer ve Clark 2022). Patolojik olarak, klasik seminom, makroskopik incelemede tipik olarak iyi sınırlı, lobüle yüzeyli, homojen açık gri-beyaz renkli ve yumuşak kıvamlı bir kitle şeklindedir; içerisinde hemoraji veya nekroz alanları minimaldir (Downes 2023). Non-seminomatöz tümörler ise kesit yüzeyinde daha heterojen görünümlü, sarımsı nekroz odakları ve hemorajik alanlar içeren kitleler olabilir. Histolojik olarak seminom, geniş sitoplazmalı tek tip tümör hücreleri ile bunlar arasında bölünmüş septalarda yoğun lenfosit infiltrasyonu içeren karakteristik bir düzen gösterir. Non-seminomlar ise embriyonal karsinomun pleomorfik ve kötü diferansiye epitelyal yapısı, yolk sac tümörünün değişken paternde farklılaşmaları (endodermal sinüs yapıları vb.), koryokarsinomun sinsityo ve sitotroblast hücrelerinden oluşan kanamalı odakları veya teratomun somatik diferansiyasyon göstermiş kıkırdak, epitel, sinir dokusu gibi komponentleri ile tanınır. İmmünohistokimyasal olarak seminomlar, embriyonal karsinomdan ayırımında önemli olan bazı belirteçlere sahiptir: Seminom hücreleri PLAP (plasental alkalen fosfataz), OCT3/4 ve c-KIT (CD117) için diffüz pozitiflik gösterir; buna karşın CD30 boyası negatiftir (Moeen ve diğ. 2024). Embriyonel karsinom ise genellikle CD30 pozitifdir ve keratin ekspresyonu belirgindir, bu yönüyle seminomdan ayrılır (Lendel ve Zynger 2022). Ayrıca seminomlarda lenfomadan ayırım için tümör hücrelerinde CD45'in negatif, bunların yerine yukarıda bahsedilen germ hücre belirteçlerinin pozitif olması diagnostik önemdedir (Ozgun ve Nappi 2023).

Özetle, seminoma, testiküler kanserler içinde özel bir alt tipi temsil eder. Klinik olarak çoğunlukla lokalize seyirli ve tedaviye son derece duyarlı bir tümördür. Patolojik olarak uniform bir histoloji sergiler ve belirgin lenfositik reaksiyonla karakterizedir. Non-seminomatöz tümörler ise daha agresif davranışlı, histolojik olarak heterojen ve farklı komponentler içerebilen tümörlerdir. Bu farklılıklar, tedavi ve takip yaklaşımlarını da yönlendirmektedir. Erken evre seminomlarda orşiektomi sonrası aktif izlem veya minimal tedavi ile %99'a varan kür oranları elde edilebilirken, non-seminomlarda metastatik risk daha yüksek olduğundan aktif tedavi (kemoterapi, cerrahi) sıklıkla gereklidir (Oldenburg ve diğ. 2022).

2.3. Testiküler Seminom: Histopatolojik Özellikler

2.3.1. Mikroskopik ve Makroskopik Yapı

Klasik testis seminomunun histolojisi son derece karakteristiktir. Mikroskopik olarak, seminoma büyük, yuvarlak veya poligonal tümör hücrelerinden oluşur. Bu hücrelerin sitoplazmaları bol ve berrak (glikojen içeriği nedeniyle PAS pozitif), membranları belirgin, nukleusları merkezi yerleşimli ve genellikle tek büyük nükleollüdür. Tümör, lobül veya ada şeklinde dizilmiş bu hücre adacıkları ile bunları çevreleyen ince fibröz septalardan oluşur. Septalar içinde ve tümör hücre kümeleri arasında yoğun lenfosit infiltrasyonu bulunması seminomanın ayırt edici bir özelliğidir (Downes 2023). Bu lenfositler çoğunlukla T lenfositlerdir ve bazen germinal merkezler oluşturan küçük lenf folikülleri de görülebilir. Hatta seminoma stromasında, yaklaşık olguların %50'sinde non-nekrotizan epitelooid granulomlar saptanabilir (Henley ve Ulbright 2005; Downes 2023).

Bu granülomatöz reaksiyon ve lenfositik yoğun infiltrasyon, seminomanın vücudun immün sistemiyle etkileşimini yansıtan önemli bir histolojik bulgudur. Tümör hücreleri arasında sinsityotrofoblast dev hücreleri ~%20 olguda görülebilir; bu hücreler insan koryonik gonadotropini (hCG) salgılayarak serum β -hCG düzeyinin hafif yükselmesine yol açabilir (Stamer ve Clark 2022). Nekroz odakları seminomalarda çok belirgin değildir; yaygın nekroz ve hemoraji varlığı, non-seminomatöz komponent düşündürür. Makroskopik olarak seminoma, testis kesitinde homojen, solid, açık gri-beyaz renkli bir kitle şeklinde görünür. Çoğunlukla iyi sınırlıdır ve çevre testis parenkimine doğru itici büyüme gösterir; dış yüzeyinde lobülasyon olabilir. Tümör içinde hemoraji veya kistik alanlar minimaldir ya da yoktur (Oldenburg ve diğ. 2022). Bu makroskopik homojen görünüm, seminomanın tek tip hücre popülasyonundan oluşmasının bir sonucudur. Non-seminomlarda ise kesit yüzeyinde sarı nekroz alanları, kanama odakları ve kistik yapılar daha sık izlenir (Stamer ve Clark 2022).

2.3.2. İmmünohistokimyasal Belirteçler

Seminomların immünohistokimyasal profili, primordial germ hücre (gonosit) fenotipini yansıtan bir dizi tümör belirtecinin pozitifliğini içerir. Plasental alkalen fosfataz (PLAP) hemen hemen tüm seminomlarda pozitif saptanır (%86-95 olgu, membranöz boyanma). c-KIT (CD117) reseptör tirozin kinazı vakaların %90-100'ünde tümör hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilir. OCT3/4 (POU5F1) ve SALL4 gibi pluripotensi transkripsiyon faktörleri seminom hücre çekirdeklerinde düzenli olarak pozitifdir (Lamichhane ve Mukkamalla 2023). Örneğin, OCT3/4 boyanması klasik seminomda uniform şekilde nükleer pozitifdir ve bu özellik intratübüler GCNIS lezyonlarında da bulunmaktadır (Iczkowski 2023). Benzer şekilde NANOG proteini de seminomlarda güçlü nükleer boyanma gösterir (embriyonel karsinomda da NANOG pozitifdir). SOX17 transkripsiyon faktörü seminom hücrelerinde nükleer olarak pozitifken, embriyonel karsinomlarda tipik olarak negatiftir; buna karşılık embriyonel karsinomlar pluripotensiyle ilişkili SOX2'yi pozitif eksprese ederken seminom hücreleri SOX2 için negatiftir (Nonaka 2009; Nettersheim ve diğ. 2011; Jostes ve diğ. 2020). Seminomlarda ayrıca podoplanin (D2-40) membranöz boyanma ile %100'e varan oranda pozitifdir ve bu da lenfatik endotelial belirteç olmasına rağmen GCNIS/seminom hücrelerinde gözlenen bir özelliktir (Lau ve diğ. 2007). İmmünofenotipik olarak seminomlar genelde epitelyal markerleri minimal düzeyde eksprese eder: sitokeratin (pankeratin AE1/AE3) boyanması seminomlarda genellikle negatiftir veya heterojendir (olgunun ~%20-35'inde zayıf, noktasal sitoplazmik reaksiyon şeklinde) (Sung ve diğ. 2008; Lamichhane ve Mukkamalla 2023). CD30 (Ki-1 antijeni) boyanması seminomlarda negatiftir, bu da CD30-pozitif embriyonel karsinomdan ayırt etmede kritiktir (Leroy ve diğ. 2002; Lau ve diğ. 2007). Benzer şekilde AFP (alfa-fetoprotein) seminom hücrelerinde asla eksprese edilmez; AFP pozitifliği varsa bile, bu odak farklı bir bileşimin (örneğin yolk sac tümörü) varlığına işaret eder (Nazeer ve diğ. 1998). HCG immünboyaması ise seminomların çoğunda negatif olmakla birlikte sinsityotrofoblastik dev hücre içeren odaklarda β -hCG pozitifdir; seminom zemininde bu hücrelerin varlığına bağlı olarak hastaların %5-10 kadarında hafif β -hCG yükselmesi saptanabilir (Seidel ve diğ. 2024).

Özetle, seminomların immünohistokimyasal profili germ hücre kökenini ve pluripotent gonosit fenotipini yansıtır şekilde PLAP, OCT3/4, SALL4, NANOG, KIT, D2-40 gibi belirteçler yönünden pozitif; CD30, sitokeratin, AFP gibi non-seminomatöz farklılaşma veya somatik hat belirteçleri yönünden negatiftir (Tablo 2.1.) (Lin ve Troyer 2014; Ozgun ve Nappi 2023). Bu immunofenotip, özellikle tanıda zor vakalarda ve diferansiyel tanıda diğer tümörlerden ayırma değeri taşır.

Tablo 2.1. İmmünohistokimyasal Belirteçler

Belirteç	İfade Tipi	Boyama Deseni	Seminomada Durumu	Ayırıcı Tanı İçin Önemi
OCT3/4	Transkripsiyon Faktörü	Nükleer	Pozitif	Seminom ve embriyonel karsinomda pozitif; diğer tümörlerde negatif
SALL4	Pluripotens belirteci	Nükleer	Pozitif	Tüm germ hücreli tümörlerde pozitif
NANOG	Embriyonik faktör	Nükleer	Pozitif	Pluripotent germ hücreli neoplazm göstergesi
PLAP	Membran enzimi	Membranöz	%80–100 olguda pozitif	Germ hücreli neoplazmlar için klasik belirteç
c-KIT (CD117)	Tirozin kinaz reseptörü	Membranöz	Genellikle pozitif	Seminoma için karakteristik; embriyonel karsinomda genelde negatif
SOX17	Transkripsiyon Faktörü	Nükleer	Pozitif	Seminoma ile embriyonel karsinom ayırımı için kullanılır
SOX2	Transkripsiyon faktörü	Nükleer	Negatif	Embriyonel karsinomda pozitif; seminomda negatif – ayırt edici
Podoplanin (D2-40)	Glikoprotein	Membranöz	Pozitif	Seminoma tanısında yardımcı
Sitokeratin (AE1/AE3)	Ara filament	Sitoplazmik	Negatif veya fokal zayıf	Embriyonel karsinomda yaygın pozitif
CD30	TNF reseptör ailesi	Membranöz / sitoplazmik	Negatif	Embriyonel karsinomda pozitif
AFP	Onkofetal protein	Sitoplazmik	Negatif	Yolk sac tümöründe pozitif
β-hCG	Hormon	Sitoplazmik (odaksal)	Negatif (sadece sinsiyo trofoblastlarda pozitif)	Sinsiyo trofoblast varlığını gösterir; seminomda tümör hücrelerinde negatif
Glypican-3	Onkofetal protein	Sitoplazmik	Negatif	Yolk sac ve koryokarsinomlarda pozitif
CD45 (LCA)	Lökosit ortak antijeni	Membranöz	Negatif	Lenfomalardan ayırıcı (lenfomalarda pozitif)

2.3.3. TNM Evreleme Sistemine Genel Bakış

Testis tümörlerinin evrelemesinde, diğer solid tümörlerde olduğu gibi TNM (Tümör-Node-Metastaz) sistemi kullanılır. Ancak testis kanserine özgü olarak serum tümör marker düzeyleri de prognostik öneme binaen evreleme sistemine eklenmiştir (S kategorisi). Evreleme, orşiektomi ile çıkarılan testisin patolojik incelemesi (pT) ve radyolojik değerlendirmelerle bölgesel lenf nodu (N) ve uzak metastaz (M) durumunun belirlenmesine dayanır (Masterson ve diğ. 2014; Hale ve diğ. 2018; Revels ve diğ. 2020). Özetle TNM sınıflamasının bileşenleri şu şekildedir:

- **T (Primer Tümör):** pT1 – Tümör testis ve epididimise sınırlı, lenfovasküler invazyon yok; tunika albuginea invazyonu olabilir ancak tunica vaginalis tutulumu yoktur. pT1 alt sınıflaması olarak pT1a (<3 cm tümör) ve pT1b (≥3 cm tümör) şeklinde boyuta göre ayırım yapılır. pT2 – Tümör testis/epididimis ile sınırlı ancak lenfovasküler invazyon mevcut, hiler yumuşak doku veya epididimis invazyonu var ya da tunica vaginalis’in dış yüzeyine ulaşmış. pT3 – Tümör spermatik kord dokusuna direkt invazyon yapmış (lenfovasküler invazyon olsun veya olmasın). pT4 – Tümör skrotum derisi veya skrotal dokulara invaze olmuştur (Evre I hastalık, herhangi bir pT (genellikle pT1-pT4) + N0, M0 durumunu ifade eder.) (Lamichhane ve Mukkamalla 2023; Albers ve diğ. 2025).
- **N (Bölgesel Lenf Nodu):** Klinikte esas olarak retroperitoneal paraaortik lenf nodları değerlendirilir çünkü testis tümörleri ilk olarak bu bölgeye metastaz yapar. N0 – Bölgesel lenf nodu metastazı yok. N1 – Metastatik lenf nodu(lar) mevcut, ancak en büyük lenf nodu çapı ≤2 cm. N2 – Metastatik lenf nodu >2 cm fakat ≤5 cm veya birden fazla lenf nodu tutulmuş ve hiçbirisi >5 cm değil. N3 – En büyük metastatik lenf nodu >5 cm çapında (Evre II hastalık, N1-3, M0 durumlarında söz konusudur.) (Lamichhane ve Mukkamalla 2023; Albers ve diğ. 2025).
- **M (Uzak Metastaz):** M0 – Uzak metastaz yok. M1 – Uzak metastaz var. M1 genellikle akciğer metastazı (M1a) veya diğer organ metastazları (M1b) şeklinde alt sınıflanır. Testis kanserlerinde en sık uzak metastaz akciğerlerdir;

beyin, karaciğer, kemik metastazı daha nadir görülür. (Lamichhane ve Mukkamalla 2023; Albers ve diğ. 2025).

- **S (Serum Tümör Belirteç Düzeyleri):** Orşiektomi öncesi ölçülen serum AFP, β -hCG ve LDH düzeylerine göre belirlenir. S0 – Tüm markerlar normal sınırlarda. S1 – LDH $<1,5 \times$ normal üst sınır (NÜS), ve β -hCG <5000 IU/L, ve AFP <1000 ng/mL. S2 – LDH $1,5-10 \times$ NÜS veya β -hCG $5000-50.000$ veya AFP $1000-10.000$. S3 – LDH $>10 \times$ NÜS veya β -hCG >50.000 veya AFP >10.000 (çok yüksek marker düzeyleri). Serum belirteçleri özellikle metastatik hastalıkta prognostik risk sınıflaması için kullanılır; örneğin Seminomlarda S2-3 düzey marker varlığı “intermediyer” veya “kötü” risk grubuna sokabilir (Lamichhane ve Mukkamalla 2023; Albers ve diğ. 2025).

TNM evrelemesinin sonuçları kombinasyon halinde klinik evreyi belirler (Tablo 2.2). Örneğin, pT1 N0 M0 S0 bir hastalık Evre IA olarak sınıflanırken, pT (Herhangi) N1 M0 S0 Evre IIA olur; uzak metastaz varlığında (M1) Evre III söz konusudur (Lamichhane ve Mukkamalla 2023). Testis kanserlerinin büyük çoğunluğu erken evrede yakalanır. Evreleme, tedavi stratejisini ve hastanın prognozunu belirlemede kritik öneme sahiptir. Neyse ki, günümüzde testis tümörlerinde tüm evrelerde sağkalım oranları yüksektir; örneğin seminomda evre I’de sağkalım $\sim\%99$, evre II’de $>\%90$, evre III’te bile $\%85$ civarındadır. Bu başarı, etkin tedavilerin yanı sıra doğru evreleme ile uygun tedavi seçimlerinin yapılabilmesine de bağlıdır (Cheng ve diğ. 2018; Gilligan ve diğ. 2025; Singla ve diğ. 2025).

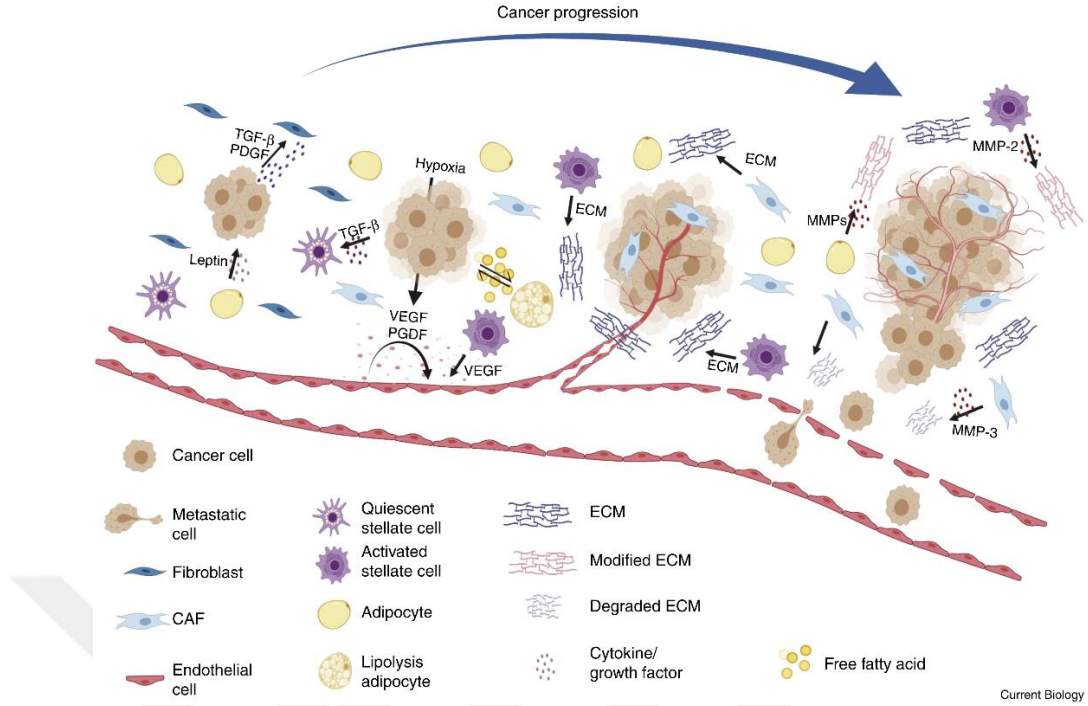
Tablo 2.2. Testis Tümörlerinde TNM+S Evreleme Tablosu

Kategori	Sınıflama	Klinik Evre Örneği
T (Primer Tümör)	pT1: Testis/epididimise sınırlı, LVİ yok pT2: LVİ var/Tunica vaginalis invazyonu pT3: Spermatik kord invazyonu pT4: Skrotum invazyonu	Evre IA: pT1 N0 M0 S0
N (Lenf Nodları)	N0: Yok N1: ≤ 2 cm N2: >2 cm ≤ 5 cm veya çoklu nod N3: >5 cm	Evre II: N1-3, M0 (örneğin pT2 N2 M0 S0)
M (Metastaz)	M0: Uzak metastaz yok M1a: Akciğer metastazı M1b: Diğer organ metastazı	Evre III: Herhangi T, N, M1 (örneğin pT1 N1 M1a S2)
S (Serum Markerları)	S0: Markerlar normal S1: LDH <1.5 x NÜS, β -hCG <5000 , AFP <1000 S2: LDH 1.5–10x, β -hCG 5k–50k, AFP 1k–10k S3: LDH >10 x, β -hCG >50 k, AFP >10 k	Prognostik risk sınıflaması (örn. S2-S3: orta/kötü risk seminom)

2.4. Tümör Mikroçevresi (TMÇ) Kavramı

2.4.1. TMÇ'nin Tanımı ve Bileşenleri

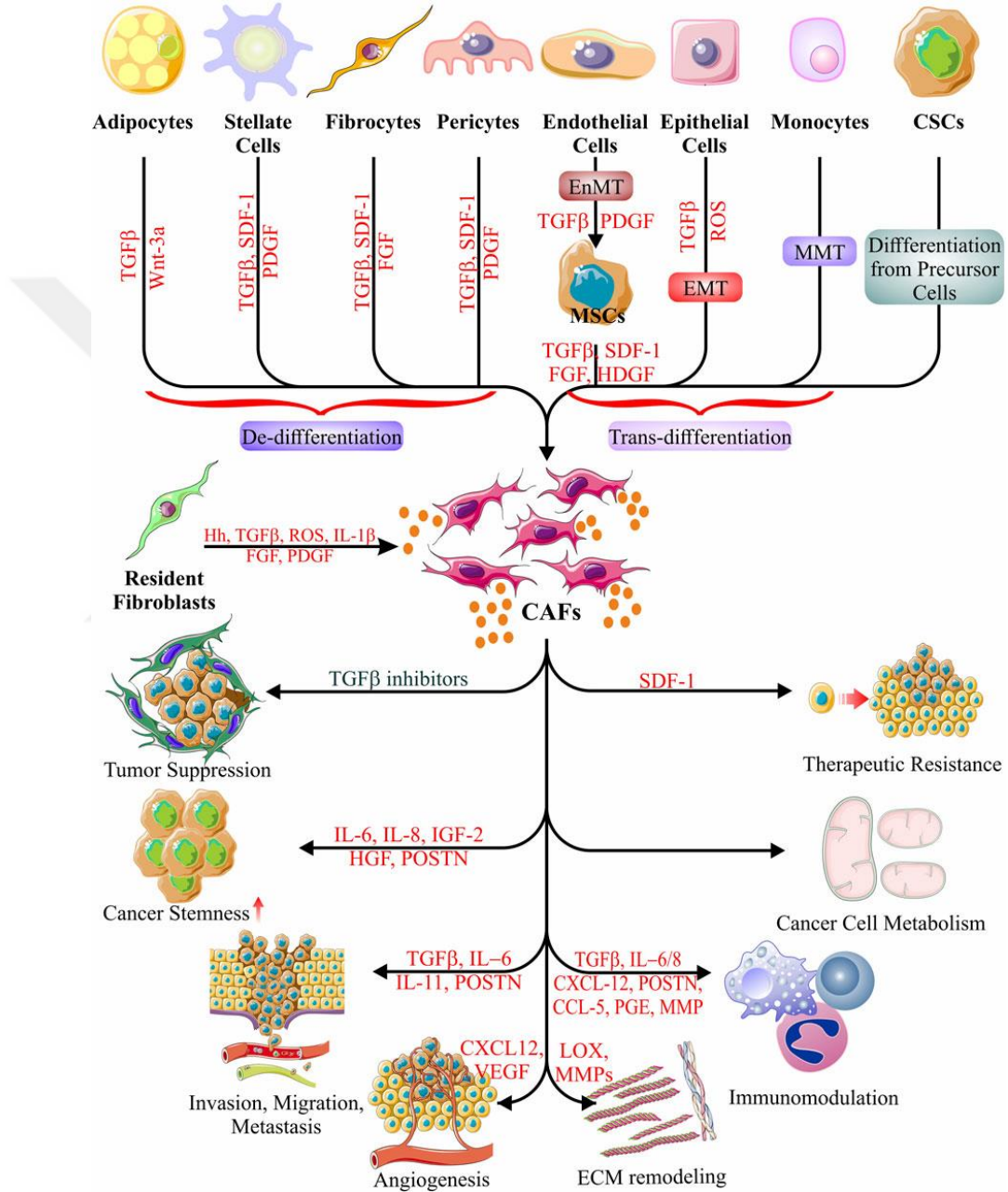
Tümör gelişimi ve progresyonu, başlıca iki temel faktör tarafından belirlenir: (1) tümör hücrelerinde meydana gelen genetik ve epigenetik değişiklikler ile (2) tümör mikroçevresinin (TMÇ) hücrel ve hücrel olmayan bileşenleri arasındaki dinamik ve karşılıklı etkileşimlerdir. TMÇ, yalnızca tümör hücrelerini değil; aynı zamanda stromal fibroblastlar, endotel hücreleri, mikrogliya, makrofajlar ve lenfositler gibi stromal ve bağışıklık hücrelerini de içerir. Ayrıca, kolajen, fibronektin, hiyaluronan ve laminin gibi moleküllerden oluşan ekstraselüler matriks (ECM) bileşenleri ile endotel neo-anjiyogenetik damarlar ve çeşitli sitokinler/kemokinler bu mikroçevrenin yapısal ve biyokimyasal destekleyicileri arasında yer alır. Bu çok yönlü yapı, tümörün davranışını şekillendiren sinyal yolları ve hücre-hücre etkileşimlerinin temel zeminini oluşturur (Şekil 2.5) (Lu ve diğ. 2012; Baghban ve diğ. 2020; Mazilu ve diğ. 2021).



Şekil 2.5. Tümör hücreleri, tümör gelişimi sırasında çevre dokulardan stromal hücreleri kendilerine çeker. Tümör mikroçevresinde stromal ve kanser hücreleri arasındaki dinamik etkileşim, kanserin ilerlemesini destekler. Stromal hücre kompozisyonu tümör tipine göre değişmekle birlikte; endotel hücreleri, fibroblastlar, adipositler ve yıldız şeklindeki stromal hücreleri içerir. Bu mikroçevre, salgıladığı büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığıyla anjiyogenez, proliferasyon, invazyon ve metastaz süreçlerini düzenler (Anderson ve Simon, 2020).

Tümör ve mikroçevresi arasında sürekli bir etkileşim vardır: Tümör hücreleri, çevresindeki stromal ve immün hücreleri kendi büyümesine hizmet edecek şekilde değiştirebilir; aynı zamanda TMÇ'deki hücreler de tümörün davranışını (büyüme hızını, invazyon kabiliyetini, metastaz potansiyelini) etkileyebilir. Bu nedenle TMÇ “sadece izleyici bir ortam” olmayıp, kanserin gelişiminde aktif bir oyuncudur. TMÇ'nin önemli bir bileşeni olan kan damarları ve anjiyogenez, tümörün besin ve oksijen ihtiyacını karşılaması için kritik önemdedir. Tümörler, çevre dokulara anjiyogenez faktörleri (örn. VEGF) salgılayarak yeni kılcal damarların oluşumunu tetikler. Bu sayede büyüyen tümör, kendi oluşturduğu damarlardan beslenebilir. TMÇ'deki fibroblastlar, tümör tarafından “kansere ilişkili fibroblast” (CAF) fenotipine dönüştürülebilir. Kanser ilişkili fibroblastlar, hem tümör hücrelerine büyüme faktörleri salgılar hem de matriks metalloproteinazlar üreterek tümör çevresindeki ekstrasellüler

matriksi yeniden düzenler, böylece kanser hücrelerinin invazyonunu kolaylaştırır. Ayrıca fibroblastlar, bağışıklık hücrelerini de etkileyebilen kemokinler salgılayarak TMC’de immün düzenlemeye katkıda bulunur (Şekil 2.6) (Sahai ve diğ. 2020; Sarkar ve diğ. 2023).



Şekil 2.6. Kanser ilişkili fibroblastların (CAF) olası hücresel kökenleri ve tümör progresyonundaki temel rolleri. CAF'ler farklılaşma, transdiferansiyasyon ve dediferansiyasyon süreçleriyle çeşitli hücre tiplerinden gelişebilir. Tümör evresine bağlı olarak değişkenlik gösterebilen bu hücreler, çoğunlukla kanser hücrelerinin

proliferasyonu, göçü, metastazı, kök hücre özelliği kazanımı, anjiyogenez, bağışıklık baskılanması, metabolik yeniden programlama ve tedavi direnci gibi süreçleri destekler. Nadir durumlarda, TGF- β inhibitörleri içeren salgıları aracılığıyla tümör baskılayıcı etki gösterebilirler (Sarkar ve diğ. 2023).

2.4.2. İmmün Sistemin TMÇ İçindeki Rolü

Tümör mikroçevresinin en dinamik unsurlarından biri bağışıklık sistemi hücreleridir. Normalde bağışıklık sistemi, vücuttaki anormal hücreleri tanıyıp yok ederek kansere karşı koruyucu bir görev yapar (kansere immün gözetimi). Nitekim bir tümörde tümör-infiltrate eden lenfositler (TIL) olarak adlandırılan immün hücrelerin bulunması, vücudun tümöre verdiği cevabın göstergesidir. Ancak ne yazık ki birçok durumda tümör, immün sistem tarafından tamamen elimine edilemez ve bunun yerine bağışıklık sistemini baskılayarak veya kaçınarak kendi lehine kullanır (immün kaçış mekanizmaları) (Zeng ve diğ. 2022). TMÇ, bu immün etkileşimlerin gerçekleştiği arenadır. Sitotoksik T hücreleri (CD8+ T hücreleri) ve NK hücreleri doğrudan tümör hücrelerini öldürebilen efektör hücrelerdir; bunların tümöre infiltrate olması genellikle olumlu bir prognostik işarettir çünkü anti-tümör bağışıklığın aktif olduğunu gösterir (Elkoshi 2022). Nitekim kolorektal kanserde yapılan çalışmalarda, tümörde CD3+ ve CD8+ T hücresi yoğunluğunun yüksek olmasının sağkalımı TNM evresinden bile daha iyi öngördüğü gösterilmiştir (Galon ve diğ. 2006). Öte yandan TMÇ'deki düzenleyici T hücreleri (Treg, genellikle CD4+FoxP3+) ve M2 fenotipli makrofajlar ise tümör lehine immünoşüpresif bir ortam yaratırlar. Treg hücreleri, normalde otoimmüniteyi engellemek için immün cevabı frenleyen hücrelerdir; fakat tümör mikroçevresinde CD8+ ve CD4+ yardımcı T hücrelerinin anti-tümör aktivitesini baskılayarak tümörün kaçışına katkı sağlarlar (Elkoshi 2022). Benzer şekilde tümör-ilişkili makrofajlar (TAM) genellikle M2 polarizasyonunda olup immün sistemi baskılayan ve tümör büyümesini destekleyen sitokinler (IL-10, TGF- β gibi) salgırlar (Kim ve diğ. 2020; Wang ve diğ. 2024). M2 makrofajlar ayrıca anjiyogenezi tetikler ve doku yeniden şekillenmesini kolaylaştırır. TMÇ'deki bağışıklık hücrelerinin diğer bir önemli rolü de immün kontrol noktaları üzerinden gerçekleşir: Örneğin tümör hücreleri veya TAM'lar, T hücreler üzerinde inhibitör etki yapan PD-L1 gibi molekülleri eksprese ederek T hücre aktivitesini frenleyebilir (Suárez-Sánchez ve diğ. 2020). Bu

etkileşimler tümörün bağışıklık sisteminden “gizlenmesini” veya aktif baskılanmasını sağlar.

Özetle, TMÇ içindeki bağışıklık unsurları iki yönlü etki yapabilir: Bir yandan tümörü elimine etmeye çalışan efektör hücreler (CD8+ T, NK) vardır, diğer yandan tümör tarafından devreye sokulmuş immüno-regülatör hücreler (Treg, M2 makrofaj gibi) ve mekanizmalar (PD-1/PD-L1 etkileşimi gibi) mevcuttur (Lv ve diğ. 2022). Tümörün kaderi, bu karşıt güçler arasındaki etkileşime bağlıdır. Başarılı bir anti-tümör immün yanıt, TMÇ’yi tümör için düşmanca bir ortama çevirip tümör büyümesini yavaşlatabilir veya durdurabilir. Aksine, immün kaçışın baskın olduğu bir TMÇ, tümörün daha agresif hale gelmesine yol açabilir (Jiang ve diğ. 2019). Son yıllarda geliştirilen immünoterapiler (özellikle kontrol noktası inhibitörleri), işte bu TMÇ’deki immün dengeyi tekrar anti-tümör yönüne çevirmeyi amaçlamaktadır. Örneğin anti-PD-1/PD-L1 antikorları, tümörün T hücrelerini frenlemek için kullandığı PD-1 yolunu kapatarak, “uyuyan” TIL’leri yeniden aktive edebilir. Bu yaklaşım birçok kanserde çarpıcı başarılar elde etmiş ve TMÇ’nin kanser tedavisindeki önemini gözler önüne sermiştir (Lv ve diğ. 2022; Zhang ve diğ. 2023).

Sonuç olarak, tümör mikroçevresi, kanser biyolojisinde merkezi bir yere sahiptir. Tümör hücreleri ile çevresindeki stromal/immün hücrelerin etkileşimi, kanserin büyüme hızını, invazyon ve metastaz yeteneğini belirleyen kritik bir faktördür. Bu nedenle modern onkoloji araştırmalarında TMÇ’yi hedef alan tedaviler (immünoterapi, anti-anjiogenik tedaviler, vb.) ve prognostik yaklaşımlar (ör. Immunoscore gibi TIL bazlı skorlamalar) geliştirilmektedir. Testis kanserleri de dahil olmak üzere her tümör tipi için TMÇ’nin özgün özelliklerini anlamak, daha etkili tedavi stratejileri geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

2.5. Tümör İnfiltrat Lenfositler (TIL) ve İmmünolojik Profil

Testis dokusu, kan-testis bariyeri ve immün tolerans mekanizmaları nedeniyle immün ayrıcalıklı bir ortam olarak bilinir. Ancak testiküler seminomanın gelişimiyle birlikte, tümör mikroçevresinde belirgin bir immün hücre infiltrasyonu ortaya çıkmaktadır. Nitekim, immünohistokimyasal çalışmalar pre-invaziv germ hücre

neoplazisi in situ (GCNIS) ve hatta bazı infertilite vakalarında dahi lenfosit infiltrasyonunun mevcut olduğunu göstermiştir (Hvarness ve diğ. 2013; Islam ve diğ. 2024). Bu infiltratin bileşimi incelendiğinde, seminomaların tümör mikroçevresinde T lenfositlerinin baskın olduğu görülmektedir. Özellikle CD3+ T hücreleri, seminoma dokularında en yaygın infiltrasyon gösteren hücreler olup bunlar arasında CD4+ yardımcı T hücreleri ile CD8+ sitotoksik T hücreleri önemli yer tutar. Bunun yanı sıra anlamlı sayıda mononükleer fagosit (makrofaj) ve dendritik hücre de seminomaların stromasında izlenmektedir (Yakirevich ve diğ. 2022; Hadrup ve diğ. 2006). İnfiltrat olan B lenfositleri de dikkate değerdir; bu hücreler zaman zaman tümör içinde üçüncül lenfoid yapı benzeri folliküler kümeler oluşturarak germinal merkezlere benzer organizasyonlar gösterebilmektedir (Islam ve diğ. 2024). Bu genel immünolojik profil, normal testis dokusundaki düşük dereceli inflamatuvar durumlardan belirgin biçimde farklıdır ve seminomanın immünojenitesini ortaya koyar (Hvarness ve diğ. 2013; Islam ve diğ. 2024).

Seminomaların immün mikroçevresi, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve Th1 yanıtına özgü sinyallerin artışıyla karakterizedir. Örneğin, seminoma ve GCNIS odaklarında normal testise kıyasla pro-inflamatuvar sitokinler (IL-1 β , IL-6, TNF- α) ve Th1 yanıtına özgü sitokinlerin (IL-2, IFN- γ) belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (Klein ve diğ. 2016; Kalavska ve diğ. 2020). Bu artış, tümör mikroçevresinde pro-inflamatuvar bir ortamın oluştuğunu ve Th1 tipi immün yanıtın baskın olduğunu göstermektedir. (Islam ve diğ. 2024). Bu bağlamda öne çıkan bir mediatör interleukin-6 (IL-6)'dır; çalışmalarda TGCT (testiküler germ hücre tümörü) dokusunda IL-6 ekspresyonunun belirgin derecede arttığı ve hatta seminoma olgularında metastatik yayılımla doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (Nestler ve diğ. 2022). IL-6, güçlü bir pro-inflamatuvar sitokin olarak antikor üretimini teşvik etmenin yanı sıra makrofajların alternatif aktivasyonunu (M2 polarizasyonu) indükleyebilmekte ve CD4+ T hücrelerinin Th alt tiplerine farklılaşmasını etkilemektedir (Islam diğ. 2024). Testiküler seminomalarda IL-6 düzeylerinin yüksek oluşu, tümör mikroçevresinde bağışıklık hücrelerinin aktif olduğunu ancak bu inflamatuvar ortamın aynı zamanda tümör progresyonuna katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Gerçekten de testiküler kanserlerde kapsamlı immün profillemeye çalışmaları, seminoma histolojisinin güçlü bir T-hücre infiltrasyonu ve PD-1/PD-L1 etkileşimi ile ilişkili olduğunu, bunun

da erken evre ve daha iyi prognozlu hastalarda görüldüğünü ortaya koymuştur (Siska ve diğ. 2017). Öte yandan, testis tümörlerinin immün ayrıcalıklı yapısı nedeniyle, bu infiltrasyonun her zaman etkili bir tümör bağışıklık gözetimi anlamına gelmeyebileceği akılda tutulmalıdır (Hvarness ve diğ. 2013). Hvarness ve arkadaşlarının (2013) çalışmasında neoplazi varlığı olsun veya olmasın testisteki immün hücre bileşiminin benzer bulunması, seminomalarda ortaya çıkan infiltratin kısmen testisin bazal immün ortamından kaynaklanabileceğini ve tam anlamıyla aktif bir tümör bağışıklık yanıtını yansıtmayabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, daha yeni veriler seminomadaki immün infiltratin fonksiyonel olarak aktif olduğunu, Th1 ağırlıklı bir profil ve sitotoksik etki potansiyeli barındırdığını ortaya koymaktadır (Siska ve diğ. 2017; Islam ve diğ. 2024).

2.5.1. CD4+ Yardımcı T Hücreleri ve CD8+ Sitotoksik T Hücreleri

Seminomların tümör mikroçevresinde CD4+ T hücrelerinin fonksiyonel özellikleri de tümörün seyrini etkilemektedir. CD4+ yardımcı T hücreler farklı alt tiplerde davranış sergileyebilir: Th₁ polarizasyonlu CD4+ hücreler IFN- γ ve IL-2 gibi sitokinler salgılayarak CD8+ T hücrelerini ve makrofajları aktive ederken, Th₂ yanıtları daha çok humoral immüniteyi destekler; Treg hücreleri ise güçlü immün baskılama yaparak antitümör yanıtı zayıflatır (Fridman ve diğ. 2012; Klein ve diğ. 2016; Elkoshi 2022). Seminom dokularında yapılan analizler, normal testise kıyasla belirgin bir Th₁ ağırlıklı sitokin profili olduğunu göstermiştir. Yalnızca seminom ve in situ germ hücre neoplazisinde (GCNIS) gözlenen IL-2 ve IFN- γ gibi Th₁ kaynaklı sitokinlerdeki artış, bu tümörlerde CD4+ T hücre yanıtının sitotoksik etkinlik lehine polarize olduğunu düşündürmektedir (Klein ve diğ. 2016). Bu durum CD8+ T hücrelerinin tümörle mücadelede daha etkin desteklenmesini sağlar. Buna karşın, FoxP3+ düzenleyici T hücreler seminom mikroçevresinde baskın değildir; immunofenotipleme çalışmalarında seminoma örneklerinde Treg infiltrasyonunun non-seminomatöz tümörlere oranla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Siska ve diğ. 2017). İmmün baskılayıcı Treg hücrelerinin azlığı, yukarıda belirtildiği gibi, efektör T hücrelerin daha serbestçe fonksiyon icra etmesine olanak tanır ve tümör büyümesini dizginleyebilir. Bununla birlikte, birçok solid tümörde olduğu gibi testiküler

seminomlarda da CD8⁺ T hücrelerinin tümöre rağmen varlık göstermesine karşın fonksiyonel yetersizlik veya T hücresi anergisi sıklıkla gözlemlenir (Kalavaska ve diğ. 2020). Bunun en önemli nedenlerinden biri, tümör mikroçevresinde baskın hale gelen immün kontrol noktası molekülleri (PD-1/PD-L1, CTLA-4) ve immün baskılayıcı sitokinlerdir (Topalian ve diğ. 2015). Ayrıca, CD8⁺ hücrelerin TMÇ'deki mekansal dağılımı da klinik gidişat üzerinde belirleyici olabilir; stromal alanda yoğunlaşan CD8⁺ hücrelerin intratümöral yerleşimli olanlara göre daha düşük prognostik değer taşıdığı bildirilmiştir (Sato ve diğ. 2005).

2.5.2. CD163⁺ M2 Makrofajlar ve Tümör Destekleyici Etkileri

Makrofajlar, tümör mikroçevresinin en önemli immün hücrelerinden bir diğeridir. Tümör-ilişkili makrofajlar (TAM), M1 veya M2 şeklinde polarize olabilir. M1 makrofajlar pro-inflamatuar ve tümör öldürücü özelliklere sahipken, M2 makrofajlar doku onarımı, anjiyogenez ve immün supresyon gibi roller üstlenir. Ne yazık ki, TMÇ'de baskın olan makrofaj fenotipi sıklıkla M2 yönündedir. CD163, M2 tipi makrofajların sık kullandığı bir yüzey belirteçidir ve TAM'ların immünohistokimyasal olarak tespitinde yaygınca kullanılır. Yüksek CD163⁺ makrofaj infiltrasyonu, birçok solid tümörde zayıf prognostik bir faktör olarak belirlenmiştir (Skytthe ve diğ. 2020; Mathiesen ve diğ. 2025). Örneğin pankreas, hepatoselüler, kolon, meme kanseri gibi farklı malignitelerin meta-analizlerinde, CD163⁺ (M2) makrofaj yoğunluğu yüksek olan hastalarda sağkalımın belirgin şekilde daha kötü olduğu rapor edilmiştir (Han ve diğ. 2016; Mathiesen ve diğ. 2025). CD163⁺ TAM'lar, tümör gelişimini çeşitli mekanizmalarla destekler:

- **İmmünoşüpresyon:** IL-10, TGF- β gibi baskılayıcı sitokinler salarak T hücre ve NK hücre fonksiyonlarını azaltırlar (Wang ve diğ. 2024). Ayrıca PD-L1 gibi kontrol noktası ligandlarını eksprese ederek T hücrelerini “exhausted” fenotipe sürüklerler (Suárez-Sánchez ve diğ. 2020).
- **Anjiyogenez:** MMP'ler, serin proteazlar ve katepsinlerin düzenlenmesi yoluyla TAM'lar anjiyogenezi başlatır, bazal membranları parçalar ve VEGF, CXCL8, MMP7, MMP9 ve MMP12 dahil olmak üzere pro-anjiyojenik faktörler,

sitokinler ve kemokinler salgılayarak tümör vasküler ağlarının oluşumunu kolaylaştırır (Wang ve diğ. 2024).

- **Doku yenilenmesi ve invazyon:** MMP-9 gibi metalloproteinazlar salgılayarak tümör stromasını yeniden düzenler, tümör hücrelerinin çevre dokulara geçişini kolaylaştırır. Bu nedenlerle, CD163+ M2 makrofajların fazla olduğu tümörlerde yayılım ve metastaz riskinin yüksek olması beklenen bir durumdur. Nitekim birçok çalışmada M2 TAM'ların varlığı düşük CD8+ T hücre aktivitesi ile ters orantılı bulunmuştur; makrofajların yoğun olduğu bölgelerde CD8+ T hücrelerin tümör hücrelerine ulaşamadığı, bir tür "immün bariyer" oluşturdukları gösterilmiştir (Kim ve diğ. 2020; Wang ve diğ. 2024).

Özetle, CD163 pozitif makrofajlar TMÇ içinde tümörü adeta "kalkan" gibi koruyan ve büyümesini kolaylaştıran hücrelerdir.

2.5.3. İmmün Hücre Yoğunluğu, Lokalizasyonu ve Prognostik Değerleri

TIL kavramında sadece hücre tipi değil, bu hücrelerin tümör içindeki dağılımı da önem taşır. İntratümöral (tümör parankimi içinde) ve peritümöral (invaziv sınırda) lenfosit dağılımı ayrı ayrı değerlendirilebilir. Örneğin kolorektal kanserde "immunoscore" adı verilen puanlama sistemi, tümör merkezindeki ve invaziv kenardaki CD3+ ve CD8+ T hücre yoğunluklarını skora kurulumu üzerine kuruludur ve bu skor yüksek olduğunda hasta sağkalımı belirgin derecede daha iyi olmaktadır (Galon ve diğ. 2006). Genel olarak, yüksek yoğunlukta TIL varlığı daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. Örneğin pankreas adenokarsinomlu 2453 hastanın verilerini içeren bir meta-analizde, intratümöral CD3+, CD4+ ve CD8+ T hücre infiltrasyonunun yüksek olduğu vakalarda genel sağkalımın anlamlı derecede daha uzun olduğu gösterilmiştir (Pyo ve diğ. 2021). Benzer şekilde üçlü negatif meme kanseri, over kanseri, hepatoselüler karsinom gibi çeşitli malignitelerde de yüksek TIL, daha iyi prognozu işaret etmektedir (Gao ve diğ. 2020; Cao ve diğ. 2025). Buna karşılık, yüksek oranda Treg infiltrasyonu veya Treg/CD8 oranının yüksek olması, örneğin baş-boyun, over, akciğer gibi kanserlerde kötü prognoza eşlik edebilmektedir (Elkoshi 2022). Ancak her tümör tipi için bu korelasyonlar farklılık gösterebilir; önemli olan,

TMÇ'nin immün profilinin hastalığın gidişatına dair bağımsız bir belirteç olabileceğidir. İmmün hücrelerin konumu da kritik olabilir: "Sıcak tümör" tabir edilen, intratümöral efektör T hücrelerle dolu tümörler immünoterapilere daha iyi yanıt verebilirken; "Soğuk tümör" diye nitelenen, lenfosit fakiri veya lenfositlerin sadece stromada olup tümör hücrelerine nüfuz edemediği durumlar immün kaçışla ilişkilidir (Kawai ve diğ. 2008; Peranzoni ve diğ. 2018). Örneğin akciğer kanseri çalışmalarında, CD8+ T hücrelerinin tümör adacıkları içine girebildiği ("islet infiltrating") vakalar, sadece stromada kaldığı vakalardan daha iyi sağkalım göstermiştir (Peranzoni ve diğ. 2018; Yanai ve diğ. 2021). Bu durum, immün hücrelerin sadece varlığının değil, doğru yerde konumlanmış olmasının da tümör kontrolü için gerekli olduğunu gösterir. TIL yoğunluğunun klinik parametrelerle ilişkisi de araştırılmıştır. Örneğin testis seminomlarında yapılan bazı retrospektif analizler, yoğun lenfosit infiltrasyonlu primer tümörü olan hastalarda evre I'de kalma oranının daha yüksek olabileceğini, buna karşın az lenfositli tümörlerde relaps riskinin daha yüksek seyrettiğini öne sürmüştür. Keza seminoma örneklerinde TIL miktarının düşük olduğu vakalarda tümör çapının daha büyük ve yayılım riskinin yüksek olabileceği bildirilmiştir. Bir çalışmada, yaş ≤ 33 , tümör çapı >6 cm ve düşük TIL sayısı evre I seminomada nüks riskini artıran faktörler olarak tanımlanmış; çok değişkenli analizde TIL sayısı sınırdan anlamlı bulunmuştur (HR 1.8, %95 GA 0.96-3.44) (Parker ve diğ. 2002). Bu bulgular, robust bir immün yanıtın seminom gibi immünojenik tümörlerde mikrometastatik hastalığın kontrol altında tutulmasına katkı verebileceği fikrini desteklemektedir (Händelin ve diğ. 2024). Bunlar henüz kesin kanıtlar olmasa da TIL ve klinik davranış arasındaki ilişkiyi ortaya koyan önemli ipuçlarıdır. Öte yandan immün hücre infiltrasyonu, tümörün tedaviye cevabını da etkileyebilir. Özellikle immünoterapi uygulanacak hastalarda, önceden var olan TIL popülasyonunun zengin olması ("sıcak" tümör) tedavi cevabını kolaylaştırır. Bu durum güncel olarak birçok kanserde (melanom, akciğer, MSI-yüksek kolon vb.) gösterilmiş olup, immunoscore gibi yaklaşımlar sayesinde klasik tedavilere ek olarak immünoterapi kararı vermede de TIL durumu bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Galon ve diğ. 2006; Danaher ve diğ. 2018).

Özetle, tümör infiltre lenfositlerin türü, yoğunluğu ve dağılımı, tümörün bağışıklık sisteminde ne ölçüde tanınıp karşılık verildiğinin bir göstergesidir. CD8+ ve

yardımcı CD4+ T hücrelerin bol bulunduğu, Treg ve M2 makrofajların sınırlı olduğu bir TMC, genellikle daha iyi bir prognostik profile işaret eder. Bu nedenle, TIL'lerin sayısının ve kompozisyonunun analiz edilmesi hem prognostik öngörü açısından hem de immunoterapötik stratejilerin planlanması açısından değerlidir.

2.6. İmmün Mikroçevre Analizinde Yapay Zeka Destekli Değerlendirilmesi

Mikroskopik histopatoloji incelemesi, dijital dönüşüm ve yapay zeka entegrasyonu ile önemli bir dönüşüm geçirmektedir. Cam slaytların yüksek çözünürlüklü tarayıcılarla dijital görüntülere dönüştürülmesi, saklanması ve paylaşılabilmesi patoloji alanında yeni ufuklar açmıştır (Fatima ve diğ. 2024). Tam slayt görüntü tarayıcılarının gelişimi, uygun maliyetli veri depolama, yüksek hızlı ağ bağlantıları ve güçlü GPU donanımları ile derin öğrenme tekniklerindeki ilerlemelerin birleşimi, dijital patolojide bilgisayar destekli tanıya adeta devrim niteliğinde yenilikler getirmiştir (Nguyen ve Allam 2022). Bu sayede patoloji görüntülerinin algoritmalarla analiz edilmesi mümkün olmuş; tümör odaklarının tespiti, hücre sayımı ve doku sınıflandırması gibi işlemler insan uzmanların subjektif değerlendirmelerine kıyasla daha standart hale gelebilmektedir. Nitekim dijital patolojinin getirdiği en büyük avantajlardan biri, gözlemciler arası değişkenliği azaltma potansiyelidir. Yapay zeka tabanlı bilgisayar destekli tanı (CAD) araçları, histopatolojik bulguları tutarlı bir biçimde tanımlayıp nicelleştirerek patoloğlara destek olabilir (Fatima ve diğ. 2024). Son yıllarda yapılan kapsamlı çalışmalar, dijital patolojide yapay zeka kullanımının birçok hastalık alanında yüksek tanısal doğruluk sağladığını göstermektedir. Örneğin, 2024 yılında yayımlanan bir meta-analiz, patoloji görüntülerine yapay zeka uygulayan 100'den fazla çalışmayı inceleyerek ortalama %96.3 duyarlılık ve %93.3 özgüllük elde edildiğini raporlamıştır. Bu yüksek performans değerleri, yapay zekanın histopatolojik tanıda insan seviyesine yakın veya onu aşabilen bir doğruluk sergileyebildiğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, aynı derlemede çalışmaların metodolojik tutarlılık açısından iyileştirilmesi gerektiği de vurgulanmıştır (McGenity ve diğ. 2024).

Görüntü analizinde derin öğrenmenin yükselişiyle birlikte, patoloğlar hücre sayımı ve tespiti gibi rutin ama zahmetli görevler için algoritmalarla faydalanmaya başlamıştır (Reigle ve diğ. 2024). Bu bağlamda nesne tespiti konusunda öne çıkan

YOLO (You Only Look Once) modeli, biyomedikal görüntü analizinde de kendine önemli bir yer bulmuştur. YOLO, tek aşamada çalışan, gerçek zamanlı nesne tanıma yapabilen bir derin öğrenme mimarisidir. Bir görüntüyü sadece bir kez ileri besleme ile işleyerek, içindeki nesnelere ait sınıflandırmaları ve konumlarını (sınır kutuları şeklinde) aynı anda üretir. Bu yaklaşım, iki aşamalı R-CNN gibi klasik yöntemlere kıyasla hız avantajı sağlarken doğrulukta da rekabetçi performans elde edebilmektedir. Günümüzde farklı YOLO versiyonları ve benzeri tek-aşamalı modeller, tıbbi görüntülerde hücre, çekirdek veya lezyon tespiti gibi görevler için uyarlanmakta ve yaygın şekilde denenmektedir (Wang ve diğ. 2024; Zhang ve diğ. 2024; Shi ve diğ. 2024).

Biyomedikal alandaki zorluklara (üst üste binmiş hücreler, zayıf boyanma, heterojen hücre morfolojileri gibi) rağmen YOLO tabanlı yöntemler başarılı uygulama örnekleri sunmaktadır. Örneğin, histopatolojik çekirdek tespiti ve tümör mikroçevresi analizi için geliştirilen “Histology-based Detection using YOLO (HD-Yolo)” isimli model, çekirdek segmentasyonu ve sınıflandırmasında önceki yöntemleri hız ve doğruluk açısından geride bırakmıştır. HD-Yolo, tüm slayt görüntülerinde (WSI) çekirdek tespiti ve sınıflandırmasında daha yüksek doğruluk ve daha kısa işlem süresi ile geleneksel analiz yaklaşımlarını geride bıraktığını ortaya koymuştur (Rong ve diğ. 2023). Benzer şekilde, patoloji görüntülerinde kan damarlarını saptamak için tasarlanan “Pathological Images-YOLO (PI-YOLO)” modeli, YOLO mimarisine dikkat mekanizmaları ve özel örnekleme katmanları ekleyerek küçük ve zor seçilen yapıları daha güvenilir şekilde tanımlayabilmiştir. PI-YOLO, tümör dokularındaki mikrodamar yoğunluğunu otomatik olarak ölçerken Faster R-CNN, SSD, RetinaNet gibi alternatif dedektörlerden daha yüksek bir ortalama ortalama-ortalama duyarlılık ($mAP \approx \%87.5$) elde etmiştir (Li ve diğ. 2024).

Bu gibi çalışmalar, YOLO ve türevi derin öğrenme modellerinin biyomedikal görüntü analizinde hücre veya yapısal öge tespitinde hızlı ve etkili araçlar olarak kullanılabildiğini göstermektedir. Özellikle, YOLO’nun gerçek zamanlı çalışabilmesi ve tek seferde çoklu nesne tespiti yapısı, büyük boyutlu patoloji görüntülerini parçalara bölerek tarama ve sayma işlemlerinde önemli bir pratiklik sağlamaktadır. Sonuç olarak YOLO, biyomedikal alanda derin öğrenme tabanlı obje tespitinin önde gelen

temsilcilerinden biri olarak kabul görmekte ve patoloji görüntülerinin nicel analizinde kilit bir rol oynamaktadır.

2.7. Literatürdeki Boşluklar ve Bu Çalışmanın Gerekliliği

Bu doktora çalışmasının odak noktası olan “Testiküler Seminomda Tümör Mikroçevresinin İmmünofenotipik Analizi”, literatürdeki bu boşlukları doldurmaya yönelik önemli bir girişim olacaktır. Özellikle CD4+, CD8+ ve CD163+ immün belirteçleri kullanılarak seminom TMÇ’sinin immün hücre bileşiminin incelenmesi, birkaç açıdan değerli bilgiler üretebilir: (1) Primer tümördeki immün profil ile hastanın klinik parametreleri (tümör evresi, tümör boyutu, lenfovasküler invazyon varlığı) arasında bir korelasyon olup olmadığı saptanabilir. Bu sayede yüksek riskli hastaları tanımda yeni bir yol elde edilebilir. Örneğin, düşük TIL ve yüksek TAM içerikli seminomların agresif seyirli olabileceği hipotezi test edilebilir. (2) İmmün infiltrasyon paternlerinin (örneğin intratümöral CD8 yoğunluğu veya CD8/Treg oranı) uzun dönem onkolojik sonuçlara (nüks veya ilerleme) etkisi değerlendirilebilir. Bu, takip stratejilerinin bireyselleştirilmesine katkı sunabilir. (3) Seminom mikroçevresinin karakterizasyonu, immünoterapinin bu hastalığa potansiyel uygulamasını değerlendirmek için bir temel sağlayabilir. Örneğin eğer seminomlarda PD-1/PD-L1 ekseninin belirgin şekilde aktif olduğu gösterilirse, ileri evre dirençli hastalarda checkpoint inhibitörlerinin rasyonelliği artacaktır. (4) Testiste immün ayrıcalık kavramı nedeniyle, seminom gibi bir tümörde gelişen immün yanıtın incelenmesi immünoloji bilimine de katkı verebilir. Bu çalışma ile seminoma, bir “model” tümör olarak kullanılıp, immün kaçış mekanizmaları ve tümör-immün sistem etkileşimi testis gibi özel bir ortamda çözümlenebilir. Sonuç olarak, testiküler seminomun tümör mikroçevresinin derinlemesine analizi bilimsel ve klinik açıdan gereklidir. Bu çalışma ile elde edilecek bulgular, hem literatürdeki önemli bir boşluğu dolduracak hem de seminom hastalarının yönetimine potansiyel olarak yenilikçi yaklaşımlar getirebilecektir. Özellikle CD4+ ve CD8+ T hücreler ile CD163+ makrofajların seminomadaki dağılımını ve etkisini anlamak, gelecekte prognostik modellemelere veya kombine tedavi stratejilerine yol açabilir. Modern onkolojide “tedaviyi hastaya göre uyarlama” hedefinde immünolojik biyobelirteçlerin önemi giderek artmaktadır.

Seminom özelinde de klasik risk faktörlerine (tümör çapı, rete testis invazyonu vb.) ek olarak immün profilin belirlenmesi, hangi hastanın sadece cerrahiyle izlenebileceği, hangisinde adjuvan tedavi gerekeceği konusunda ek bilgiler sunabilir. Ayrıca tedaviye dirençli nadir vakalarda immünoterapi veya yeni ajanların denenmesi planlanırken, bu çalışmanın sonuçları ışığında daha rasyonel hasta seçimleri yapılabilir. Özetle, testiküler seminom TMC'sine odaklanan bu çalışma, hem bağışıklık bilimsel temel bilim yönünden hem de klinik uygulama yönünden önemli katkılar yapma potansiyeline sahiptir. Seminomda tümör-immün sistem ilişkisini daha iyi anlayarak, "immün yoldaşı" olan mikroçevreyi hedef alan tamamlayıcı tedaviler geliştirmek uzun vadede mümkün olabilecektir. Bu nedenle, literatürdeki sınırlı verilere rağmen ümit vadeden bulgular göz önüne alındığında, bu tez çalışması bilimsel bir gereklilik ve değer taşımaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Patolojik Sayım ve İmmünofenotipik Analiz

3.1.1 Çalışma Grubu ve Klinik Veriler

Bu çalışma, 2010–2022 yılları arasında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan testiküler seminom tanısı almış 32 hastaya ait parafine gömülü doku örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. 28 hastaya ait yaş, tümör boyutu, evre (TNM sınıflaması), serum tümör belirteçleri [AFP, hCG, LDH], lenfovasküler invazyon (LVI) durumu, metastaz varlığı ve relaps gelişimi gibi klinikopatolojik veriler hasta dosyalarından retrospektif olarak temin edilmiştir.

Çalışma, etik kurul onayı alınarak yürütülmüştür (Ek-4) (Etik Kurul Karar No: 25/07/2023).

3.1.2. Histopatolojik İnceleme

Patoloji arşivinde bulunan hematoksilin-eozin (H&E) boyalı kesitler yeniden değerlendirilerek tümör dokusu, stromal alanlar ve lenfosit infiltrasyonu yönünden morfolojik analiz yapılmıştır. Tanının doğruluğu iki deneyimli patolog tarafından teyit edilmiştir. Tümörün boyutu, invazyon paterni, nekroz alanları ve stromal yoğunluk gibi özellikler ışık mikroskopisi altında incelenmiştir.

3.1.3. İmmünohistokimyasal Yöntemler

Doku bloklarından 4 µm kalınlığında kesitler alınarak pozitif yüklü lamlara yerleştirildi. İmmünohistokimyasal boyama işlemleri otomatik boyama cihazı (Ventana Benchmark XT) kullanılarak yürütüldü. Şekil 3.1'deki primer antikorlar kullanıldı:

- CD4 (Helper T hücreleri için) (Ek-1 Protokol)
- CD8 (Sitotoksik T hücreleri için) (Ek-2 Protokol)
- CD163 (M2 tip makrofajlar için) (Ek-3 Protokol)



Şekil 3.1. Ventana Benchmark XT Otomatik Boyama Cihazı (solda) ve Boyamada kullanılan primer antikorlar (sağda)

İmmünohistokimyasal reaksiyonlar DAB (diaminobenzidin) ile geliştirildi ve hematoksilen ile kontralama yapıldı. Her çalışma için uygun pozitif ve negatif kontroller eş zamanlı olarak kullanıldı.

3.1.4. İmmünreaktivite Değerlendirmesi

Elde edilen slaytlar Bx 46 olympus marka ışık mikroskopi ile değerlendirildi. İmmünopozitif hücreler, yüksek büyütmede (x400) tümörün periferik, stromal ve intratümöral bölgelerinden rastgele seçilen 5 farklı alanda manuel olarak sayıldı. Ortalama pozitif hücre sayısı her hasta için ayrı ayrı kaydedildi. Değerlendirme aynı gözlemciler tarafından körleme yöntemiyle gerçekleştirildi.

3.2. Yapay Zekaya Dayalı İmmünofenotipik Analiz

Görüntü işleme alanında nesne tespiti problemleri, özellikle sağlık bilimleri gibi hassas uygulama alanlarında yüksek doğruluk ve hız gerektirir. Bu problemin üstesinden gelmek için güncel Mask R-CNN, ResNet, and DenseNet gibi algoritmalar geliştirilmiş ve biyomedikal görüntü analizlerinde üstün başarı göstermektedir. Bu

ihtiyaçlara cevap veren en etkili algoritmalarından biri de YOLO (You Only Look Once) ailesidir. YOLO, tek aşamalı nesne tespiti gerçekleştiren bir algoritma olarak ilk kez 2016 yılında tanıtılmış ve o günden bu yana çeşitli sürümlerle geliştirilmiştir (Redmon ve diğ. 2016). YOLO modelleri, görüntüyü tek bir geçişte analiz ederek hem nesne sınıflandırması hem de konumlandırmasını gerçek zamanlı olarak gerçekleştirir. Bu özellik, sağlık uygulamalarında radyolojik görüntülerin anlık analizinden, cerrahi robotik sistemlerde hedef takibine kadar birçok alanda avantaj sağlar (Liu ve diğ. 2025).

YOLOv3'ten itibaren modele Darknet mimarisi entegre edilmiş, ardından gelen YOLOv4 ve YOLOv5 sürümlerinde performans optimizasyonları ve veri artırma teknikleriyle doğruluk oranları artırılmıştır. YOLOv7 ve YOLOv8 ise model sıkıştırma ve donanımsal verimlilik açısından öne çıkarken, sağlık alanında küçük yapısal anomalilerin tespiti gibi zorlu görevlerde daha başarılı olmuştur (Mao ve Hong 2025).

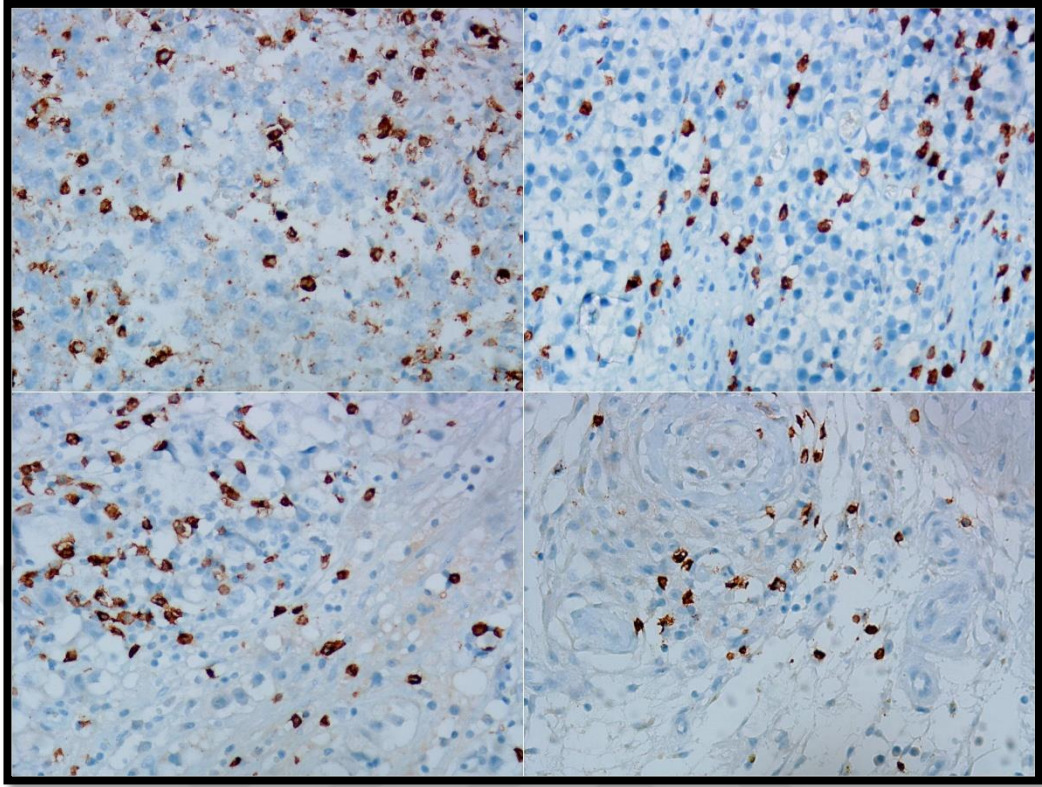
YOLO serisinin en güncel ve gelişmiş sürümlerinden biri olan YOLOv11, önceki sürümlerden edinilen deneyimlerin üzerine inşa edilmiştir. YOLOv11, Transformer tabanlı mimari modülleri, hibrit konvolüsyonel blokları ve daha derin öğrenme katmanları ile yüksek çözünürlükteki medikal görüntüler üzerinde hassas nesne tespitini mümkün kılar. YOLOv11'in en dikkat çeken özelliği, çoklu ölçekli nesne algılama kapasitesinin artırılması ve tespit edilen bölgelerin kontekst farkındalığı ile analiz edilmesidir (Khanam ve Hussain 2024).

3.2.1. Veri seti

Bu tez çalışmasında testiküler seminomlara ait CD8 immünohistokimyasal boyalı görüntüler, 40x büyütmede taranarak yapay zekâ eğitime uygun hale getirilmiş ve YOLOv11 algoritması ile model eğitimi gerçekleştirilmiştir. Model eğitimi için kullanılan görüntüler, doğrudan çalışmamıza ait orijinal CD8 boyalı preparatlardan elde edilmiştir.

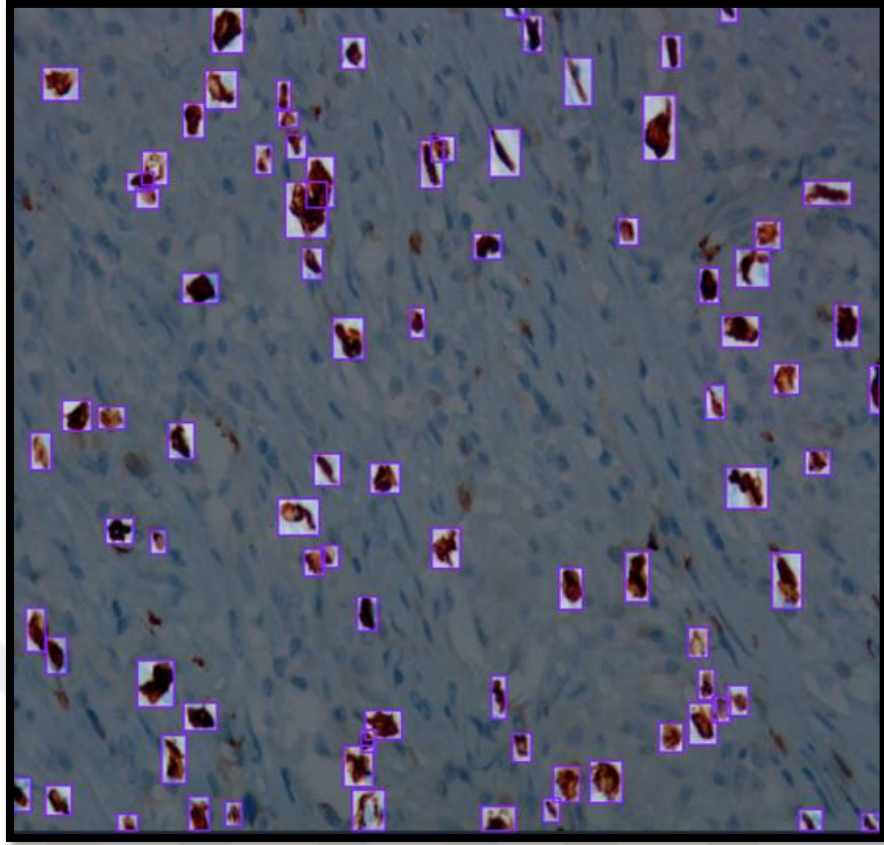
Ancak CD4+ yardımcı T hücreleri ve CD163+ M2 makrofajlar çalışmaya dâhil edilmemiştir. Bunun temel nedeni, bu iki hücre popülasyonunun boyanma morfolojisinin yapay zekâ ile ayrıştırılmasını zorlaştırmasıdır. CD8+ hücreler genellikle küçük, homojen lenfositler olup membranöz pozitifliği belirgindir; bu da yapay zekâ için daha net ve tutarlı bir etiketleme olanağı sunar (Yakirevich ve diğ. 2002). Buna karşın CD4 ve CD163 pozitif hücreler, sitoplazmik yayılma ve düzensiz boyanma desenleri nedeniyle sınırları belirsiz ve algoritmik ayrıştırmaya uygun olmayan formlar sergiler. Yapay zekâ modellerinin güvenilir sonuç üretebilmesi için her hücrenin doğru biçimde etiketlenmesi (annotasyon) gerekir. Ancak bu iki belirteçte, aynı alan içinde birbirine çok benzeyen, üst üste binmiş ya da zayıf boyanmış hücreler nedeniyle etiketleme doğruluğu sağlanamamıştır. Bu durum, modelin performansını olumsuz etkilediğinden, sadece CD8+ boyalı kesitler üzerinden derin öğrenme eğitimi gerçekleştirilmiştir. Geleneksel analiz yazılımları olan QuPath veya CellProfiler, kullanıcıya bazı ölçümler sağlasa da derin öğrenmeye kıyasla çok daha sınırlı kalmaktadır ve geniş serilerde standartlaştırılmış sonuçlar vermede yetersiz kalabilmektedir (Horbas ve diğ. 2025). Bu bağlamda çalışmamız, yalnızca CD8+ hücrelere odaklanarak hem teknik doğruluğu hem de bilimsel anlamlılığı ön plana çıkaran bir strateji izlemektedir.

Çalışmada kullanılan 32 hastaya ait preparatlardan Bx 46 olympus marka ışık mikroskobu ile 40X objektif büyütmesinde toplam 300 görüntü Portable Network Graphic (png) dosya formatında ayıklanmıştır. Hasta başına 9.4 görüntü seçilmiştir. Görüntülerin seçimi patoloji uzmanı eşliğinde ve histopatolojik olarak anlamlı yapılar içerecek şekilde yapılmıştır. Görüntü seçiminde, hücresel bütünlük, doku mimarisi, tanısal belirteçlerin varlığı ve lezyonun temsili özellikleri göz önünde bulundurulmuştur. Ayrıca, görüntülerin odak netliği, kontrast düzeyi ve artefakt içermemesi gibi teknik kriterler de değerlendirilmiştir. Bu sayede, analiz için kullanılacak veri setinin hem tanısal doğruluk hem de görsel kalite açısından uygunluğu sağlanmıştır. Bu görüntüler, 40x büyütmede elde edilmiş ve CD8 immünohistokimyasal belirteci ile boyanmış görüntüler kullanılmıştır (Şekil 3.2)



Şekil 3.2. CD8 primer antikoru ile boyanmış hücre görüntüleri

Görüntüler, çevrim için uygulama olan Roboflow 3.0 Nesne Algılama modeli aracılığıyla CD8_40X etiket adıyla etiketlenmiş olup, etiketleme süreci patoloji uzmanının rehberliğinde, CD8 boyası ile pozitif immünreaktivite gösteren alanların belirlenmesine dayanarak gerçekleştirilmiştir. Etiketlenmiş bir görsel Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Etiketlenmiş veri seti, modelin eğitimi, test edilmesi ve doğrulanması amacıyla rastgele olacak şekilde %70 eğitim (train), %20 doğrulama (validation) ve %10 test setlerine ayrılmıştır. Bu oranlama, modelin öğrenme sürecinde yeterli veriyle eğitilmesini, doğrulama setiyle aşırı öğrenmenin (overfitting) önlenmesini ve test setiyle modelin yeni veriler üzerindeki genelleme kabiliyetinin objektif bir şekilde ölçülmesini sağlamak amacıyla tercih edilmiştir.



Şekil 3.3. RoboFlow aracılığı ile etiketlenmiş bir hücre görüntüsü

3.2.2. Deney ortamı

Deney ortamı olarak Roboflow çevrim içi platformu kullanılmış olup, model eğitimi ve değerlendirme süreci bu platform üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, Checkpoint: COCOs referans alınarak, Model Type: YOLOv11 Object Detection (Accurate) konfigürasyonu tercih edilmiştir. Söz konusu model, nesne tespiti görevlerinde yüksek doğruluk oranı sağlaması nedeniyle bu çalışmada uygun görülmüştür.

3.2.3. Kullanılan Metrikler

Bu çalışmada modelin performansını değerlendirmek amacıyla başarımlık metrikleri olarak mAP@50, Precision ve Recall tercih edilmiştir. mAP@50 (mean Average Precision at IoU threshold 0.50), modelin nesne tespiti doğruluğunu

değerlendirmekte olup, tahmin edilen nesne konumlarının, gerçek etiketlerle %50 örtüşme oranı (Intersection over Union - IoU) temelinde ortalama doğruluğunu ifade eder. Precision (kesinlik), modelin pozitif olarak tahmin ettiği örnekler arasından gerçekten doğru olanların oranını gösterirken; Recall (duyarlılık), gerçek pozitif örneklerin ne kadarının model tarafından doğru şekilde tespit edildiğini ifade etmektedir. Bu metrikler, etiketleme sürecinde modelin hem doğruluk hem de kapsayıcılık açısından başarımını değerlendirmek için kullanılmıştır. Eşitlik 3.1-3.3, mAP@50, Precision ve Recall metriklerini göstermektedir.

$$mAP = \frac{\sum_{i=1}^N AP_i}{N} \quad (3.1)$$

$$P = \frac{TP}{TP + FP} \quad (3.2)$$

$$R = \frac{TP}{TP + FN} \quad (3.3)$$

Bu metriklerde kullanılan terimler şu şekilde tanımlanmaktadır: TP (True Positive), modelin gerçekten pozitif olan bir örneği doğru şekilde pozitif olarak sınıflandırdığı durumları; TN (True Negative), gerçekten negatif olan bir örneğin doğru biçimde negatif olarak sınıflandırılmasını; FP (False Positive), gerçekte negatif olan bir örneğin hatalı olarak pozitif tahmin edilmesini; FN (False Negative) ise gerçekte pozitif olan bir örneğin model tarafından yanlışlıkla negatif olarak sınıflandırılmasını ifade eder.

Modelin genel başarı performansını değerlendirmek için kullanılan mAP@50 metriği, her sınıf için hesaplanan AP (Average Precision) değerlerinin ortalamasını alır. AP, modelin belirli bir sınıf için tüm eşik değerleri boyunca precision-recall eğrisi altındaki alanı temsil eder ve sınıf bazında doğruluk ile duyarlılığın dengeli bir ölçüsünü sunar.

3.3. İstatiksel Analiz

Araştırma kapsamında öncelikle gözlemlerin tanımlayıcı istatistiklerine yer verilmiştir. Ölçümsel değişkenler ortalama ve standart sapma, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile gösterilmiştir. Hipotez testlerine geçilmeden önce verilerin normal

dağılıma uygunluğu çarpıklık ve basıklık değerleri ile incelenmiştir. Burada +1,5 ile -1,5 eşik değerleri arasında kalınması durumunda normal dağılımın sağlandığı varsayılmıştır. Bu çerçevede normal dağılımın sağlanması nedeniyle hipotezlerde parametrik testler kullanılmıştır. İlişki analizinde pearson korelasyon analizi, farklılık testlerinde ise bağımsız gruplarda t testi kullanılmıştır. Veri analizi SPSS 23.0 paket programında gerçekleştirilmiştir. Tüm analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Patolojik Sayım ve İmmünohistokimyasal Analiz

4.1.1. Katılımcılara İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler

Katılımcıların CD4+ ortalamaları $123,28 \pm 60,59$, CD8+ ortalamaları $153,35 \pm 59,38$, CD163+ ortalamaları $67,35 \pm 31,47$ 'dir. Katılımcıların yaş ortalaması $40,39 \pm 8,46$ 'dır. Tümör boyutu incelendiğinde ortalama $4,97 \pm 2,50$ cm olduğu tespit edilmiştir. Katılımcıların B-HCG puan ortalaması $14,80 \pm 44,07$ 'dir. LDH ortalamaları $306,14 \pm 210,03$ ve AFP ortalamaları $15,24 \pm 44,12$ 'dir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Katılımcılara İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler

	N	Min	Max	Ortalama	Std. Sapma
CD4+	28	43,00	280,00	123,28	60,59
CD8+	28	65,00	238,00	153,35	59,38
CD163+	28	17,00	123,00	67,35	31,47
Yaş	28	26,00	55,00	40,39	8,46
Tümör boyutu (cm)	28	1,00	9,50	4,97	2,50
B-HCG	27	0,10	230,43	14,80	44,07
LDH	27	148,00	909,00	306,14	210,03
AFP	27	1,04	206,00	15,24	44,12
Valid N (listwise)	27				

Katılımcıların %53,6'sının tümör evresi T1, %46,4'ünün ise T2'dir. Katılımcılardan lenfovasküler invazyon olan ve olmayanlar birbirine eşittir (%50) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Tümör Evresi ve LVİ Dağılımı

		N	%
Tümör evresi	T1	15	53,6
	T2	13	46,4
Lenfovasküler invazyon (LVİ)	Yok	14	50,0
	Var	14	50,0

4.1.2. Normal Dağılım İncelemesi

Araştırmanın bağımlı değişkenleri olan CD4+, CD8+ ve CD163+ değerlerine ilişkin ilişki ve farklılık analizlerine geçmeden önce, gözlem sayısının da kısıtlı olmasından dolayı bir normal dağılım incelemesi yapılmıştır. Burada verilerin normal dağılım gösterip göstermediği çarpıklık ve basıklık değerlerine bakılarak incelenmiştir (Tablo 4.3). Tüm değerlerin $\pm 1,5$ aralığında olduğu tespit edilmiştir. Buna göre verilerin normal dağıldığı kabul edilerek parametrik hipotez testleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.3. Normal Dağılım İncelemesi

	Çarpıklık	Basıklık
CD4+	0,743	0,091
CD8+	-0,165	-1,455
CD163+	0,129	-0,756

4.1.3. Hipotez Testleri

Yaş, tümör boyutu, B-HCG, LDH ve AFP değişkenlerinin CD4+, CD8+ ve CD163+ değişkenleri ile ilişkisinde korelasyon analizinden faydalanılmıştır. Gerçekleştirilen analizin sonuçları Tablo 4.4’de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Korelasyon Analizi Sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8
1.Yaş	1							
2.Tümör boyutu (cm)	,157	1						
3.B-HCG	-,266	-,035	1					
4.LDH	,101	,271	,667**	1				
5.AFP	-,332	,180	,043	-,012	1			
6.CD4+	-,021	,322	-,022	-,039	,045	1		
7.CD8+	-,086	,220	,274	,076	,169	,452*	1	
8.CD163+	-,244	,273	,048	,231	-,149	-,044	,086	1

*p<0,05, **p<0,01

Gerçekleştirilen analiz neticesinde CD4+, CD8+ ve CD163+ değişkenlerinin Yaş, tümör boyutu, B-HCG, LDH ve AFP değişkenleri ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişkilerin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Öte yandan B-HCG ile LDH arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif yönlü ve orta kuvvette bir ilişki olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$, $r:0,667$). CD4+ ile CD8+ arasında da benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı, pozitif yönlü ve orta kuvvette bir ilişki olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$, $r: 0,452$).

Araştırma kapsamında CD4+, CD8+ ve CD163+ değerlerinin tümör evresine göre farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Burada bağımsız gruplarda t testi kullanılmış ve analiz sonuçları Tablo 4.5’de sunulmuştur.

Tablo 4.5. Bağımsız Gruplarda T Testi Sonuçları (Tümör Evresi)

	Tümör evresi	N	Ortalama	Std. Sapma	t	p
CD4+	T1	15	94,20	42,51588	-3,146	0,004
	T2	13	156,84	62,23992		
CD8+	T1	15	142,86	62,41093	-1,004	0,324
	T2	13	165,46	55,61867		
CD163+	T1	15	65,93	36,32092	-0,253	0,803
	T2	13	69,00	26,16295		

Elde edilen bulgulara göre tümör evresine göre CD4+ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,05$). Burada T2 evresinde olanlarda CD4+ değerinin anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan CD8+ ve CD163+ değerleri T2 evresinde daha yüksek ortalamalara sahip olmasına rağmen, bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Araştırma kapsamında CD4+, CD8+ ve CD163+ değerlerinin lenfovasküler invazyon durumuna göre farklılık gösterip göstermediği incelenmiştir. Burada bağımsız gruplarda t testi kullanılmış ve analiz sonuçları Tablo 4.6’da sunulmuştur.

Tablo 4.6. Bağımsız Gruplarda T Testi Sonuçları (LVİ)

	Lenfovasküler invazyon (LVİ)	N	Ortalama	Std. Sapma	t	p
CD4+	Yok	14	115,50	54,02	-0,673	0,507
	Var	14	131,07	67,64		
CD8+	Yok	14	142,14	58,59	-0,999	0,327
	Var	14	164,57	60,16		
CD163+	Yok	14	64,71	35,19	-0,438	0,665
	Var	14	70,00	28,35		

Elde edilen bulgulara göre lenfovasküler invazyon durumu olan katılımcılarda CD4+, CD8+ ve CD163+ ortalamaları daha yüksek olmasına rağmen, bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

4.2. Yapay Zekaya Dayalı İmmüfenotipik Analiz

Bu bölümde, çalışmada kullanılan derin öğrenme modelinin eğitim, doğrulama ve test aşamalarında elde ettiği performans sonuçları sunulmaktadır. Modelin başarımı; mAP@50, Precision ve Recall gibi yaygın olarak kabul gören ölçütler üzerinden değerlendirilmiştir. Ayrıca, sınıflandırma doğruluğu, hata türleri ve modelin farklı veri alt kümeleri üzerindeki genel performansı da ayrıntılı şekilde analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, önerilen yöntemin CD8 boyalı histopatolojik görüntülerde nesne tespiti görevindeki etkinliğini ve güvenilirliğini ortaya koymaktadır.

Modelin eğitimi sonucunda elde edilen performans metrikleri Tablo 4.7’de özetlenmiştir. Modelin nesne tespiti görevindeki başarımı, mAP@50 değeri üzerinden %94.0 olarak hesaplanmıştır. Bu yüksek oran, modelin nesneleri doğru konum ve sınıf bilgisiyle tespit etme yeteneğinin oldukça güçlü olduğunu göstermektedir. Precision (%88.7) ve Recall (%87.9) değerleri ise, modelin tahminlerinin doğruluğunu ve gerçek pozitif örnekleri ne ölçüde yakalayabildiğini ortaya koymaktadır. Bu metrikler, modelin hem yanlış pozitif üretimini sınırladığını hem de pozitif örnekleri büyük ölçüde başarılı şekilde tanıdığını göstermektedir.

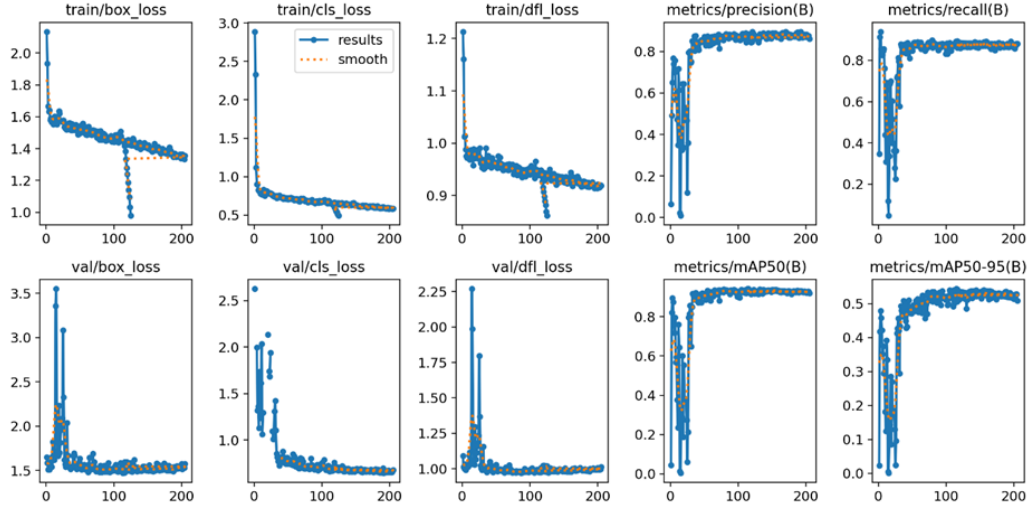
Tablo 4.7. Model performans metrikleri

Başarı Ölçütü	Değer (%)
mAP@50	94.0
Precision	88.7
Recall	87.9

Test seti üzerinde yapılan değerlendirme sonuçları, modelin genelleme yeteneğini ve sınıf bazlı başarımını ortaya koymaktadır. Test seti için mAP@50 hesaplaması temelinde %92 olarak elde edilmiştir. Bu oran hem genel model başarımının hem de CD8_40X etiketli görüntüler üzerinde yüksek doğrulukla tahmin yapabildiğinin bir göstergesidir.

Eğitim 200 epoch olarak ayarlanmıştır. Bu eğitime ait sonuçlar Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Eğitim süreci boyunca modelin öğrenme performansı, çeşitli kayıp fonksiyonları ve başarı metrikleri üzerinden detaylı olarak izlenmiştir. Şekil 4.1’de görülen grafiklerde, her bir epoch süresince hem eğitim (train) hem de doğrulama (validation) verileri üzerinde elde edilen sonuçlar sunulmaktadır. Eğitim süresince kullanılan kayıp fonksiyonları arasında yer alan box_loss, cls_loss ve dfl_loss değerlerinde gözle görülür bir düşüş yaşanmıştır. Özellikle ilk 50 epoch içerisinde bu kayıplarda hızlı bir azalma gözlemlenmiş, sonrasında ise daha dengeli ve istikrarlı bir seyir izlenmiştir. Bu durum, modelin temel öğrenme sürecini başarıyla tamamladığını ve parametrelerinin zamanla optimize edildiğini göstermektedir.

Şekil 4.1 dikkatli bir şekilde incelendiğinde, doğrulama verileri üzerinde elde edilen kayıp değerleri de benzer şekilde düşüş eğilimindedir. Başlangıçta belirli dalgalanmalar gözlemlense de eğitim ilerledikçe bu değerler stabil hale gelmiştir. Val/box_loss, val/cls_loss ve val/dfl_loss grafiklerinde kayıpların özellikle 100. epoch sonrası düşük seviyelerde sabitlendiği görülmektedir. Bu, modelin doğrulama verileri üzerinde aşırı öğrenme (overfitting) eğilimi göstermediğini ve genelleme kabiliyetinin korunduğunu göstermektedir.



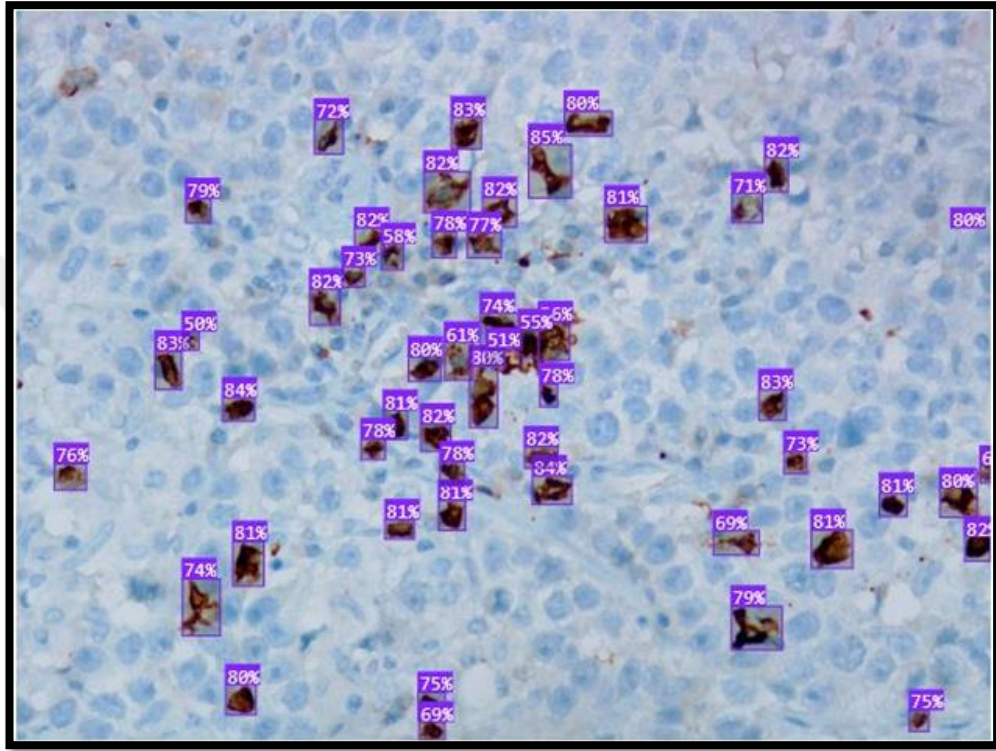
Şekil 4.1. 200 epoch boyunca elde edilen eğitim verileri.

Bu çalışma için kullanılan başarımlar metrikleri incelendiğinde, modelin doğruluk ve duyarlılık açısından oldukça güçlü sonuçlar ürettiği gözlemlenmiştir. Precision ve Recall değerleri eğitim sürecinin başında düşük seviyelerdeyken, kısa sürede %85'in üzerine çıkmış ve son epoch'larda yüksek düzeyde sabitlenmiştir. Bu durum, modelin hem pozitif sınıfları doğru tahmin etme (recall) hem de yaptığı pozitif tahminlerin büyük kısmının doğru olmasını sağlama (precision) açısından başarılı olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, modelin nesne tespiti doğruluğunu ölçen mAP@50 değeri yaklaşık %94 seviyesine ulaşmıştır. Bu metrik, tahmin edilen nesne konumlarının gerçek konumlarla en az %50 örtüşme göstermesi şartına göre hesaplanan ortalama başarı oranını ifade etmektedir. Daha sıkı bir değerlendirme ölçütü olan mAP@50-95 ise %50 seviyelerine kadar çıkmış olup, modelin farklı eşik değerleri altında da etkin çalıştığını göstermektedir. Bu sonuçlar, modelin yalnızca kaba tespitlerde değil, hassas konumlamalarda da başarılı olduğunu ortaya koymaktadır.

Şekil 4.2'de modelin test verisi üzerinde gerçekleştirdiği tahminlerden bir örnek sunulmaktadır. Görüntü, CD8 belirteci ile boyanmış bir doku kesitine ait olup, model tarafından tespit edilen hücreler mor çerçevelerle işaretlenmiştir. Her bir kutucuk içerisinde, ilgili tahminin doğruluk (confidence) oranı yüzde olarak belirtilmiştir. Tahmin oranlarının büyük çoğunluğu %70'in üzerinde olup, bu durum

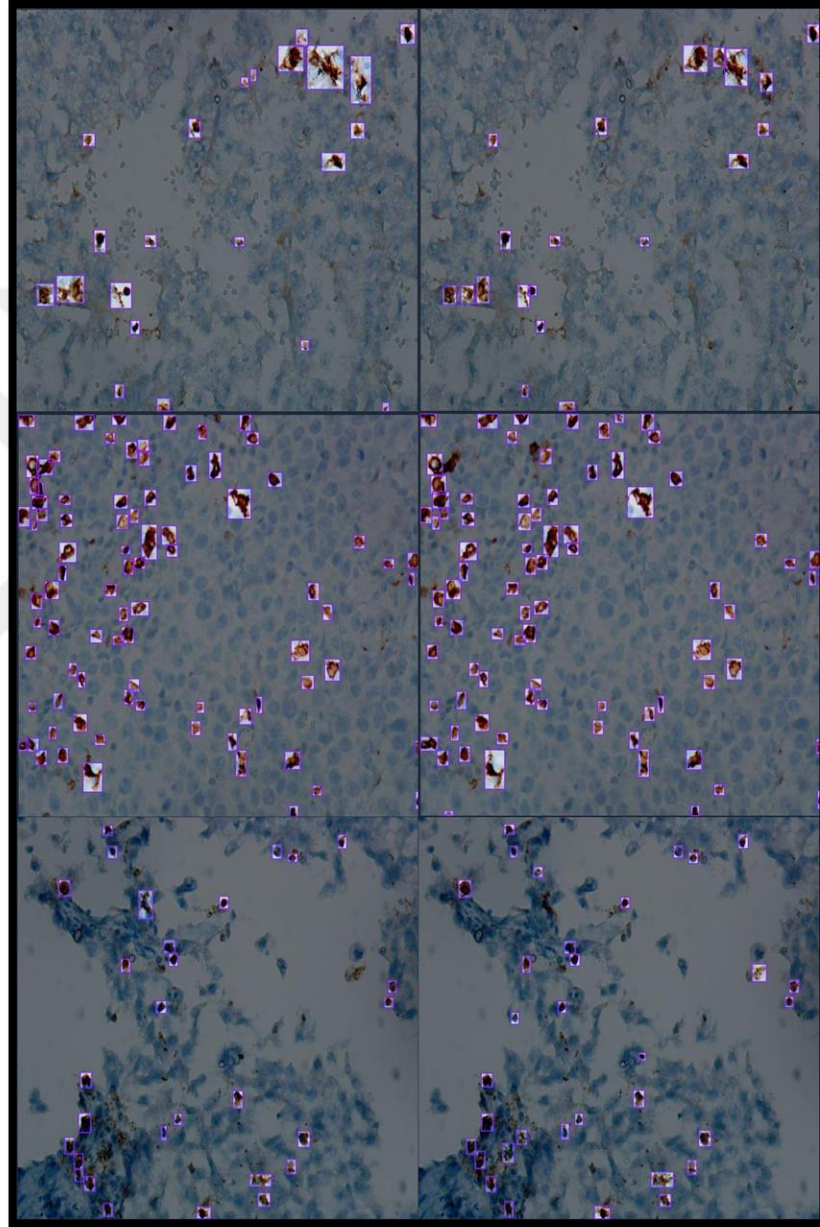
modelin yüksek güvenle sınıflandırma yaptığına işaret etmektedir. Görüntüdeki yoğun pozitif sinyal, CD8+ hücrelerin doğru şekilde tespit edildiğini göstermekte ve modelin hem konumsal hem de sınıfsal olarak güçlü bir performans sergilediğini ortaya koymaktadır. Bu görsel, modelin pratik uygulamalarda da güvenilir şekilde kullanılabileceğinin bir göstergesidir.



Şekil 4.2. Test verisine ait bir CD8 immünboyamalı doku görüntüsü üzerinde model tarafından yapılan tespitler. Mor kutucuklar, modelin CD8+ hücreleri tanımladığı bölgeleri göstermekte olup, her bir kutuda tahmin doğruluk (confidence) değeri yüzdelik olarak belirtilmiştir.

Modelin test verisi üzerinde gerçekleştirdiği tespitler, elde edilen çıktılarla birlikte Şekil 4.3'te örnek olarak sunulmuştur. Bu görsellerde, orijinal etiketli görüntüler ile modelin tahmin çıktıları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Görüntülerdeki mor renkli çerçeveler, modelin CD8 pozitif hücreleri tanımladığı alanları göstermektedir. Görüntü çiftlerinde, modelin büyük oranda doğru tahminlerde bulunduğu, özellikle belirgin şekilde boyanmış hücreleri başarılı bir şekilde tespit ettiği görülmektedir. Bununla birlikte, zayıf kontrastlı veya düzensiz sınırlara sahip hücrelerde zaman zaman eksik ya da hatalı tahminler yapılabildiği gözlemlenmiştir.

Bu durum, modelin sınıflandırma doğruluğu kadar, doku morfolojisinden etkilenebileceğini de ortaya koymaktadır. Görseller, modelin pratik uygulamalarda yüksek doğrulukla çalıştığını ancak patolojik çeşitliliğe karşı duyarlılığının bazı durumlarda sınırlı kalabildiğini göstermektedir.



Şekil 4.3. Test veri setine ait örnek görüntülerin etiketlenmiş (solda) ve model tahminleriyle elde edilmiş (sağda) halleri. Mor çerçeveler CD8 pozitif hücrelerin tespit edildiği bölgeleri göstermektedir. Görseller, modelin genel doğruluk düzeyini ve sınıflandırma davranışını örneklemektedir.

Test görüntüleri üzerinde yapılan karşılaştırmalı analizde, modelin etiketli görüntülerle yüksek düzeyde uyumlu tahminler yaptığı görülmüştür (Şekil 4.3.). Tablo 4.8’de ise, üç örnek görüntüye ait tespit performansı detaylı olarak sunulmaktadır. Eksik tespitlerin genellikle zayıf boyanmış hücrelerden, fazla tespitlerin ise hücre dışı pigment odaklarından kaynaklandığı anlaşılmıştır.

Tablo 4.8. Test veri setinden seçilen üç örnek görüntüye ait model tahmin performansı. TP (True Positive), FN (False Negative) ve FP (False Positive) değerleri sırasıyla doğru, eksik ve fazla yapılan tespit sayılarını göstermektedir.

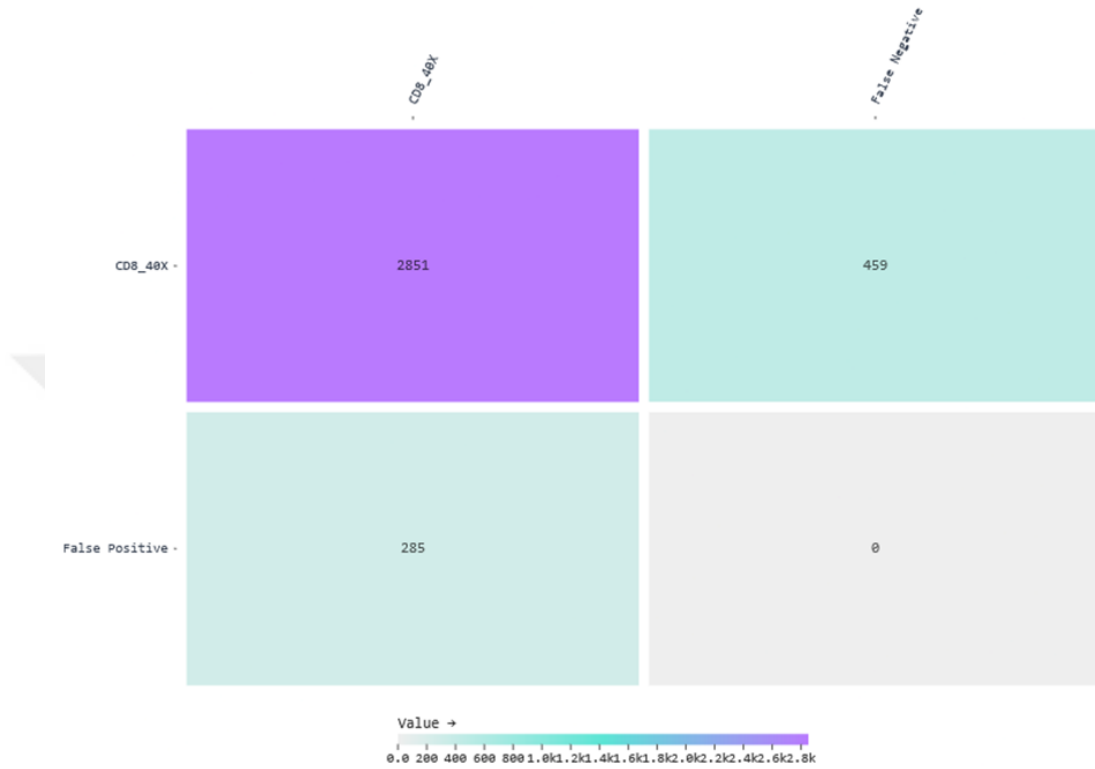
Görüntü ID	Toplam Etiket	Doğru Tespit (TP)	Eksik Tespit (FN)	Fazla Tespit (FP)	Açıklama
1	45	42	3	2	Hafif bulanıklık, 2 küçük hücre atlanmış
2	38	34	4	3	Yoğun grup içinde karışma gözlemlendi
3	60	58	2	4	Düzenli tespit, birkaç küçük hata

Test veri seti üzerinde modelin sınıflandırma performansını değerlendirmek amacıyla oluşturulan karışıklık matrisi Şekil 4.4’te sunulmaktadır. Bu analiz, toplamda 30 test görüntüsü üzerinde gerçekleştirilmiş olup, bu görüntülerde modelin değerlendirdiği toplam etiket (doğru nesne sayısı) 3.310 olarak kaydedilmiştir.

Matriste görüldüğü üzere, model 2.851 CD8_40X etiketini doğru şekilde tespit ederek True Positive (TP) olarak sınıflandırmıştır. Ancak 459 adet CD8_40X pozitif hücre, model tarafından tespit edilemeyerek False Negative (FN) olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, modelin gerçekte CD8 pozitif olmayan ancak pozitifmiş gibi sınıflandırdığı 285 adet False Positive (FP) durumu da gözlenmiştir. Bu değerler, modelin genel başarımının yüksek olduğunu, ancak özellikle bazı hücreleri atlama (FN) eğiliminde olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlar, modelin yüksek hassasiyet (precision) ile çalıştığını, ancak zaman zaman duyarlılığının (recall) sınırlı kalabildiğini göstermektedir. Özellikle zayıf boyanmış, sınıra yakın ya da küçük hücrelerin gözden kaçırılması, FN oranını artıran

başlıca etkenler arasında olabilir. Bununla birlikte FP oranının görece düşük olması, modelin aşırı tahmin yapmadığını ve yanlış pozitif oranının kontrol altında olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. Test veri setine (30 görüntü, 3.310 etiket) ait karışıklık matrisi. Görselde, doğru tespit edilen CD8_40X pozitif hücre sayısı (TP), modelin atladığı gerçek pozitifler (FN) ve yanlış pozitif tahminler (FP) gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Kanser gelişimi ve progresyonunda tümör mikroçevresinin rolü son yıllarda yoğun biçimde araştırılan bir konudur. Tümör hücreleri, içinde bulundukları mikroçevre ile sürekli etkileşim halindedir ve bu mikroçevre sadece kanser hücrelerinden değil, aynı zamanda fibroblastlar, damar endotel hücreleri, ekstraselüler matriks ve özellikle immün hücreler gibi birçok bileşenden oluşur. Kronik enflamasyonun kanser gelişimi için risk faktörü olduğu bilinmektedir ve tümör dokusundaki hem pro-enflamatuvar hem anti-enflamatuvar immün aktivite, tümör büyümesini farklı şekillerde etkileyebilmektedir (Mantovani ve diğ. 2008; Hanahan ve Weinberg, 2011). Nitekim, bağışıklık sisteminin kanseri tanıma ve yok etme kapasitesi (immunosurveillance) ve buna karşı tümörün zamanla immün kaçış mekanizmaları geliştirmesi (immunoediting) kavramları, günümüzde kanser biyolojisinin temel kuramlarından biridir. Tümör mikroçevresindeki immün hücrelerin türü, yoğunluğu ve lokalizasyonu, birçok kanser türünde prognostik değer taşımaktadır. Öyle ki, kolorektal kanserde yapılan öncü çalışmalarda tümör içine ve invaziv kenarına infiltre olmuş CD3+ ve CD8+ T lenfosit yoğunluğunun, hastaların sağkalımını öngörmede TNM evresinden daha güçlü bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (Galon ve diğ. 2006). Bu bulgular ışığında “immünoskor” kavramı geliştirilmiş ve başta kolon kanseri olmak üzere pek çok tümörde tümör-infiltrate immün hücrelerin değerlendirilmesi prognostik bir araç olarak önerilmiştir (Galon ve diğ. 2016). Dolayısıyla, bir tümör dokusundaki immün infiltrasyonun niteliği ve niceliğinin incelenmesi, hastalığın biyolojisini anlamada ve olası tedavi hedefleri belirlemede kritik önemdedir. İmmün sistem hücreleri içinde özellikle T lenfositler ve makrofajlar, tümör mikroçevresinde en baskın rol oynayan hücrelerdendir. CD8+ sitotoksik T lenfositler, neo-antijenleri tanıyarak tümör hücrelerini doğrudan öldürebilen efektör hücrelerdir ve genellikle antitümör bağışıklığın başlıca taşıyıcısı olarak kabul edilirler. CD4+ T hücreleri ise heterojen bir gruptur; bir yandan efektör fonksiyonlu T yardımcı hücreleri (özellikle Th1 türü) CD8+ T hücreleri ve makrofajları aktive ederek antitümör yanıtı katkı sağlar, diğer yandan düzenleyici T hücreleri (Treg, genellikle CD4+FoxP3+ fenotipinde) bağışıklık tepkisini baskılayarak tümörün immün kontrolünden kaçmasına yol açabilir (Yang ve diğ. 2024). Tümörle ilişkili makrofajlar (TAM –

tumor-associated macrophage) da mikroçevrenin kilit oyuncularıdır; bunların M1 ve M2 olarak kabaca sınıflanan fenotipleri bulunur. M1-polarize makrofajlar sitotoksik ve tümör baskılayıcı özelliklere sahipken, CD163 gibi işaretleyicilerle tanımlanan M2-polarize makrofajlar immün sistemi baskılayıcı, anjiyogenezi ve tümör hücrelerinin invazyonunu destekleyici faktörler salgırlar (Davidsson ve diğ. 2020; Xu ve diğ. 2022). Birçok solid tümörde TAM yoğunluğunun artması kötü prognozla ilişkilendirilmiştir; makrofajlar tümör progresyonunun farklı basamaklarını (ör. stromal yeniden yapılanma, tümör hücrelerinin hareket ve invazyonu, intravazasyon ve ekstrasvazasyonu) kolaylaştırarak metastatik sürece katkıda bulunabilir (Qian ve Pollard 2010). Bu nedenle, tümör mikroçevresindeki CD4+ ve CD8+ T hücreleri ile CD163+ M2 makrofajların dağılım ve etkileşimlerinin incelenmesi, tümörün biyolojik davranışı hakkında değerli ipuçları verebilir.

Testis dokusu, vücudun “immün ayrıcalıklı” (immune-privileged) bölgelerinden biri olarak kabul edilir (Fijak ve Meinhardt 2006). Bu durum, gelişen germ hücrelerinin otoimmün saldırılardan korunması amacıyla evrimleşmiş bir dizi mekanizmanın (kan-testis bariyeri, immün baskılayıcı lokal sitokinler, Sertoli hücrelerinin FasL ekspresyonu ile gelen T hücrelerini apoptoza sürüklemesi vb.) sonucudur. Normal şartlar altında testis interstisyel dokusunda immün hücre sayısı oldukça düşüktür ve bulunanlar da genellikle baskılayıcı fenotiplerdedir (örneğin, düzenleyici T hücreleri ve M2 makrofajlar) (Filippini ve diğ. 2001; Li ve diğ. 2012). Bununla birlikte, testiste germ hücre neoplazisi gelişmesi, bu immün ayrıcalıklı mikroçevrenin kısmen kırılmasına ve host immün yanıtının uyanmasına yol açabilmektedir. Nitekim germ hücreli testis tümörleri (TGCT), immün sistem için genellikle yüksek düzeyde antijenik tümörlerdir; bu tümörlerde kanser/testis antijenleri (MAGE-A4 gibi) ve plasental proteinler anormal şekilde eksprese edildiğinden, vücudun bu antijenlere karşı tolere olmadığı durumlarda güçlü bir bağışık yanıt tetiklenebilir (Aubry ve diğ. 2001; Zhu ve diğ. 2025). Literatürde, testis tümörü varlığında hastaların kanında hem CD8+ hem CD4+ T hücrelerle mediate olan spesifik bir antitümör immün yanıt gelişebildiği ve radikal orşiektomi ile tümör uzaklaştırıldıktan sonra bu spesifik T hücre yanıtının belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (Pearce ve diğ. 2017). Bu bulgu, testis tümörlerinin vücutta fark edilebilir bir immün denetim mekanizmasını uyandırabildiğini göstermektedir.

Testiküler seminoma, postpubertal dönemde ortaya çıkan tip II germ hücreli tümörlerin saf seminomatoz alt tipini ifade eder. Seminoma, histolojik olarak fibroz septalar içerisinde bol lenfositik infiltrasyon göstermesiyle klasik bir görünüme sahiptir (Emerson ve Ulbright 2007; Downes 2023; Rajpert-De Meyts ve diğ. 2023). Hatta seminomanın patolojik tanısında, tümör adacıkları arasındaki yoğun mavi lenfositik hücrelerin varlığı karakteristik olarak değerlendirilir. Bu gözlem, seminomanın immünojenitesinin ve mikroçevresinde belirgin bir immün hücre varlığının kanıtıdır. Nitekim, Hadrup ve arkadaşlarının (2006) seminal çalışmasında, seminoma lezyonlarının hem CD4+ hem de CD8+ T lenfositlerden zengin “yoğun bir inflamatuvar infiltrat” içerdiği ve bu infiltrasyonun prognostik öneme sahip olduğu vurgulanmıştır. Araştırmacılar, seminoma dokularından izole ettikleri tümör infiltrasyon lenfositlerinin (TİL) çoğunun klonal olarak genişlemiş sitotoksik T hücreleri olduğunu ve tümör yerinde granzyme B gibi sitotoksik moleküllerin eksprese edildiğini ortaya koymuşlardır (Hadrup ve diğ. 2006). Bu bulgular, seminoma mikroçevresindeki T hücrelerinin sadece bir enflamatuvar reaksiyon olmayıp, tümöre özgü antijenlere karşı aktif bir immün yanıtın parçası olabileceğini göstermektedir.

Seminoma ile non-seminomatöz germ hücreli tümörler (NSGCT) arasında immün mikroçevre açısından belirgin farklar olduğu literatürde rapor edilmiştir. Seminomatöz tümörler, genel açıdan “immünolojik olarak sıcak” tümörler şeklinde tanımlanabilir; yoğun T lenfosit infiltrasyonu ve pro-enflamatuvar sitokin profili ile karakterizedir (Gayer ve diğ. 2023; Islam ve diğ. 2024). Buna karşın NSGCT’ler (embriyonel karsinom, yolk sac tümör, koryokarsinom, teratom vb.) heterojen bir grup olmakla birlikte, relatif olarak daha az ve farklı kompozisyonda immün hücre içerirler. Siska ve arkadaşlarının (2017) testis tümörlerinde yaptıkları çoklu immünohistokimyasal profil analizine göre, seminoma örneklerinde CD3+ toplam T hücresi infiltrasyonu NSGCT’lere kıyasla belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur; ayrıca seminomalarda düzenleyici T hücresi oranı daha düşük, PD-L1 ekspresyonu daha yüksek ve PD-1 ile PD-L1 etkileşimleri (immün kontrol noktası aktivitesi) daha fazla saptanmıştır (Siska ve diğ. 2017). Bu sonuçlar, seminomanın güçlü bir efektör T hücre yanıtını tetiklediğini, tümörün de buna karşı PD-L1 gibi mekanizmalarla kendini korumaya çalıştığını düşündürmektedir. Benzer şekilde Fankhauser ve ark. (2015), normal testis dokusunda PD-L1 ekspresyonu tespit etmezken, seminomaların yaklaşık

üçte ikisinde (%73) tümör hücrelerinde yoğun PD-L1 pozitifliği saptamışlardır. Non-seminomatöz tümörlerde de PD-L1 ekspresyonu artmakla birlikte (%64), seminomalarındaki kadar yüksek oranda olmadığı bildirilmiştir (Fankhauser ve diğ. 2015). Bu veriler, seminoma mikroçevresinin immün sistem tarafından “yabancı” olarak algılandığını ve tümör hücrelerinin bu güçlü bağışık yanıt karşısında kontrol noktası moleküllerini devreye soktuğunu göstermektedir. Nitekim, literatürde seminoma hastalarının immünoterapiye aday iyi bir grup oluşturabileceği yönünde beklentiler oluşmuş, ancak ileride tartışılacağı üzere klinik denemeler beklenen başarıyı göstermemiştir.

Seminoma mikroçevresinin bir diğer dikkat çekici özelliği, sıkça görülen granümatöz reaksiyondur. Histopatolojik incelemede, seminoma dokusunda dev hücreler ve epiteloid histiyosit kümelerinden oluşan non-kazeifiye granülomlar bulunabilir. Bu granümatöz yanıtın, tümöre karşı gelişen bir tür kronik immün reaksiyon olduğu düşünülmektedir. Hatta “yanmış seminoma” (burned-out tumor) olarak adlandırılan olgularda, primer testis tümörü kendiliğinden gerileyerek geride sadece fibrozis ve granülom yapısı bırakmakta, hasta metastatik kitlelerle başvurmaktadır. Bu nadir fenomenin, tümör mikroçevresindeki bağışık hücrelerin tümör hücrelerini ortadan kaldırmasıyla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Dorantes-Heredia ve diğ. 2019). Gerçekten de literatürde sunulan bir olguda, 34 yaşında bir hastada spontan regresyona uğramış testis tümörü saptanmış ve bunun host immün yanıtı ve tümör vaskülarizasyonundaki değişikliklerle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Dorantes-Heredia ve diğ. 2019). Seminomalarındaki granülom varlığı, yoğun makrofaj aktivitesine işaret etmektedir; bu makrofajların bir kısmı tümörü ortadan kaldırmaya çalışan M1 tipi aktive makrofajlar olabileceği gibi, bir kısmı da M2 fenotipine kayarak bağışık yanıtı sona erdiren ve doku tamirine yönelen hücrelere dönüşebilir. Granülomların varlığı bu nedenle çift taraflı bir kılıç gibidir: Başlangıçta tümör nekrozuna yol açacak denli güçlü bir hücrel immün yanıt mevcutken, süreç içerisinde bu yanıt fibrozis ile sonuçlanır ve geride canlı tümör kalsa da eğer kalmasa da artık aktif bir immün kontrol olmayabilir.

Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar, seminoma mikroçevresinin bile tek tip olmadığını, tümörün farklı alt tiplerinde immün infiltrasyonun farklı olabileceğini

göstermektedir. Örneğin Savelyeva ve Medvedev, (2023), saf seminoma olgularını transkriptom verilerine göre iki alt gruba ayırmış; daha az farklılaşmış “subtip 1” seminomalarda immün skorun anlamlı derecede düşük ve nötrofil fraksiyonunun yüksek olduğunu, daha olgun “subtip 2” seminomalarda ise immün skorun yüksek olup, yaşlanma ile ilişkili sekresyon fenotipine (SASP) ait genlerin aşırı eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Subtip 1’in “immünolojik olarak soğuk” bir mikroçevreye sahip olduğu, subtip 2’nin ise yoğun immün infiltrasyona uğradığı belirtilmiştir (Savelyeva ve Medvedev 2023). Bu tür bulgular, seminoma içinde dahi tümör mikroçevresi açısından heterojenite olabileceğini ve bunun muhtemelen tümör hücrelerinin farklı moleküler özellikleriyle bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda tek tip seminoma histolojisine sahip olgular incelendiğinden, böyle bir alt grup ayrımı yapılmamıştır; ancak literatür, genel olarak seminomanın güçlü bir immün infiltrasyon barındırdığını desteklemektedir.

Bu doktora tezi kapsamında incelediğimiz testiküler seminoma olgularında, tümör mikroçevresindeki üç ana immün hücre popülasyonunun (CD4+, CD8+ T lenfositler ve CD163+ makrofajlar) dağılımı ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkileri değerlendirildi. Bulgularımız genel hatlarıyla literatürle uyumlu şekilde, seminoma dokularında anlamlı düzeyde T lenfosit infiltrasyonu bulunduğunu teyit etmektedir. Özellikle CD8+ sitotoksik T hücrelerinin tümör içinde ve çevresindeki septalarda yoğun biçimde var olduğu gözlemlendi. CD4 pozitif hücreler de yine belirgin oranda mevcut olup, bu popülasyon muhtemelen hem yardımcı T hücrelerini hem de FoxP3 boyanmasa da düzenleyici T hücrelerini içeriyordu. CD163 ile boyanan makrofajların ise daha çok tümör stromasında ve septalarda kümeler veya dağınık hücreler halinde bulunduğu saptandı. Tüm bu hücrelerin sayısal yoğunlukları, olgudan olguya değişim göstermekle birlikte, herhangi bir seminoma dokusunda tamamen immün hücreden fakir bir görünüm izlenmedi; her vakada az ya da çok bir lenfomononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bu durum, Siska ve diğ.’nin (2017) belirttiği “hemen her testis tümörü örneğinde belli ölçüde T-hücre infiltrasyonu ve kontrol noktası molekül ekspresyonu bulunması” bulgusuyla paralellik göstermektedir (Siska ve diğ. 2017).

Seminoma olgularımızda immün hücre dağılımının tümör evresiyle ilişkisi önemli bir bulgu olarak öne çıkmıştır. Elde edilen verilere göre, CD4+ T lenfosit düzeyi ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). Özellikle T2 evresindeki tümörlerde CD4+ hücre yoğunluğu, T1 evresine kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, tümör progresyonuyla birlikte immün sistemin tümör mikroçevresine daha güçlü bir yanıt geliştirebileceğini düşündürmektedir. Bu durum, ileri evre seminomaların immünolojik olarak daha aktif veya inflamatuvar bir mikroortam oluşturabildiğine işaret edebilir. Literatürde, seminoma alt tiplerinin immün mikroçevre özelliklerinin farklılık gösterebileceği belirtilmiştir. Örneğin, bir çalışmada, seminoma dokularının yüksek düzeyde CD4+ ve CD8+ T lenfosit infiltrasyonuna sahip olduğu, ancak bu infiltrasyonun tümör alt tiplerine göre değişiklik gösterebileceği rapor edilmiştir (Savelyeva ve Medvedev 2023). Bu durum, ileri evre seminomaların immünolojik olarak daha aktif bir mikroçevre oluşturabileceğini ve bu bağlamda CD4+ T hücre infiltrasyonunun artabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Kalavska ve diğ. (2020), ileri evre testiküler tümörlerde immün hücre infiltrasyonunun arttığını ve bunun tümörle mücadelede önemli bir parametre olduğunu ifade etmişlerdir. Bu bağlamda, çalışmamızdaki CD4+ hücre artışı bulgusu, literatürdeki ileri evre seminomalarda proinflamatuvar yanıtın belirginleştiğini gösteren verilerle örtüşmektedir. Lobo ve diğ. (2019), testiküler germ hücreli tümörlerde (TGCT) immün hücre infiltrasyonunun tümör tipi ve evresine göre anlamlı farklılıklar gösterebileceğini belirtmiş, özellikle seminomalarda CD3+ T hücrelerinin baskın olduğunu vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda CD3+ için benzer bir sonuca ulaşmamız olasıdır çünkü CD4+ ve CD8+ alt gruplarının birlikte artıp azalması, toplam CD3+ yoğunluğunu belirleyebilir. Bunun birlikte Parker ve diğ. (2002) erken evre testis tümörlerinde yaptıkları klasik çalışmada, primer tümördeki yoğun lenfosit infiltrasyonunun hastalık nüks riskini düşürdüğü gösterilmiştir. Onların evre I seminomaya odaklanan serisinde, TIL (tümör infiltran lenfosit) sayısı yüksek olan olgularda relaps riski düşük bulunmuş; buna karşın, TIL seviyesi düşük olan olguların lenf nodu metastazı veya uzak nüks geliştirme riski anlamlı düzeyde artmıştı. Ancak bizim çalışmamızda, CD4+ T hücre infiltrasyonu evre II tümörlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, tümör mikroçevresinin evre ilerledikçe bağışıklık sistemini

baskılamaktan çok, belirli bağışık hücreleri özellikle CD4+ T hücrelerini çekmeye devam ettiğini ya da bağışık sistemin daha aktif hale geldiğini düşündürmektedir. Ayrıca, tümör mikroçevresinin dinamik bir yapı olduğunu ve bağışıklık sisteminin her zaman tümör baskılayıcı değil, bazen tümörle birlikte evrilerek onun progresyonuna yanıt veren bir nitelik taşıyabileceğini göstermektedir. Evre II'deki artmış CD4+ varlığı, ya tümörün bağışıklık sistemini aktive eden moleküler özellikler taşımasından ya da vücudun, yayılmakta olan tümöre karşı daha güçlü bir sistemik immün yanıt oluşturmaktan kaynaklanıyor olabilir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, immün hücrelerin sadece koruyucu değil, aynı zamanda tümörle simbiyotik bir etkileşime girebileceğini de öne sürmektedir (Kalavska ve diğ. 2020). Bu bağlamda, evre II seminomaların daha yüksek CD4+ infiltrasyonu göstermesi, tümör ve immün sistem arasındaki kompleks ilişkinin bir yansıması olabilir.

CD8+ sitotoksik T hücrelerinin evrelere göre dağılımında da anlamlılığa ulaşmasa da dikkat çekici bir eğilim gözlemlenmiştir. Bulgularımıza göre, evre II seminomalarında CD8+ hücre yoğunluğu, evre I'e kıyasla daha yüksektir, ancak bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, örneklem büyüklüğünün sınırlılığı ve bireyler arası biyolojik varyasyonla açıklanabilir. Yine de biyolojik açıdan değerlendirildiğinde, ileri evre seminomaların immün mikroçevresinde CD8+ T hücrelerinin artmış olması, tümörle bağışıklık sistemi arasında daha yoğun bir etkileşime veya inflamatuvar bir ortama işaret edebilir. Bu bulgu, immün sistemin sadece erken evrelerde değil, bazı ileri evre tümörlerde de aktif olabileceğini düşündüren yeni literatürle uyumludur. Özellikle Kalavska ve diğ. (2020) testiküler germ hücreli tümörlerde immün profillemeye üzerine yaptığı çalışmada, bazı ileri evre olgularda T hücre infiltrasyonunun devam ettiği, ancak bu hücrelerin fenotipik olarak değişime uğrayabileceği vurgulanmıştır. Yani, CD8+ hücrelerin varlığı sürse bile, bu hücrelerin sitotoksik fonksiyonları baskılanmış veya tükenmiş (exhausted) bir profile kaymış olabilir. Ayrıca, CD4+ hücrelerin evre II'de yüksek bulunmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, bu hücrelerin önemli bir kısmının immünosupresif düzenleyici T hücreler (Treg) olabileceği düşünülmektedir. Ancak çalışmamızda Treg hücrelerini doğrudan gösteren FoxP3 gibi belirteçlerle boyama yapılmamıştır. Yine de Klein ve diğ. (2016) tarafından bildirildiği gibi seminoma dokularında TGF- β 1 ekspresyonunun arttığı göz önünde bulundurulursa, bu sitokin

aracılığıyla CD4+ hücrelerin Treg fenotipine yönelmesi mümkündür. Böylece, evre II tümörlerde artmış CD4+ ve CD8+ hücre yoğunluğu, bağışıklık sisteminin tümör mikroçevresine verdiği daha kapsamlı ancak karmaşık bir yanıtı yansıtır olabilir.

CD163+ makrofajlar (tümörle ilişkili makrofajlar – TAM) açısından yaptığımız değerlendirmede, evre I ve evre II seminoma olguları arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Hücre yoğunlukları sayısal olarak benzer bulunmuş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, CD163+ TAM infiltrasyonunun tümör evresi ile doğrudan bir korelasyon göstermediğine işaret etmektedir. Literatürde bazı çalışmalar ileri evre tümörlerde makrofaj imza genlerinin arttığını bildirir de (Siska ve diğ. 2017), bu artışın protein düzeyine ve özellikle CD163+ hücre yoğunluğuna nasıl yansıdığı halen netlik kazanmamıştır. Dolayısıyla çalışmamızdaki bu bulgu, CD163+ hücrelerin tümör progresyonu sırasında her zaman belirgin bir artış göstermeyebileceğini ortaya koymaktadır.

Bununla birlikte, CD163+ hücrelerin varlığı makrofajların varlığını gösterse de bu hücrelerin fonksiyonel fenotipi hakkında tek başına yeterli bilgi sunmamaktadır. CD163 genel olarak M2 tipi, yani immünsüpresif ve tümör destekleyici özellikteki makrofajlarla ilişkilendirilir. Ancak bu fenotipin doğrulanabilmesi için IL-10, TGF- β , ARG1 gibi sekresyonel profillerin ya da FoxP3+ Treg hücrelerle korelasyonunun da değerlendirilmesi gerekir. Qian ve Pollard'ın (2010) deneysel tümör modellerinde gösterildiği üzere, M2 polarize TAM'lar immün yanıtı baskılayarak tümör hücrelerinin invazyonunu, anjiyogenezi ve metastatik kapasitesini artırabilmektedir. Bizim çalışmamızda CD163+ hücre sayısında evreye bağlı anlamlı bir fark saptanmamış olması, bu tür bir fonksiyonel değişikliğin tümör evresiyle değil, belki de diğer mikroçevresel faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Lobo ve diğ. (2019) testiküler germ hücreli tümörlerde PD-L1 pozitif immün hücrelerin varlığına dair çalışmaları, mikroçevredeki bağışık hücrelerin fonksiyonel özelliklerinin hasta prognozu üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada metastatik olgularda PD-L1 pozitif immün hücre varlığının %100 oranında tespit edilmesi, bağışık hücrelerin sayısından çok fenotiplerinin önemli olduğuna işaret etmektedir. Bizim çalışmamızda CD163+ hücrelerin evreye göre belirgin farklılık göstermemesi de bu bağışık hücrelerin yalnızca nicel değil, nitel analizlerinin de

yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Gelecek çalışmalarda, seminomalarda TAM'ların M1/M2 alt tip ayrımı, PD-L1 ekspresyon düzeyi ve ilişkili immünsüpresif ortamın moleküler karakterizasyonu, tümör-immün sistem etkileşiminin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda, primer tümörde saptanan lenfovasküler invazyon (LVI) bulgusunun immün hücre dağılımıyla olası ilişkisi de incelenmiştir. LVI, seminoma da dahil olmak üzere birçok solid tümörde prognostik bir belirteç olarak kabul edilmekte ve özellikle evre I hastalarda aktif izlem kararı verilirken önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (Gilligan ve diğ. 2025). Nitekim Parker ve diğ. (2002), LVI varlığını relaps açısından yüksek riskli bir özellik olarak tanımlamışlardır.

Bulgularımıza göre, LVI pozitif seminomalarda CD4+, CD8+ ve CD163+ immün hücre yoğunlukları, LVI negatif olgulara kıyasla sayısal olarak daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu artışların hiçbiri istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, LVI ile immün hücre infiltrasyonu arasında potansiyel bir biyolojik bağlantı olabileceğini düşündürmekle birlikte, çalışmamızın sınırlı örneklem büyüklüğü nedeniyle bu farkın anlamlılık kazanmadığı değerlendirilmiştir. Özellikle LVI pozitif olguların çoğunun ileri evrede yer alması, evre ile LVI arasındaki bilinen korelasyonu bir kez daha desteklemektedir.

Literatürde bu eğilimi dolaylı biçimde destekleyen bulgular da mevcuttur. Örneğin, Chovanec ve diğ. (2018) çalışmasında CTLA-4 ekspresyonunun yüksek olduğu tümörlerde LVI sıklığının düşük, buna karşılık immün baskının daha yoğun olduğu tümörlerde LVI'nın daha fazla olduğu gösterilmiştir. CTLA-4, genellikle Treg hücrelerinde ifade edilen bir moleküldür ve bu bulgu, immün denetimin etkin olduğu mikroçevrelerde invazyonun daha az gerçekleştiğini düşündürmektedir. Ayrıca, Kalavska ve diğ. (2020), PD-L1 ekspresyonunun düşük olduğu primer tümörlerde, daha fazla metastaz ve kötü prognostik özellikler görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Bu doğrultuda, çalışmamızda LVI pozitif odaklarda CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin yanı sıra CD163+ makrofajların da daha yüksek sayıda gözlenmesi, immün sistemin tümörle daha fazla temas halinde olduğu veya tümörün immün mikroçevreyi belirli yönlerde şekillendirdiği ihtimalini gündeme getirmektedir. Fakat

bu hücrelerin yüksekliği, koruyucu bir yanıtı mı yoksa tümör destekleyici bir immün baskıya mı işaret ettiği, yalnızca nicel değil, fenotipik analizlerle değerlendirildiğinde anlaşılabilir. Sonuç olarak, LVI pozitif seminomaların immün mikroçevresinde hücre yoğunluğu artmış olsa da bu farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması, örneklem kısıtıyla birlikte hücrelerin işlevsel çeşitliliğini de göz önünde bulundurmanız gerektiğini göstermektedir. İleride yapılacak daha geniş hasta serilerinde, LVI ile immün hücre profili arasındaki ilişki, özellikle efektör T hücreler ve TAM alt tipleri açısından daha net ortaya konabilir.

Bulguların Biyolojik Anlamı ve Literatürle Tutarlılığı

Çalışmamızın bulguları, testiküler seminoma mikroçevresinin güçlü bir antitümör immün yanıtla karakterize olduğunu ve bu bağışık yapının tümör progresyonu süresince değişime uğradığını göstermektedir. Özellikle evre II seminomaların CD4+, CD8+ ve CD163+ hücre yoğunluklarının evre I'e göre daha yüksek olması, mikroçevresel yanıtın evreyle birlikte arttığına işaret etmektedir. Bu artış CD4+ hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), CD8+ ve CD163+ hücrelerde istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, tümör ilerledikçe bağışıklık sisteminin aktivasyonunun sürdüğünü ya da tümörün bağışıklık sistemini yönlendirme kapasitesinin arttığını düşündürmektedir.

Lenfovasküler invazyon (LVI) açısından yapılan analizlerde de benzer bir eğilim dikkat çekmiştir. CD4+, CD8+ ve CD163+ hücrelerin tümü, LVI pozitif olgularda sayıca daha yüksek bulunmuş, ancak bu farklar da istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu durum, LVI ile immün infiltrasyon arasında biyolojik bir bağ olabileceğine işaret etse de mevcut hasta sayısının sınırlılığı nedeniyle anlamlılığa ulaşamamış olabilir. Literatürde LVI'nın genellikle daha agresif tümör davranışıyla ilişkili olduğu bilinmekle birlikte (Gilligan ve diğ. 2025), immün hücre infiltrasyonu bu agresif davranışı baskılamak veya dengelemek adına aktif bir rol oynuyor olabilir.

CD4+, CD8+ ve CD163+ hücrelerin yaş, tümör boyutu, B-HCG, LDH ve AFP gibi klinik parametrelerle olan ilişkisi incelendiğinde, bu değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ancak, B-HCG ile

LDH düzeyleri arasında anlamlı ve orta düzeyde pozitif bir korelasyon saptanmıştır ($p<0,01$, $r=0,667$). Bu bulgu, tümör yükünün artışıyla birlikte her iki serum belirtecinin paralel olarak yükseldiğini ve biyolojik progresyonun belirteci olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca CD4+ ve CD8+ hücre yoğunlukları arasında da anlamlı ve orta düzeyde pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$, $r=0,452$), bu da bu iki T hücre alt grubunun birlikte regüle edildiğini ve aynı bağışık yanıt ortamında ko-aktivasyon gösterdiğini düşündürmektedir.

Tüm bu veriler, sayıca anlamlı olmayan eğilimlerin dahi biyolojik olarak değerli olabileceğini ortaya koymaktadır. Örneğin, CD8+ ve CD163+ hücrelerin ileri evrede ve LVI pozitif olgularda artış göstermesi, literatürde tümörle ilişkili makrofajların (TAM) ve tükenmiş T hücrelerin tümör progresyonunu desteklediği bilgileriyle tutarlılık göstermektedir (Qian ve Pollard 2010; Kalavaska ve diğ. 2020). İmmün yanıtın yalnızca hücre sayısı ile değil, aynı zamanda fonksiyonel aktivitesi ile değerlendirilmesi gerektiği hatırlanmalıdır. Hadrup ve diğ. (2006), seminoma TIL'lerinin granzyme B ekspresyonu ve klonal genişleme gibi parametrelerle aktif yanıt verdiğini göstermiştir. Diğer taraftan, Hvarness ve diğ. (2013) bazı seminoma dokularında immün infiltrasyonun infertil testis dokusuyla benzerlik gösterdiğini savunarak, bu yanıtın heterojenliğine dikkat çekmiştir. Bu çelişkiler, mikroçevresel bağışıklığın sadece varlığı değil, niteliksel durumu (örneğin PD-1/PD-L1 etkileşimi, Treg baskınlığı, makrofaj polarizasyonu) ile değerlendirildiğinde daha anlamlı sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmayan sonuçlar dahi, doğru bağlamda değerlendirildiğinde önemli biyolojik ipuçları taşımaktadır. Bu nedenle ileriye dönük çalışmalarda, CD4/CD8 oranı, TAM alt tipleri (M1/M2), PD-L1 ekspresyonu, Treg analizi gibi ileri düzey immün karakterizasyon tekniklerinin kullanılması, seminoma mikroçevresinin immünolojik dinamiklerini daha doğru şekilde ortaya koyacaktır.

Mikroçevre Kuramsal Çerçevesinde Tez Bulgularının Eleştirel Değerlendirilmesi

Testiküler seminoma tümör mikroçevresi, yoğun immün hücre infiltrasyonu ile karakterize olup, özellikle CD3⁺ T lenfositlerinin baskınlığı dikkat çekmektedir (Islam ve diğ. 2024). Bu durum, seminomanın diğer germ hücreli tümör alt tiplerinden ayrılan belirgin bir immün niş geliştirdiğini düşündürmektedir. CD4⁺ yardımcı T hücrelerinin, CD8⁺ sitotoksik T hücrelerine oranla daha yüksek yoğunlukta bulunması (Sadigh ve diğ. 2019), immün yanıtın karmaşık bir şekilde modüle edildiğini göstermektedir. Ayrıca, Treg ve Tfh gibi düzenleyici ve yardımcı CD4⁺ alt tiplerinin varlığı, sekonder lenfoid yapıların tümör içinde oluşabileceğini düşündürmektedir (Gutiérrez-Melo ve Baumjohann 2023; Zhao ve diğ. 2024).

Seminoma mikroçevresinde yalnızca T hücreleri değil, aynı zamanda makrofajlar da önemli bir yer tutar. Özellikle PD-L1 pozitif M2-benzeri TAM'ların yoğunluğu, immün supresif ortamın en önemli göstergelerinden biridir (Sadigh ve diğ. 2019). PD-L1'in özellikle TAM'larda görülmesi, tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden dolayı yollarla kaçtığını ortaya koymaktadır. Bu durum, tümörün PD-1/PD-L1 eksenini T hücrelerini pasifleştirmek amacıyla kullandığını göstermektedir (Kalemoglu ve diğ. 2025). Bu bağlamda, aktif CD8⁺ T hücrelerinin metastaz yapmamış seminomalarda daha yoğun bulunması da, immün sistemin tümör yayılımını baskılamadaki rolünü desteklemektedir (Xiang ve diğ. 2025).

Moleküler düzeyde, SPTBN4 ekspresyonu yüksek seminomaların zayıf antijen sunumu ve artmış nötrofil ekstraselüler tuzak (NET) aktivitesi ile karakterize olması, "immün soğuk" fenotipin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Xiang ve diğ. 2025). Bu immünosüpresif mikroçevre, hastalığın daha kötü klinik seyir göstermesine ve immünoterapilere karşı daha dirençli hale gelmesine yol açmaktadır. Nitekim, testisin immünolojik olarak ayrıcalıklı bir organ olması (ör. kan-testis bariyeri), seminomanın bağışıklık sisteminden kaçışında doğal bir avantaj sağlamaktadır (Kalavaska ve diğ. 2020).

Tedavi açısından bakıldığında, seminoma genellikle platin bazlı kemoterapiye iyi yanıt verirken, immünoterapiler henüz istenilen düzeyde etkinlik gösterememiştir (Schepisi ve diğ. 2023). Bunun temel nedeni, mikroçevredeki baskılayıcı hücre

tiplerinin (Treg, PD-L1⁺ TAM'lar) immün yanıtı sınırlandırmasıdır. Ancak, DNA hipometilasyonu gibi epigenetik değişimlerin tip I interferon yanıtını artırdığı ve böylece tümörün daha immünojenik hale geldiği gösterilmiştir (Qin ve diğ. 2024). Bu nedenle epigenetik modülatörlerin kontrol noktası inhibitörleriyle birlikte kullanılması, “soğuk” mikroçevreyi “sıcak” hale getirme potansiyeline sahiptir (Kalemoglu ve diğ. 2025).

Gelecekteki tedavilerde, CAR-T hücreleri (özellikle CLDN6 hedefli) ve mRNA aşı kombinasyonları, dirençli seminoma olgularında umut vadeden stratejiler arasında yer almaktadır (Schepisi ve diğ. 2023). Benzer şekilde, CD30 hedefli antikor-ilaç konjugatları veya PD-1'in yanı sıra TIM-3 ve LAG-3 gibi kontrol noktalarını bloke eden kombinasyon yaklaşımları da araştırılmaktadır. Bu terapilerin başarısı, tümör mikroçevresinin immünolojik profiline duyarlıdır. Son olarak, dijital patoloji ve yapay zekâ destekli TIL analizi, kişiselleştirilmiş immünoterapi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak tanımaktadır (Martínez Vidal ve diğ. 2024).

Testiküler Seminoma Mikroçevresinde Yapay Zeka Tabanlı Tespit Yöntemlerinin Kullanımı

Bu çalışma kapsamında, CD8 immünboyası ile hazırlanmış histopatolojik görüntülerde pozitif hücrelerin nesne tespiti için YOLOv11 tabanlı bir derin öğrenme modeli kullanılmış ve modelin performansı Roboflow çevrimiçi platformu üzerinde değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, önerilen yaklaşımın yüksek doğruluk ve tutarlılıkla çalıştığını göstermektedir.

Modelin eğitim süreci boyunca izlenen kayıp fonksiyonları, düzenli bir azalma eğilimi göstermiş ve özellikle ilk 100 epoch içinde istikrarlı bir öğrenme süreci elde edilmiştir. Doğrulama setinde de benzer eğilimlerin gözlemlenmesi, modelin overfitting eğiliminden uzak olduğunu ve genel geçer öğrenme gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur. Eğitim sonunda mAP@50 değerinin %94,0, Precision'ın %88,7 ve Recall'un %87,9 olarak hesaplanması, modelin hem yüksek doğrulukla hem de güçlü bir kapsayıcılıkla CD8 pozitif hücreleri tespit edebildiğini göstermektedir.

Test seti üzerinde yapılan analizlerde mAP@50'nin %92 olarak hesaplanması, modelin eğitim dışında kalan veriler üzerinde de genelleme yeteneğine sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Örnek görüntülerde yapılan karşılaştırmalarda, modelin büyük oranda doğru tespitlerde bulunduğu; ancak zayıf boyanmış veya morfolojik olarak belirsiz bölgelerde zaman zaman eksik (FN) ya da fazla (FP) tahminlerde bulunduğu görülmüştür. Bu durum, modelin başarı düzeyinin yüksek olmakla birlikte, sınırlı kontrast ve düşük kaliteye sahip verilerde dikkatli yorum gerektirebileceğini göstermektedir.

Karışıklık matrisi verilerine göre, modelin 3.310 etiketin 2.851'ini doğru şekilde tespit ettiği, 459 adet pozitif hücreyi ise atladığı (FN) ve 285 adet yanlış pozitif (FP) tahminde bulunduğu belirlenmiştir. Bu dağılım, recall değerinin precision'a göre daha sınırlı kaldığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, uygulamada kullanılacak modellerin zayıf boyalı veya sınırda kalan hücreler için ek artırma veya filtreleme yöntemleriyle desteklenmesi önerilebilir.

Benzer çalışmalarda kullanılan YOLOv5 ve YOLOv8 gibi modellerle kıyaslandığında, YOLOv11'in daha karmaşık doku yapılarında daha doğru konumlandırmalar yapabildiği, ancak sınırlı örnek sayısı ile eğitildiğinde nadir varyasyonları kaçırabildiği bilinmektedir. Bu çalışmada modelin %70-%20-%10 veri bölünmesiyle eğitilmesi, genelleme başarısını artırmış, ancak veri çeşitliliğinin artırılmasıyla daha da güçlü sonuçlar elde edilebileceği değerlendirilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, testiküler seminoma hastalarında tümör mikroçevresindeki immün infiltrasyonun incelenmesi, bize tümörün biyolojisi ve hasta prognozu hakkında değerli bilgiler sunmaktadır. Tez çalışmamız kapsamında, CD4+, CD8+ T lenfositler ve CD163+ makrofajların dağılımı ile klinik parametreler arasındaki ilişkileri detaylı bir şekilde tartıştık. Her ne kadar bazı bulgularımız istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olsa da hepsi literatürde tanımlanmış biyolojik konseptlerle uyumlu bir resmin parçalarıdır. Seminoma, immün sistem ile adeta “diyalog” halinde bir tümördür; bu diyalog erken dönemde çatışma şeklinde iken, ileri dönemde uzlaşma şeklini alır. Bu bilgileri kullanarak, daha iyi risk sınıflandırmaları, yeni tedavi stratejileri ve derinlemesine biyolojik araştırmalar planlanabilir. Son tahlilde, amaç, immunojenik tümörler olan germ hücreli kanserlerde hastaların mevcut yüksek kür oranlarını daha da yükseltmek ve tedavinin toksisitelerini azaltmaktır. İmmün mikroçevrenin anlaşılması, bu amaca ulaşmada anahtar rol oynayacaktır.

Bu tez kapsamında elde edilen verilerin bir diğer dikkat çekici yönü, immün infiltrasyon analizinin ileri düzey yapay zekâ destekli görüntü işleme yöntemleriyle desteklenmiş olmasıdır. CD8 ile immünboyanmış histopatolojik görüntülerde, CD8+ hücrelerin otomatik olarak tespit edilmesine yönelik geliştirilen YOLOv11 tabanlı derin öğrenme modeli, Roboflow platformunda eğitilerek yüksek başarıyla test edilmiştir. Model; %94 mAP@50 doğruluk, %88,7 kesinlik (precision) ve %87,9 duyarlılık (recall) ile değerlendirildiğinde, patoloji pratiğinde kullanılabilecek seviyede güvenilirlik göstermektedir. Özellikle yoğun boyanmış CD8+ hücreleri doğru şekilde tanıyabilen modelin, düşük boyanma veya yapısal düzensizlik içeren durumlarda ise performansı sınırlı kalmıştır. Bu durum, daha çeşitli ve geniş veri setleriyle yapılacak eğitimlerin önemini ortaya koymakta, gelecekte bu modellerin çoklu immün boyama ve segmentasyon yaklaşımlarıyla birleştirilerek daha fonksiyonel hale getirilebileceğine işaret etmektedir.

Bu bulgular ışığında önerilerimiz şunlardır:

➤ **İmmün Mikroçevreye Yönelik Geniş Kapsamlı Profillemeye Çalışmaları**

- İmmün hücrelerin sadece sayısal değil, aynı zamanda fonksiyonel ve fenotipik özelliklerinin de değerlendirilmesi (örn. Treg, tükenmiş T hücresi, M1/M2 makrofaj ayrımı) gerekmektedir.
- Çoklu immün boyama (multiplex IHK), akım sitometrisi ve RNA-sekans gibi ileri teknikler ile immün mikroçevrenin daha bütüncül şekilde analiz edilmesi önerilmektedir.

➤ **Sitokin Profili ve Bağışıklık Kaçış Mekanizmalarının Araştırılması**

- Seminomaların farklı evrelerinde Th1 ve Th2 yanıtlarını yansıtan sitokin profilleri (örn. IL-2, IFN- γ , IL-10, TGF- β) incelenerek immün yanıtın yönelimi hakkında daha fazla bilgi edinilmelidir.
- PD-1/PD-L1, CTLA-4 ve benzeri immün kontrol noktası moleküllerinin ekspresyon düzeyleri araştırılarak potansiyel immünoterapi hedefleri belirlenebilir.

➤ **Yapay Zekâ Destekli Dijital Patoloji Yaklaşımlarının Geliştirilmesi**

- Farklı immün belirteçleri aynı anda analiz edebilen çok sınıflı yapay zekâ modelleri oluşturulmalı; segmentasyon tabanlı çözümlerle hücre morfolojisi ve lokalizasyon bilgisi entegre edilmelidir.
- Model validasyonu için çok merkezli, heterojen ve geniş örneklem grupları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

➤ **Klinik Uygulamalar ve Risk Sınıflandırması Açısından**

- İmmün infiltrasyon profili, prognoz tahmini ve tedaviye yanıt öngörüsü açısından risk sınıflandırma modellerine entegre edilmelidir.
- Özellikle yüksek CD4+ T hücre infiltrasyonu gösteren erken evre hastalar, aktif bağışıklık yanıtı nedeniyle daha iyi prognoza sahip olabilir; bu durum tedavi planlamasında göz önünde bulundurulmalıdır.

➤ **Gelecekteki Araştırmalar İçin Temel Altyapı**

- Bu tez çalışması hem geleneksel histopatolojik yöntemlerle hem de dijital analizlerle elde edilen verilerin birlikte kullanılmasının mümkün olduğunu göstermektedir. Bu yaklaşım, gelecekte patoloji ve onkoloji alanında çok disiplinli, veri odaklı yeni projelerin temelini oluşturabilir.



KAYNAKLAR

- Abdelhamid, M. H. M., Walschaerts, M., Ahmad, G., Miousset, R., Bujan, L., Hamdi, S. 2019. Mild experimental increase in testis and epididymis temperature in men: effects on sperm morphology according to spermatogenesis stages. *Translational andrology and urology*, 8(6), 651–665. [<https://doi.org/10.21037/tau.2019.11.18>]
- Albers, P., Albers, P., Classen, J., Laguna, M. P., Bokemeyer, C., Horwich, A. 2025. EAU Guidelines on Testicular Cancer. *Clinical practice guideline*. ISBN 978-94-92671-29-5. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands.
- Alexiev, B. A., Roden, A. C., Burke, A. P. 2016. Seminoma. In Practical Thoracic Pathology: Diseases of the Lung, Heart & Thymus. *Thoracic Key*. [<https://thoracickey.com/seminoma/>]
- American Cancer Society. 2023. Testicular cancer. [<https://www.cancer.org/cancer/testicular-cancer.html>]
- Anderson, N. M. ve Simon, M. C. 2020. The tumor microenvironment. *Current Biology*, 30(16), R905–R931. [<https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081>]
- Aubry, F., Satie, A. P., Rioux-Leclercq, N., Rajpert-De Meyts, E., Spagnoli, G. C., Chomez, P., De Backer, O., Jégou, B., Samson, M. 2001. MAGE-A4, a germ cell specific marker, is expressed differentially in testicular tumors. *Cancer*, 92(11), 2778–2785. [[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20011201\)92:11<2778::aid-cnrc10125>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20011201)92:11<2778::aid-cnrc10125>3.0.co;2-s)]
- Baghban, R., Roshangar, L., Jahanban-Esfahlan, R., Seidi, K., Ebrahimi-Kalan, A., Jaymand, M., Kolahian, S., Javaheri, T., Zare, P. 2020. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell Communication and Signaling*, 18, 59. [<https://doi.org/10.1186/s12964-020-0530-4>]
- Bhushan, S., Theas, M.S., Guazzone, V.A., Jacobo, P., Wang, M., Fijak, M., Meinhardt, A., Lustig, L. 2020. Immune Cell Subtypes and Their Function in the Testis. *Front. Immunol.* 11:583304. doi: 10.3389/fimmu.2020.583304
- Cameron, D. F. ve Hudson, J. C. 2014. Testicular function. In Reference Module in Biomedical Sciences. *Elsevier*. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00266-X>]
- Cao, X., Kang, Y., Tai, P., Zhang, P., Lin, X., Xu, F., Nie, Z., He, B. 2025. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 49(1), 102510. [<https://doi.org/10.1016/j.clinre.2024.102510>]
- Cheah, C. Y., Wirth, A., Seymour, J. F. 2014. Primary testicular lymphoma. *Blood*, 123(4), 486–493. [<https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-530659>]
- Cheng, L., Albers, P., Berney, D. M., Feldman, D. R., Daugaard, G., Gilligan, T., Looijenga, L. H. J. 2018. Testicular cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, Article 29. [<https://doi.org/10.1038/s41572-018-0029-0>]
- Chovanec, M., Albany, C., Mego, M., Montironi, R., Cimadamore, A., Cheng, L. 2018. Emerging prognostic biomarkers in testicular germ cell tumors: Looking beyond established practice. *Frontiers in Oncology*, 8, 571. [<https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00571>]

- Colling, R., Protheroe, A., Sullivan, M., Macpherson, R., Tuthill, M., Redgwell, J., Traill, Z., Molyneux, A., Johnson, E., Abdullah, N., Taibi, A., Mercer, N., Haynes, H. R., Sackville, A., Craft, J., Reis, J., Rees, G., Soares, M., Roberts, I. S. D., Siiankoski, D., ... Verrill, C. 2021. Digital Pathology Transformation in a Supraregional Germ Cell Tumour Network. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(12), 2191. [<https://doi.org/10.3390/diagnostics11122191>]
- Çakmak, M.H., Moralioglu, S., Celayir, A. 2023. Prepubertal Testicular Tumors in Children: Single Center 17 Years Experience. *The Journal of Pediatric Research*, 10(2), 107-112. doi:10.4274/jpr.galenos.2023.40360.
- Danaher, P., Warren, S., Lu, R., Samayoa, J., Sullivan, A., Pekker, I., Wallden, B., Marincola, F. M., Cesano, A. 2018. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): Results from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 6, 63. [<https://doi.org/10.1186/s40425-018-0367-1>]
- David, J., Chumbalkar, V., Chadha, J. 2023. An insight into metastatic Leydig cell tumors: A case report. *SAGE open medical case reports*, 11, 2050313X231184180. [<https://doi.org/10.1177/2050313X231184180>]
- Davidsson, S., Fiorentino, M., Giunchi, F., Eriksson, M., Erlandsson, A., Sundqvist, P., Carlsson, J. 2020. Infiltration of M2 Macrophages and Regulatory T Cells Plays a Role in Recurrence of Renal Cell Carcinoma. *European urology open science*, 20, 62–71. [<https://doi.org/10.1016/j.euros.2020.06.003>]
- Dimitriadis, F., Tsiampali, C., Chaliasos, N., Tsounapi, P., Takenaka, A., Sofikitis, N. 2015. The Sertoli cell as the orchestra conductor of spermatogenesis: spermatogenic cells dance to the tune of testosterone. *Hormones (Athens, Greece)*, 14(4), 479–503. [<https://doi.org/10.14310/horm.2002.1633>]
- Dorantes-Heredia, R., Motola-Kuba, D., Murphy-Sanchez, C., Izquierdo-Tolosa, C. D., Ruiz-Morales, J. M. 2019. Spontaneous regression as a 'burned-out' non-seminomatous testicular germ cell tumor: a case report and literature review. *Journal of surgical case reports*, 2019(1), rjy358. [<https://doi.org/10.1093/jscr/rjy358>]
- Downes, M. 2023. Seminoma. PathologyOutlines.com web sitesi. [<https://www.pathologyoutlines.com/topic/testisseminomas.html>.] Erişim tarihi 13 Mayıs 2025.
- Emerson, R. E. ve Ulbright, T. M. 2007). Morphological approach to tumours of the testis and paratestis. *Journal of clinical pathology*, 60(8), 866–880. [<https://doi.org/10.1136/jcp.2005.036475>]
- Ekinci, S. 2024. Non-seminomatöz testis kanserinde CONUT (Controlling Nutritional Status) skorunun prognostik değeri (Tıpta uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gaziosmanpaşa Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Üroloji Kliniği). İstanbul. 50 s.
- Elkoshi, Z. 2022. On the prognostic power of tumor-infiltrating lymphocytes – A critical commentary. *Frontiers in Immunology*, 13, 892543. [<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.892543>]
- Fankhauser, C. D., Curioni-Fontecedro, A., Allmann, V., Beyer, J., Tischler, V., Sulser, T., Moch, H., Bode, P. K. 2015. Frequent PD-L1 expression in testicular germ cell tumors. *British Journal of Cancer*, 113, 411–413. [<https://doi.org/10.1038/bjc.2015.244>]

- Fatima, G., Alhmadi, H., Ali Mahdi, A., Hadi, N., Fedacko, J., Magomedova, A., Parvez, S., Mehdi Raza, A. 2024. Transforming Diagnostics: A Comprehensive Review of Advances in Digital Pathology. *Cureus*, 16(10), e71890. [<https://doi.org/10.7759/cureus.71890>]
- Fichtner, A., Nettersheim, D. and Bremmer, F. 2024, Pathogenesis and pathobiology of testicular germ cell tumours: a view from a developmental biological perspective with guidelines for pathological diagnostics. *Histopathology*, 85: 701-715. [<https://doi.org/10.1111/his.15249>]
- Fietz, D. ve Bergmann, M. 2017. Functional Anatomy and Histology of the Testis. In: Simoni, M., Huhtaniemi, I. (eds) *Endocrinology of the Testis and Male Reproduction*. Endocrinology. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-29456-8_9-1]
- Fijak, M. ve Meinhardt, A. 2006. The testis in immune privilege. *Immunological Reviews*, 213(1), 66–81. [<https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00438.x>]
- Fijak, M., Bhushan, S., Meinhardt, A. 2011. Immunoprivileged sites: the testis. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 677, 459–470. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-869-0_29]
- Filippini, A., Riccioli, A., Padula, F., Lauretti, P., D'Alessio, A., De Cesaris, P., Gandini, L., Lenzi, A., Ziparo, E. 2001. Immunology and immunopathology of the male genital tract: Control and impairment of immune privilege in the testis and in semen. *Human Reproduction Update*, 7(5), 444–449. [<https://doi.org/10.1093/humupd/7.5.444>]
- Fridman, W. H., Pagès, F., Sautès-Fridman, C., Galon, J. 2012. The immune contexture in human tumours: Impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*, 12(4), 298–306. [<https://doi.org/10.1038/nrc3245>]
- Galon, J., Costes, A., Sanchez-Cabo, F., Kirilovsky, A., Mlecnik, B., Lagorce-Pagès, C., Tosolini, M., Camus, M., Berger, A., Wind, P., Zinzindohoué, F., Bruneval, P., Cugnenc, P. H., Trajanoski, Z., Fridman, W. H., Pagès, F. 2006. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5795), 1960–1964. [<https://doi.org/10.1126/science.1129139>]
- Galon, J., Fox, B. A., Bifulco, C. B., Masucci, G., Rau, T., Botti, G., Marincola, F. M., Ciliberto, G., Pages, F., Ascierto, P. A., Capone, M. 2016. Immunoscore and immunoprofiling in cancer: An update from the melanoma and immunotherapy bridge 2015. *Journal of Translational Medicine*, 14, 273. [<https://doi.org/10.1186/s12967-016-1029-z>]
- Gao, G., Wang, Z., Qu, X., Zhang, Z. 2020. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with triple-negative breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC cancer*, 20(1), 179. [<https://doi.org/10.1186/s12885-020-6668-z>]
- Gayer, F. A., Fichtner, A., Legler, T. J., Reichardt, H. M. 2022. A Coculture Model Mimicking the Tumor Microenvironment Unveils Mutual Interactions between Immune Cell Subtypes and the Human Seminoma Cell Line TCam-2. *Cells*, 11(5), 885. [<https://doi.org/10.3390/cells11050885>]
- Gayer, F. A., Henkel, M., Luft, J., Reichardt, S. D., Fichtner, A., Legler, T. J., Reichardt, H. M. 2023. The Subtype Identity of Testicular Cancer Cells Determines Their Immunostimulatory Activity in a Coculture Model. *Cancers*, 15(9), 2619. [<https://doi.org/10.3390/cancers15092619>]

- Ghosh, A., Sirinukunwattana, K., Khalid Alham, N., Browning, L., Colling, R., Protheroe, A., Protheroe, E., Jones, S., Aberdeen, A., Rittscher, J., & Verrill, C. (2021). The Potential of Artificial Intelligence to Detect Lymphovascular Invasion in Testicular Cancer. *Cancers*, 13(6), 1325. <https://doi.org/10.3390/cancers13061325>
- Gutiérrez-Melo, N. ve Baumjohann, D. 2023. T follicular helper cells in cancer. *Trends in cancer*, 9(4), 309–325. [<https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.12.007>]
- Gilligan, T., Lin, D. W., Adra, N., Bagrodia, A., Feldman, D. R., Yamoah, K., Aggarwal, R., Chandrasekar, T., Costa, D., Drakaki, A., Eggener, S., Emamekhoo, H., Geynisman, D. M., Graham, L., Humphrey, P., Leuva, H., Levine, E. G., Luckenbaugh, A., Maughan, B. L., McGregor, B., Monk, P., Picus, J., Pierorazio, P., Rais-Bahrami, S., Reichert, Z., Rwigema, J., Saylor, P., Shah, A., Shah, S., Singla, N., Sircar, K., VanderWeele, D., Zhumkhawala, A., Montgomery, S., Sliker, B. 2025. NCCN Guidelines® Insights: Testicular Cancer, Version 2.2025: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 23(4), e250018. Retrieved May 18, 2025, from [<https://doi.org/10.6004/jnccn.2025.0018>]
- Guazzone, V. A., Jacobo, P., Theas, M. S., Lustig, L. 2009. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: A brief review. *Microscopy research and technique*, 72(8), 620–628. [<https://doi.org/10.1002/jemt.20704>]
- Gurung, P., Yetiskul, E., Jialal, I. 2023. Physiology, Male Reproductive System. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>]
- Hadrup, S. R., Braendstrup, O., Jacobsen, G. K., Mortensen, S., Pedersen, L. Ø., Seremet, T., Andersen, M. H., Becker, J. C., Straten, P. T. 2006. Tumor infiltrating lymphocytes in seminoma lesions comprise clonally expanded cytotoxic T cells. *International journal of cancer*, 119(4), 831–838. [<https://doi.org/10.1002/ijc.21894>]
- Hale, G. R., Teplitsky, S., Truong, H., Gold, S. A., Bloom, J. B., Agarwal, P. K. 2018. Lymph node imaging in testicular cancer. *Translational andrology and urology*, 7(5), 864–874. [<https://doi.org/10.21037/tau.2018.07.18>]
- Han, Q., Shi, H., Liu, F. 2016. CD163⁺ M2-type tumor-associated macrophage support the suppression of tumor-infiltrating T cells in osteosarcoma. *International Immunopharmacology*, 34, 101–106. [<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.01.023>]
- Hanahan, D. ve Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Händelin, J. M., Teppo, H.-R., Haapasaari, K.-M., Ollikainen, R. K., Kemppainen, J., Kuitunen, H., Kuittinen, O., Kuusisto, M. E. L. 2024. Chemokine profile is different in normal testis compared to seminoma – especially in tumor infiltrating lymphocytes. *Anticancer Research*, 44(11), 4961–4967. [<https://doi.org/10.21873/anticancer.17321>]
- Henley, J. D., & Ulbright, T. M. (2005). Seminoma: A review with emphasis on morphologic patterns and differential diagnosis. *Pathology Case Reviews*, 10(4), 167–175. <https://doi.org/10.1097/01.pcr.0000168822.61481.8f>
- Horbass, H., Bauer, M., Eckert, A., Bethmann, D., Wilfer, A., Seliger, B., Wickenhauser, C. 2025. Comparison of manual versus QuPath software–based immunohistochemical scoring using oral squamous cell carcinoma as a model. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 73(5-6):181-196. [<https://doi.org/10.1369/00221554251335698>]
- Hvarnæs, T., Nielsen, J. E., Almstrup, K., Skakkebaek, N. E., Rajpert-De Meyts, E., Claesson, M. H. 2013. Phenotypic characterisation of immune cell infiltrates in testicular germ

- cell neoplasia. *Journal of reproductive immunology*, 100(2), 135–145. [<https://doi.org/10.1016/j.jri.2013.10.005>]
- Iczkowski K. A. 2023. Germ cell neoplasms of the testis: Update for 2022. *Seminars in diagnostic pathology*, 40(1), 2–21. [<https://doi.org/10.1053/j.semdp.2022.07.001>]
- Islam, R., Heyer, J., Figura, M., Wang, X., Nie, X., Nathaniel, B., Indumathy, S., Hartmann, K., Pleuger, C., Fijak, M., Kliesch, S., Dittmar, F., Pilatz, A., Wagenlehner, F., Hedger, M., Loveland, B., Hotaling, J. H., Guo, J., Loveland, K. L., Schuppe, H.-C., Fietz, D. 2024. T cells in testicular germ cell tumors: New evidence of fundamental contributions by rare subsets. *British Journal of Cancer*, 130, 1893–1903. [<https://doi.org/10.1038/s41416-024-02669-9>]
- Ji, C., Wang, Y., Wang, Y., Luan, J., Yao, L., Wang, Y., Song, N. 2020. Immune-related genes play an important role in the prognosis of patients with testicular germ cell tumor. *Annals of translational medicine*, 8(14), 866. [<https://doi.org/10.21037/atm-20-654>]
- Jiang, X., Wang, J., Deng, X., Xiong, F., Ge, J., Xiang, B., Wu, X., Ma, J., Zhou, M., Li, X., Li, Y., Li, G., Xiong, W., Guo, C., Zeng, Z. 2019. Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape. *Molecular Cancer*, 18, 10. [<https://doi.org/10.1186/s12943-018-0928-4>]
- Jostes, S. V., Fellermeier, M., Arévalo, L., Merges, G. E., Kristiansen, G., Nettersheim, D., Schorle, H. 2020. Unique and redundant roles of SOX2 and SOX17 in regulating the germ cell tumor fate. *International journal of cancer*, 146(6), 1592–1605. [<https://doi.org/10.1002/ijc.32714>]
- Kabaalioglu, A. 2024. Testis Tümörlerinde Görüntüleme. *Türk Radyoloji Seminerleri*, 12(2), 175-190. doi:10.4274/trs.2024.24133.
- Kalavska, K., Schmidtova, S., Chovanec, M., Mego, M. 2020. Immunotherapy in testicular germ cell tumors. *Frontiers in Oncology*, 10, 573977. [<https://doi.org/10.3389/fonc.2020.573977>]
- Kalemoglu, E., Jani, Y., Canaslan, K., Bilen, M. A. 2025. The role of immunotherapy in targeting tumor microenvironment in genitourinary cancers. *Frontiers in Immunology*, 16. [<https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1506278>]
- Katabathina, V. S., Vargas-Zapata, D., Monge, R. A., Nazarullah, A., Ganeshan, D., Tammisetti, V., Prasad, S. R. 2021. Testicular germ cell tumors: Classification, pathologic features, imaging findings, and management. *RadioGraphics*, 41(6), 1698–1716. [<https://doi.org/10.1148/rg.2021210024>]
- Kawai, O., Ishii, G., Kubota, K., Murata, Y., Naito, Y., Mizuno, T., Aokage, K., Saijo, N., Nishiwaki, Y., Gemma, A., Kudoh, S., Ochiai, A. 2008. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 113(6), 1387–1395. [<https://doi.org/10.1002/cncr.2371>]
- Khambata, K., Modi, D. N., Gupta, S. K. 2021. Immunoregulation in the testis and its implication in fertility and infections. *Exploration of Immunology*, 1, 309–324. [<https://doi.org/10.37349/ei.2021.00021>]
- Khanam, R. ve Hussain, M. 2024. YOLOv11: An overview of the key architectural enhancements. arXiv preprint arXiv:2410.17725. [<https://arxiv.org/abs/2410.17725>]
- Kim, Y. J., Won, C. H., Lee, M. W., Choi, J. H., Chang, S. E., Lee, W. J. 2020. Correlation Between Tumor-Associated Macrophage and Immune Checkpoint Molecule

- Expression and Its Prognostic Significance in Cutaneous Melanoma. *Journal of clinical medicine*, 9(8), 2500. [<https://doi.org/10.3390/jcm9082500>]
- Klein, B., Haggene, T., Fietz, D., Indumathy, S., Loveland, K. L., Hedger, M., Kliesch, S., Weidner, W., Bergmann, M., Schuppe, H. C. 2016. Specific immune cell and cytokine characteristics of human testicular germ cell neoplasia. *Human reproduction (Oxford, England)*, 31(10), 2192–2202. [<https://doi.org/10.1093/humrep/dew21>]
- Kowalik, K., Hetman, K., Kasperowicz, K., Modrzejewski, A. 2024. Sex cord-stromal tumors of the testis—A rare group of benign and malignant gonadal neoplasms: Literature review. *Oncology in Clinical Practice*, 20(5), 343–350. [<https://doi.org/10.5603/ocp.97184>]
- Lamichhane A, Mukkamalla SKR. Seminoma. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560513/>]
- Lau, S. K., Weiss, L. M., Chu, P. G. 2007. D2-40 immunohistochemistry in the differential diagnosis of seminoma and embryonal carcinoma: A comparative immunohistochemical study with KIT (CD117) and CD30. *Modern Pathology*, 20(3), 320–325. [<https://doi.org/10.1038/modpathol.3800749>]
- Lendel, A. ve Zynger, D.L. 2025. Embryonal karsinoma. PathologyOutlines.com web sitesi. [<https://www.pathologyoutlines.com/topic/testisembryonal.html>] Erişim tarihi: 13 Mayıs 2025.
- Leroy, X., Augusto, D., Leteurtre, E., Gosselin, B. 2002. CD30 and CD117 (c-kit) used in combination are useful for distinguishing embryonal carcinoma from seminoma. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 50(2), 283–285. [<https://doi.org/10.1177/002215540205000216>]
- Li, C., Che, S., Gong, H., Ding, Y., Luo, Y., Xi, J., Qi, L., Zhang, G. 2024. PI-YOLO: dynamic sparse attention and lightweight convolutional based YOLO for vessel detection in pathological images. *Frontiers in oncology*, 14, 1347123. [<https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1347123>]
- Li, N., Wang, T., Han, D. 2012. Structural, cellular and molecular aspects of immune privilege in the testis. *Frontiers in Immunology*, 3, 152. [<https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00152>]
- Lin, J. B. ve Troyer, D. 2014. Testicular tumors. In L. M. McManus & R. N. Mitchell (Eds.), *Pathobiology of human disease* (pp. 2480–2495). *Academic Press*. [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.05104-2>]
- Liu, Y., Li, C., Li, F., Lin, R., Zhang, D., Lian, Y. 2025. Advances in computer vision and deep learning-facilitated early detection of melanoma. *Briefings in Functional Genomics*, 24, elaf002. [<https://doi.org/10.1093/bfpg/elaf002>]
- Lobo, J., Rodrigues, Â., Guimarães, R., Cantante, M., Lopes, P., Maurício, J., Oliveira, J., Jerónimo, C., Henrique, R. 2019. Detailed Characterization of Immune Cell Infiltrate and Expression of Immune Checkpoint Molecules PD-L1/CTLA-4 and MMR Proteins in Testicular Germ Cell Tumors Disclose Novel Disease Biomarkers. *Cancers*, 11(10), 1535. [<https://doi.org/10.3390/cancers11101535>]
- Lu, P., Weaver, V. M., Werb, Z. 2012. The extracellular matrix: A dynamic niche in cancer progression. *Journal of Cell Biology*, 196(4), 395–406. [<https://doi.org/10.1083/jcb.201102147>]

- Lv, B., Wang, Y., Ma, D., Cheng, W., Liu, J., Yong, T., Chen, H., Wang, C. 2022. Immunotherapy: Reshape the tumor immune microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 13, 844142.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., Balkwill, F. 2008. Cancer-related inflammation. *Nature*, 454, 436–444. [<https://doi.org/10.1038/nature07205>]
- Mao, M. ve Hong, M. 2025. YOLO Object Detection for Real-Time Fabric Defect Inspection in the Textile Industry: A Review of YOLOv1 to YOLOv11. *Sensors*, 25(7), 2270. [<https://doi.org/10.3390/s25072270>]
- Martínez Vidal, J., Tsiknakis, N., Staaf, J., Bosch, A., Ehinger, A., Nimeus, E., Salgado, R., Bai, Y., Rimm, D. L., Hartman, J., Acs, B. 2024. The analytical and clinical validity of AI algorithms to score TILs in TNBC: Can we use different machine learning models interchangeably? *eClinicalMedicine*, 78, 102928. [<https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.102928>]
- Masterson, T. A., Rice, K. R., Beck, S. D. W. 2014. Current and future biologic markers for disease progression and relapse in testicular germ cell tumors: A review. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 32(3), 261–271. [<https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2013.05.012>]
- Mathiesen, H., Juul-Madsen, K., Tramm, T., Vorup-Jensen, T., Møller, H. J., Etzerodt, A., Andersen, M. N. 2025. Prognostic value of CD163⁺ macrophages in solid tumor malignancies: A scoping review. *Immunology Letters*, 272, 106970. [<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2025.106970>]
- Mazilu, L., Suceveanu, A. I., Stanculeanu, D. L., Gheorghe, A. D., Fricatel, G., Negru, S. M. 2021. Tumor microenvironment is not an 'innocent bystander' in the resistance to treatment of head and neck cancers (Review). *Experimental and therapeutic medicine*, 22(4), 1128. [<https://doi.org/10.3892/etm.2021.10562>]
- McGenity, C., Clarke, E. L., Jennings, C., Matthews, G., Cartlidge, C., Freduah-Agyemang, H., Stocken, D. D., Treanor, D. 2024. Artificial intelligence in digital pathology: A systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *NPJ Digital Medicine*, 7, Article 114. [<https://doi.org/10.1038/s41746-024-01106-8>]
- McHugh, D. J., Gleeson, J. P., Feldman, D. R. 2024. Testicular cancer in 2023: Current status and recent progress. *CA: a cancer journal for clinicians*, 74(2), 167–186. [<https://doi.org/10.3322/caac.21819>]
- Mhamane, S., Bagal, S., Shivshankar, S., Kadam, P., Prakash, G., Budukh, A. 2024. Global burden of testicular cancer and its risk factors. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 46(2), 142–149. [<https://doi.org/10.1055/s-0044-1796675>]
- Moeen, S., Chundriger, Q., Ahmed, R. 2025. Germ hücre tümörleri. PathologyOutlines.com web sitesi. [<https://www.pathologyoutlines.com/topic/mediastinumgermcell.html>.] Erişim tarihi 13 Mayıs 2025.
- National Cancer Institute. 2025. Cancer stat facts: Testicular cancer. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. [<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/testis.html>]
- Nauman, M. ve Leslie, S.W. 2023. Nonseminomatous Testicular Tumors. [Updated 2023 Aug 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568754/>]
- Nazeer, T., Ro, J. Y., Amato, R. J., Park, Y. W., Ordonez, N. G., Ayala, A. G. 1998. Histologically pure seminoma with elevated alpha-fetoprotein: a clinicopathologic

- study of ten cases. *Oncology reports*, 5(6), 1425–1429. [<https://doi.org/10.3892/or.5.6.1425>]
- Nestler, T., Dalvi, P., Haidl, F., Wittersheim, M., von Brandenstein, M., Paffenholz, P., Wagener-Rydzek, S., Pfister, D., Koitzsch, U., Hellmich, M., Buettner, R., Odenthal, M., Heidenreich, A. 2022. Transcriptome analysis reveals upregulation of immune response pathways at the invasive tumour front of metastatic seminoma germ cell tumours. *British Journal of Cancer*, 126(6), 937–947. [<https://doi.org/10.1038/s41416-021-01621-5>]
- Nettersheim, D., Biermann, K., Gillis, A. J. M., Steger, K., Looijenga, L. H. J., Schorle, H. 2011. NANOG promoter methylation and expression correlation during normal and malignant human germ cell development. *Epigenetics*, 6(1), 114–122. [<https://doi.org/10.4161/epi.6.1.13433>]
- Nguyen, A. N. D. ve Allam, K. A. 2022. Deep learning for digital image analysis with whole slide imaging for lymphoma diagnosis: Challenges and promises. *21st Century Pathology*, 2(2), 116.
- Nonaka, D. 2009. Differential expression of SOX2 and SOX17 in testicular germ cell tumors. *American journal of clinical pathology*, 131(5), 731–736. [<https://doi.org/10.1309/AJCP7MNCNBCRN8NO>]
- O'Donnell, L., Stanton, P., de Kretser, D.M. 2017 Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis. [Updated 2017 Jan 11]. In: Feingold KR, Ahmed SF, Anawalt B, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279031/>]
- Oldenburg, J., Berney, D. M., Bokemeyer, C., Climent, G. A., Daugaard, G., Gietema, J. A., De Giorgi, U., Haugnes, H. S., Huddart, R. A., Leão, R., Sohaib, A., Gillissen, S., Powles, T. 2022. Testicular seminoma and non-seminoma: ESMO-EURACAN clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 33(4), 375–394. [<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.01.002>]
- Ozgun, G. ve Nappi, L. 2023. Primary Mediastinal Germ Cell Tumors: A Thorough Literature Review. *Biomedicines*, 11(2), 487. [<https://doi.org/10.3390/biomedicines11020487>]
- Parker, C., Milosevic, M., Panzarella, T., Banerjee, D., Jewett, M., Catton, C., Tew-George, B., Gospodarowicz, M., Warde, P. 2002. The prognostic significance of the tumour infiltrating lymphocyte count in stage I testicular seminoma managed by surveillance. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 38(15), 2014–2019. [[https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)00235-6](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)00235-6)]
- Pearce, H., Hutton, P., Chaudhri, S., Porfiri, E., Patel, P., Viney, R., Moss, P. 2017. Spontaneous CD4+ and CD8+ T-cell responses directed against cancer testis antigens are present in the peripheral blood of testicular cancer patients. *European journal of immunology*, 47(7), 1232–1242. [<https://doi.org/10.1002/eji.201646898>]
- Peranzoni, E., Lemoine, J., Vimeux, L., Feuillet, V., Barrin, S., Kantari-Mimoun, C., Bercovici, N., Guérin, M., Biton, J., Ouakrim, H., Régner, F., Lupo, A., Alifano, M., Damotte, D., Donnadieu, E. 2018. Macrophages impede CD8 T cells from reaching tumor cells and limit the efficacy of anti-PD-1 treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(17), E4041–E4050. [<https://doi.org/10.1073/pnas.1720948115>]
- Pyo, J. S., Son, B. K., Lee, H. Y., Oh, I. H., Chung, K. H. 2021. Prognostic Implications of Intratumoral and Peritumoral Infiltrating Lymphocytes in Pancreatic Ductal

- Adenocarcinoma. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 28(6), 4367–4376. [<https://doi.org/10.3390/curroncol28060371>]
- Qian, B.-Z. ve Pollard, J. W. 2010. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*, 141(1), 39–51. [<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.014>]
- Qin, Q., Zhou, Y., Guo, J., Chen, Q., Tang, W., Li, Y., You, J., Li, Q. 2024. Conserved methylation signatures associate with the tumor immune microenvironment and immunotherapy response. *Genome Medicine*, 16, Article 47. [<https://doi.org/10.1186/s13073-024-01318-3>]
- Qu, N., Ogawa, Y., Kuramasu, M., Nagahori, K., Sakabe, K., Itoh, M. 2019. Immunological microenvironment in the testis. *Reproductive medicine and biology*, 19(1), 24–31. [<https://doi.org/10.1002/rmb2.12293>]
- Rajpert-De Meyts, E., McGlynn, K. A., Okamoto, K., Jewett, M. A., Bokemeyer, C. 2016. Testicular germ cell tumours. *The Lancet*, 387(10029), 1762–1774. [[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00991-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00991-5)]
- Rajpert-De Meyts, E., Aksglaede, L., Bandak, M., Toppari, J., Jørgensen, N. 2023. Testicular cancer: Pathogenesis, diagnosis and management with focus on endocrine aspects. In K. R. Feingold, S. F. Ahmed, B. Anawalt, et al. (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278992/>]
- Redmon, J., Divvala, S., Girshick, R., Farhadi, A. 2016. You only look once: Unified, real-time object detection. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pp. 779–788. Las Vegas, NV, USA.
- Reigle, J., Lopez-Nunez, O., Drysdale, E., Abuquteish, D., Liu, X., Putra, J., Erdman, L., Griffiths, A. M., Prasath, S., Siddiqui, I., Dhaliwal, J. 2024. Using Deep Learning to Automate Eosinophil Counting in Pediatric Ulcerative Colitis Histopathological Images. *medRxiv: the preprint server for health sciences*, 2024.04.03.24305251. [<https://doi.org/10.1101/2024.04.03.24305251>]
- Revels, J. W., Wang, S. S., Gangadhar, K., Ali, A., Ali, A. A., Lee, J. H. 2020. Multimodality Radiological Pictorial Review of Testicular Carcinoma: From Initial Staging to Restaging. *Research and reports in urology*, 12, 599–613. [<https://doi.org/10.2147/RRU.S257243>]
- Rong, R., Sheng, H., Jin, K. W., Wu, F., Luo, D., Wen, Z., Tang, C., Yang, D. M., Jia, L., Amgad, M., Cooper, L. A. D., Xie, Y., Zhan, X., Wang, S., Xiao, G. 2023. A Deep Learning Approach for Histology-Based Nucleus Segmentation and Tumor Microenvironment Characterization. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 36(8), 100196. [<https://doi.org/10.1016/j.modpat.2023.100196>]
- Safiri, S., Hassanzadeh, K., Janbaz Alamdary, S., Mousavi, S. E., Nejadghaderi, S. A., Sullman, M. J. M., Naghdi-Sedeh, N., Kolahi, A.-A. 2023. The burden of testicular cancer from 1990 to 2019 in the Middle East and North Africa region. *Frontiers in Oncology*, 13. [<https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1276965>]
- Sahai, E., Astsaturov, I., Cukierman, E., DeNardo, D. G., Egeblad, M., Evans, R. M., Fearon, D., Gretchen, F. R., Hingorani, S. R., Hunter, T., Hynes, R. O., Jain, R. K., Janowitz, T., Jorgensen, C., Kimmelman, A. C., Kolonin, M. G., Mielgo, A., Öhlund, D., Piotrowska, Z., ... Werb, Z. 2020. A framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts. *Nature Reviews Cancer*, 20, 174–186. [<https://doi.org/10.1038/s41568-019-0238-1>]

- Sakai, Y., Hoshino, H., Kitazawa, R., Kobayashi, M. 2014. High endothelial venule-like vessels and lymphocyte recruitment in testicular seminoma. *Andrology*, 2(2), 282–289. [<https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2014.00192.x>]
- Sarkar, M., Nguyen, T., Gundre, E., Ogunlusi, O., El-Sobky, M., Giri, B., Sarkar, T. R. 2023. Cancer-associated fibroblasts: The chief architect in the tumor microenvironment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, Article 1089068. [<https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1089068>]
- Sato, E., Olson, S. H., Ahn, J., Bundy, B., Nishikawa, H., Qian, F., Jungbluth, A. A., Frosina, D., Gnjjatic, S., Ambrosone, C., Kepner, J., Odunsi, T., Ritter, G., Lele, S. B., Chen, Y.-T., Ohtani, H., Old, L. J., Odunsi, K. 2005. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(51), 18538–18543. [<https://doi.org/10.1073/pnas.0509182102>]
- Savelyeva, A. V. ve Medvedev, K. E. 2023. Seminoma subtypes differ in the organization and functional state of the immune microenvironment. *3 Biotech*, 13(3), 110. [<https://doi.org/10.1007/s13205-023-03530-1>]
- Scandura, G., Wagner, T., Beltran, L., Alifrangis, C., Shamash, J., Berney, D. M. 2021. Pathological predictors of metastatic disease in testicular non-seminomatous germ cell tumors: Which tumor-node-metastasis staging system? *Modern Pathology*, 34(4), 834–841. [<https://doi.org/10.1038/s41379-020-00717-2>]
- Seidel, C., Paulsen, F. O., Nestler, T., Lohr, H., Kliesch, S., Dieckmann, K.-P., Isbarn, H. 2024. Molecular and histopathological characterization of seminoma patients with highly elevated human chorionic gonadotropin levels in the serum. *Virchows Archiv*, 485, 123–130. [<https://doi.org/10.1007/s00428-023-03698-0>]
- Shi, C., Zhu, D., Zhou, C., Cheng, S., Zou, C. 2024. GPMB-YOLO: A lightweight model for efficient blood cell detection in medical imaging. *Health Information Science and Systems*, 12, 24. [<https://doi.org/10.1007/s13755-024-00285-8>]
- Singla, N., Bagrodia, A., Baraban, E., Fankhauser, C. D., Ged, Y. M. A. 2025. Testicular Germ Cell Tumors: A Review. *JAMA*, 333(9), 793–803. [<https://doi.org/10.1001/jama.2024.27122>]
- Siska, P. J., Beckermann, K. E., Mason, F. M., Andrejeva, G., Greenplate, A. R., Sendor, A. B., Chiang, Y.-C. J., Corona, A. L., Gemta, L. F., Vincent, B. G., Wang, R. C., Kim, B., Hong, J., Chen, C.-L., Bullock, T. N., Irish, J. M., Rathmell, W. K., Rathmell, J. C. 2017. Mitochondrial dysregulation and glycolytic insufficiency functionally impair CD8 T cells infiltrating human renal cell carcinoma. *JCI Insight*, 2(12), e93411. [<https://doi.org/10.1172/jci.insight.93411>]
- Skyttke, M. K., Graversen, J. H., Moestrup, S. K. 2020. Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5497. [<https://doi.org/10.3390/ijms21155497>]
- Stamer, D. K. ve Clark, J. L. 2022. Educational Case: Classic seminoma of the testis. *Academic pathology*, 9(1), 100032. [<https://doi.org/10.1016/j.acpath.2022.100032>]
- Suárez-Sánchez, F. J., Lequerica-Fernández, P., Suárez-Canto, J., Rodrigo, J. P., Rodríguez-Santamarta, T., Domínguez-Iglesias, F., García-Pedrero, J. M., de Vicente, J. C. (2020). Macrophages in Oral Carcinomas: Relationship with Cancer Stem Cell Markers and PD-L1 Expression. *Cancers*, 12(7), 1764. [<https://doi.org/10.3390/cancers12071764>]

- Sung, M.-T., MacLennan, G. T., Lopez-Beltran, A., Zhang, S., Montironi, R., Cheng, L. 2008. Primary mediastinal seminoma: A comprehensive assessment integrated with histology, immunohistochemistry, and fluorescence in situ hybridization for chromosome 12p abnormalities in 23 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*, 32(1), 146–155. [<https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181379edf>]
- Topalian, S. L., Drake, C. G., Pardoll, D. M. 2015. Immune checkpoint blockade: A common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell*, 27(4), 450–461. [<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.03.001>]
- van der Meer, D. J., Karim-Kos, H. E., Elzevier, H. W., Dinkelman-Smit, M., Kerst, J. M., Atema, V., Lehmann, V., Husson, O., van der Graaf, W. T. A. 2024. The increasing burden of testicular seminomas and non-seminomas in adolescents and young adults (AYAs): incidence, treatment, disease-specific survival and mortality trends in the Netherlands between 1989 and 2019. *ESMO open*, 9(2), 102231. [<https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2023.102231>]
- Wang, A., Chen, H., Liu, L., Chen, K., Lin, Z., Han, J., Ding, G. 2024. YOLOv10: Real-time end-to-end object detection. *arXiv preprint arXiv:2405.14458*. [<https://arxiv.org/abs/2405.14458>]
- Wang, S., Wang, J., Chen, Z., Luo, J., Guo, W., Sun, L., Lin, L. 2024. Targeting M2-like tumor-associated macrophages is a potential therapeutic approach to overcome antitumor drug resistance. *NPJ Precision Oncology*, 8, Article 31. [<https://doi.org/10.1038/s41698-024-00522-z>]
- Xu, Y., Wang, X., Liu, L., Wang, J., Wu, J., Sun, C. 2022. Role of macrophages in tumor progression and therapy (Review). *International journal of oncology*, 60(5), 57. [<https://doi.org/10.3892/ijo.2022.5347>]
- Yakirevich, E., Lefel, O., Sova, Y., Stein, A., Cohen, O., Izhak, O. B., Resnick, M. B. 2002. Activated status of tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis in testicular seminoma. *The Journal of pathology*, 196(1), 67–75. [<https://doi.org/10.1002/path.996>]
- Yanai, Y., Kosaka, T., Mikami, S., Hongo, H., Yasumizu, Y., Takeda, T., Matsumoto, K., Miyauchi, J., Kitano, S., Oya, M. 2021. CD8-positive T cells and CD204-positive M2-like macrophages predict postoperative prognosis of very high-risk prostate cancer. *Scientific Reports*, 11, Article 22495. [<https://doi.org/10.1038/s41598-021-01900-4>]
- Yang, W., Liu, S., Mao, M., Gong, Y., Li, X., Lei, T., Liu, C., Wu, S., Hu, Q. 2024. T-cell infiltration and its regulatory mechanisms in cancers: Insights at single-cell resolution. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 43, 38. [<https://doi.org/10.1186/s13046-024-02960-w>]
- Zhang, D., Bu, Y., Chen, Q., Cai, S., Zhang, Y. 2024. TW-YOLO: An Innovative Blood Cell Detection Model Based on Multi-Scale Feature Fusion. *Sensors*, 24(19), 6168. [<https://doi.org/10.3390/s24196168>]
- Zhang, H., Liu, L., Liu, J., Dang, P., Hu, S., Yuan, W., Sun, Z., Liu, Y., Wang, C. 2023. Roles of tumor-associated macrophages in anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy for solid cancers. *Molecular Cancer*, 22, 58. [<https://doi.org/10.1186/s12943-023-01725-x>]
- Zhao, L., Jin, S., Wang, S., Zhang, Z., Wang, X., Chen, Z., Wang, X., Huang, S., Zhang, D., Wu, H. 2024. Tertiary lymphoid structures in diseases: immune mechanisms and therapeutic advances. *Signal transduction and targeted therapy*, 9(1), 225. [<https://doi.org/10.1038/s41392-024-01947-5>]
- Zheng, W., Chen, J., Liu, C., Zhou, J., Zhu, C., Zhu, Y., Li, M., Fan, L., Duan, Y., Li, X. 2016. Immature CD11c⁺ myeloid dendritic cells with inflammatory and regulatory cytokine

profile in human seminoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 9(3), 2803–2819. [<https://e-century.us/files/ijcep/9/3/ijcep0020565.pdf>]

Zheng, S., Liu, B., Guan, X. 2022. The Role of Tumor Microenvironment in Invasion and Metastasis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Front. Oncol.* 12:911285. doi: 10.3389/fonc.2022.911285

Zhu, W., Yi, Q., Chen, Z., Wang, J., Zhong, K., Ouyang, X., Yang, K., Jiang, B., Zhong, J., Zhong, J. 2025. Exploring the role and mechanisms of MAGEA4 in tumorigenesis, regulation, and immunotherapy. *Molecular Medicine*, 31, 43. <https://>



EKLER

Ek-1 İmmünohistokimyasal Boyama Protokolleri (CD4+ Boyama)

Protokol # 28 : CD4 (07.05.2021)

Sürüm: 1

Valide edilmiş: Hay

Aktif: Eve

Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)

BenchMark ULTRA IHC/ISH

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE

Adım No	Prosedür Adımı
1	Karıştırıcıları Etkinleştir
2	Karıştırıcıları Devre Dışı Bırak
3	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 72°C'ye ayarlayın]
4	Slaydı [72 C Derece]'den Orta Sıcaklıklar'a (Deparafinizasyon) kadar ısıtın.
5	4 Dakika süreyle inkübe et
6	EZPrep Hacim Ayan uygula
7	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
8	EZPrep Hacim Ayan uygula
9	Lamel uygula
10	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
11	EZPrep Hacim Ayan uygula
12	Lamel uygula
13	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
14	Depar Hacim Ayanı uygula
15	Lamel uygula
16	Karıştırıcıları Etkinleştir
17	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
18	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
19	[Kısa - 8 Dakika İyileştirme]
20	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
21	Uzun Hücre İyileştirici #1 uygula
22	CC Uzun Lamel uygula
23	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 95°C'ye ayarlayın]
24	Slaydı [95 C Derece]'e kadar ısıtın ve 8 Dakika (Hücre İyileştirici #1) süreyle inkübe edin
25	Hücre İyileştirici #1
26	CC Orta Lamel No BB uygula
27	CC Orta Lamel No BB uygula
28	Hücre İyileştirici #1
29	CC Orta Lamel No BB uygula
30	[ORTA]
31	Hücre İyileştirici #1
32	CC Orta Lamel No BB uygula
33	Hücre İyileştirici #1
34	CC Orta Lamel No BB uygula
35	Hücre İyileştirici #1
36	CC Orta Lamel No BB uygula
37	Hücre İyileştirici #1
38	CC Orta Lamel No BB uygula
39	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
40	8 Dakika süreyle inkübe et
41	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
42	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
43	Lamel uygula
44	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

* bir damla bir reaktif ölçüsüdür

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE
VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı 30.05.2025 13:24:35

Sayfa 1 / 2

Protokol # 28 : CD4 (07.05.2021)**Sürüm: 1****Valide edilmiş: Hay****Aktif: Eve****Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)****BenchMark ULTRA IHC/ISH****NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE**

Adım No	Prosedür Adımı
45	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
46	Lamel uygula
47	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
48	Slaydı 36 C Derece'e kadar ısıtın
49	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
50	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
51	Bir Damla UV INHIBITOR uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
52	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
53	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
54	Lamel uygula
55	Slaydı 36 C Derece'e kadar ısıtın ve 4 Dakika süreyle İnkübe edin
56	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
57	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
58	Lamel uygula
59	Hand Apply (Ana Antikor), and Incubate for [0 Saat 32 Dak]
60	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
61	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
62	Lamel uygula
63	Slaydı 36 C Derece'e kadar ısıtın
64	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
65	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
66	Bir Damla UV HRP UNIV MULT uygula, Lamel uygula ve 8 Dakika süreyle inkübe et
67	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
68	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
69	Lamel uygula
70	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
71	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
72	Bir Damla UV DAB ve Bir Damla UV DAB H2O2 uygula, Lamel uygula, 8 Dakika süreyle inkübe et
73	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
74	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
75	Bir Damla UV COPPER uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
76	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
77	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
78	Bir Damla [HEMATOXYLIN] (Arka Plan Boyama) uygula, Lamel uygula ve [16 Dakika] süreyle inkübe et
79	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
80	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
81	Lamel uygula
82	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
83	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
84	Bir Damla [BLUING REAGENT] (Arka Plan Boyamasını ilet) uygula, Lamel uygula ve [4 Dakika] süreyle inkübe et
85	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
86	Lamel uygula
87	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
88	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

* bir damla bir reaktif ölçüştür

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE

VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı 30.05.2025 13:24:36

Sayfa 2 / 2

Ek-2 İmmünohistokimyasal Boyama Protokolleri (CD8+ Boyama)

Protokol # 57 : CD-8 (10.05.2021)

Sürüm: 1

Valide edilmiş: Hay

Aktif: Eve

Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)

BenchMark ULTRA IHC/ISH

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE

Adım No	Prosedür Adımı
1	Karşıtıcıları Etkinleştir
2	Karşıtıcıları Devre Dışı Bırak
3	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 72°C'ye ayarlayın]
4	Slaydı [72 C Derece]'den Orta Sıcaklıklar'a (Deparafinizasyon) kadar ısıtın.
5	4 Dakika süreyle inkübe et
6	EZPrep Hacim Ayarı uygula
7	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
8	EZPrep Hacim Ayarı uygula
9	Lamel uygula
10	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
11	EZPrep Hacim Ayarı uygula
12	Lamel uygula
13	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
14	Depar Hacim Ayarı uygula
15	Lamel uygula
16	Karşıtıcıları Etkinleştir
17	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
18	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
19	[Kısa - 8 Dakika İyileştirme]
20	Slaydı EZ Prep ile Yıkayın
21	Uzun Hücre İyileştirici #1 uygula
22	CC Uzun Lamel uygula
23	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 95°C'ye ayarlayın]
24	Slaydı [95 C Derece]'e kadar ısıtın ve 8 Dakika (Hücre İyileştirici #1) süreyle inkübe edin
25	Hücre İyileştirici #1
26	CC Orta Lamel No BB uygula
27	CC Orta Lamel No BB uygula
28	Hücre İyileştirici #1
29	CC Orta Lamel No BB uygula
30	[ORTA]
31	Hücre İyileştirici #1
32	CC Orta Lamel No BB uygula
33	Hücre İyileştirici #1
34	CC Orta Lamel No BB uygula
35	Hücre İyileştirici #1
36	CC Orta Lamel No BB uygula
37	Hücre İyileştirici #1
38	CC Orta Lamel No BB uygula
39	Hücre İyileştirici #1
40	CC Orta Lamel No BB uygula
41	Hücre İyileştirici #1
42	CC Orta Lamel No BB uygula
43	Hücre İyileştirici #1
44	CC Orta Lamel No BB uygula

* bir damla bir reaktif ölçüsüdür
NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE
VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı 30.05.2025 13:31:02
Sayfa 1 / 3

Protokol # 57 : CD-8 (10.05.2021)**Sürüm: 1****Valide edilmiş: Hay****Aktif: Eve****Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)****BenchMark ULTRA IHC/ISH****NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE**

Adım No	Prosedür Adımı
45	Hücre İyileştirici #1
46	CC Orta Lamel No BB uygula
47	[STANDART]
48	Hücre İyileştirici #1
49	CC Orta Lamel No BB uygula
50	Kısa Hücre İyileştirici #1 uygula
51	CC Orta Lamel No BB uygula
52	Hücre İyileştirici #1
53	CC Orta Lamel No BB uygula
54	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
55	8 Dakika süreyle inkübe et
56	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
57	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
58	Lamel uygula
59	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
60	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
61	Lamel uygula
62	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
63	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın
64	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
65	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
66	Bir Damla UV INHIBITOR uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
67	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
68	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
69	Lamel uygula
70	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın ve 4 Dakika süreyle inkübe edin
71	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
72	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
73	Lamel uygula
74	Hand Apply (Ana Antikor), and Incubate for [0 Saat 32 Dak]
75	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
76	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
77	Lamel uygula
78	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın
79	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
80	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
81	Bir Damla UV HRP UNIV MULT uygula, Lamel uygula ve 8 Dakika süreyle inkübe et
82	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
83	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
84	Lamel uygula
85	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
86	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
87	Bir Damla UV DAB ve Bir Damla UV DAB H2O2 uygula, Lamel uygula, 8 Dakika süreyle inkübe et
88	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

* bir damla bir reaktif ölçüsüdür

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE
VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı 30.05.2025 13:31:02

Sayfa 2 / 3

Protokol # 57 : CD-8 (10.05.2021)**Sürüm: 1****Valide edilmiş: Hay****Aktif: Eve****Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)****BenchMark ULTRA IHC/ISH****NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE**

Adım No	Prosedür Adımı
89	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
90	Bir Damla UV COPPER uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
91	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
92	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
93	Bir Damla [HEMATOXYLIN] (Arka Plan Boyama) uygula, Lamel uygula ve [16 Dakika] süreyle inkübe et
94	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
95	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
96	Lamel uygula
97	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
98	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
99	Bir Damla [BLUING REAGENT] (Arka Plan Boyamasını ilet) uygula, Lamel uygula ve [4 Dakika] süreyle inkübe et
100	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
101	Lamel uygula
102	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
103	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

Ek-3 İmmünohistokimyasal Boyama Protokolleri (CD163+ Boyama)

Protokol # 58 : CD-163 (10.05.2021)

Sürüm: 1

Valide edilmiş: Hay

Aktif: Eve

Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)

BenchMark ULTRA IHC/ISH

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE

Adım No	Prosedür Adımı
1	Karştıncıları Etkinleştir
2	Karştıncıları Devre Dışı Bırak
3	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 72°C'ye ayarlayın]
4	Slayd [72 C Derece]den Orta Sıcaklıklar'a (Deparafinizasyon) kadar ısıtın.
5	4 Dakika süreyle inkübe et
6	EZPrep Hacim Ayanı uygula
7	Slayd EZ Prep ile Yıkayın
8	EZPrep Hacim Ayanı uygula
9	Lamel uygula
10	Slayd EZ Prep ile Yıkayın
11	EZPrep Hacim Ayanı uygula
12	Lamel uygula
13	Slayd EZ Prep ile Yıkayın
14	Depar Hacim Ayanı uygula
15	Lamel uygula
16	Karştıncıları Etkinleştir
17	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
18	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
19	[Kısa - 8 Dakika İyileştirme]
20	Slayd EZ Prep ile Yıkayın
21	Uzun Hücre İyileştirici #1 uygula
22	CC Uzun Lamel uygula
23	[Sıcaklık ayarını varsayılan olarak 95°C'ye ayarlayın]
24	Slayd [95 C Derece]e kadar ısıtın ve 8 Dakika (Hücre İyileştirici #1) süreyle inkübe edin
25	Hücre İyileştirici #1
26	CC Orta Lamel No BB uygula
27	CC Orta Lamel No BB uygula
28	Hücre İyileştirici #1
29	CC Orta Lamel No BB uygula
30	[ORTA]
31	Hücre İyileştirici #1
32	CC Orta Lamel No BB uygula
33	Hücre İyileştirici #1
34	CC Orta Lamel No BB uygula
35	Hücre İyileştirici #1
36	CC Orta Lamel No BB uygula
37	Hücre İyileştirici #1
38	CC Orta Lamel No BB uygula
39	Hücre İyileştirici #1
40	CC Orta Lamel No BB uygula
41	Hücre İyileştirici #1
42	CC Orta Lamel No BB uygula
43	Hücre İyileştirici #1
44	CC Orta Lamel No BB uygula

* bir damla bir reaktif ölçüsüdür

NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE
VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı: 30.05.2025 13:29:53

Sayfa 1 / 3

Protokol # 58 : CD-163 (10.05.2021)**Sürüm: 1****Valide edilmiş: Hay****Aktif: Eve****Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)****BenchMark ULTRA IHC/ISH****NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE**

Adım No	Prosedür Adımı
45	Hücre İyileştirici #1
46	CC Orta Lamel No BB uygula
47	[STANDART]
48	Hücre İyileştirici #1
49	CC Orta Lamel No BB uygula
50	Kısa Hücre İyileştirici #1 uygula
51	CC Orta Lamel No BB uygula
52	Hücre İyileştirici #1
53	CC Orta Lamel No BB uygula
54	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
55	8 Dakika süreyle inkübe et
56	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
57	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
58	Lamel uygula
59	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
60	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
61	Lamel uygula
62	Bekleme Noktası (Tahliye Bölgesi)
63	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın
64	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
65	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
66	Bir Damla UV INHIBITOR uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
67	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
68	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
69	Lamel uygula
70	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın ve 4 Dakika süreyle inkübe edin
71	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
72	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
73	Lamel uygula
74	Hand Apply (Ana Antikor), and Incubate for [0 Saat 32 Dak]
75	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
76	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
77	Lamel uygula
78	Slayd 36 C Derece'e kadar ısıtın
79	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
80	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
81	Bir Damla UV HRP UNIV MULT uygula, Lamel uygula ve 8 Dakika süreyle inkübe et
82	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
83	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
84	Lamel uygula
85	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
86	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
87	Bir Damla UV DAB ve Bir Damla UV DAB H2O2 uygula, Lamel uygula, 8 Dakika süreyle inkübe et
88	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

* bir damla bir reaktif ölçüsüdür
NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE
VSS v12.5.4 Build 23128.1

Yazdırıldı: 30.05.2025 13:29:53
Sayfa 2 / 3

Protokol # 58 : CD-163 (10.05.2021)**Sürüm: 1****Valide edilmiş: Hay****Aktif: Eve****Prosedür: U ultraView DAB (v1.02.0018)****BenchMark ULTRA IHC/ISH****NAMIK KEMAL UNI. SAG. UYG. ve ARAST. HASTANESI, TEKIRDAG TURKIYE**

Adım No	Prosedür Adımı
89	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
90	Bir Damla UV COPPER uygula, Lamel uygula ve 4 Dakika süreyle inkübe et
91	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
92	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
93	Bir Damla [HEMATOXYLIN] (Arka Plan Boyama) uygula, Lamel uygula ve [16 Dakika] süreyle inkübe et
94	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
95	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
96	Lamel uygula
97	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
98	Slayt Hacmini Reaction Buffer ile ayarlar
99	Bir Damla [BLUING REAGENT] (Arka Plan Boyamasını ilet) uygula, Lamel uygula ve [4 Dakika] süreyle inkübe et
100	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala
101	Lamel uygula
102	Slayt Isıtıcısını Devreden Çıkar
103	Reaksiyon Tamponlu Slaydı çalkala

Ek-4 Etik Kurul Kararı

	TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU																																	
BASVURU BİLGİLERİ	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Araştırmanın Açık Adı</td> <td colspan="3">TESTİKÜLER SEMİNOMDA TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN İMMÜN FENOTİPİK ANALİZİ</td> </tr> <tr> <td>Koordinatör / Sorumlu Araştırmacı</td> <td colspan="3">[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Etik Kurul Toplantı Tarihi</td> <td colspan="3">25.07.2023</td> </tr> <tr> <td>Araştırma Protokol Numarası</td> <td colspan="3">2023.142.07.07</td> </tr> <tr> <td>Araştırmanın Türü</td> <td>Prospektif ☐</td> <td>Retrospektif ☒</td> <td>Diğer: ☐</td> </tr> <tr> <td>Araştırmanın Destekleyicisi</td> <td>TÜBİTAK ☐</td> <td>TNKÜ BAP ☐</td> <td>Araştırmacı ☒ Diğer: ☐</td> </tr> <tr> <td>Araştırmanın Bütçesi</td> <td colspan="3">54450,00 ₺</td> </tr> <tr> <td>Araştırmanın Merkezi</td> <td>Tek Merkezli ☒</td> <td>Çok Merkezli ☐</td> <td></td> </tr> </table>		Araştırmanın Açık Adı	TESTİKÜLER SEMİNOMDA TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN İMMÜN FENOTİPİK ANALİZİ			Koordinatör / Sorumlu Araştırmacı	[Redacted]			Etik Kurul Toplantı Tarihi	25.07.2023			Araştırma Protokol Numarası	2023.142.07.07			Araştırmanın Türü	Prospektif ☐	Retrospektif ☒	Diğer: ☐	Araştırmanın Destekleyicisi	TÜBİTAK ☐	TNKÜ BAP ☐	Araştırmacı ☒ Diğer: ☐	Araştırmanın Bütçesi	54450,00 ₺			Araştırmanın Merkezi	Tek Merkezli ☒	Çok Merkezli ☐	
Araştırmanın Açık Adı	TESTİKÜLER SEMİNOMDA TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN İMMÜN FENOTİPİK ANALİZİ																																	
Koordinatör / Sorumlu Araştırmacı	[Redacted]																																	
Etik Kurul Toplantı Tarihi	25.07.2023																																	
Araştırma Protokol Numarası	2023.142.07.07																																	
Araştırmanın Türü	Prospektif ☐	Retrospektif ☒	Diğer: ☐																															
Araştırmanın Destekleyicisi	TÜBİTAK ☐	TNKÜ BAP ☐	Araştırmacı ☒ Diğer: ☐																															
Araştırmanın Bütçesi	54450,00 ₺																																	
Araştırmanın Merkezi	Tek Merkezli ☒	Çok Merkezli ☐																																
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik bilimsel sakınca bulunmadığına , toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının oy birliği ile karar verilmiştir.																																	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI																																		
İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu																																		
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Araştırma ile İlişkili	Katılım *	İmza																														
Prof. Dr. [Redacted]	Biyofizik	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	[Redacted]																														
Prof. Dr. [Redacted]	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Prof. Dr. [Redacted]	Tıbbi Biyokimya	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Prof. Dr. [Redacted]	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Prof. Dr. [Redacted]	Genel Cerrahi	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	İç Hastalıkları	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	Biyoistatistik	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	Tıbbi Farmakoloji	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒																															
Doç. Dr. [Redacted]	Tıbbi Mikrobiyoloji	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	Ortopedi ve Travmatoloji	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	Tıbbi Biyokimya	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Doç. Dr. [Redacted]	İç Hastalıkları Hemşireliği	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Dr. Öğr. [Redacted]	Adli Tıp	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Dr. Öğr. [Redacted]	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
Dr. Öğr. [Redacted]	Protetik Diş Tedavisi	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐																															
*: Toplantıda bulunma.																																		
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. [Redacted] İmza: [Redacted]																																		

ÖZGEÇMİŞ

