

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA SURVİVİN,  
P53 VE PGP'NİN PROGNOSTİK DEĞERİ**

**DR. HALİL FIRAT BAYTEKİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2006**

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA SURVİVİN,  
P53 VE PGP'NİN PROGNOSTİK DEĞERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. HALİL FIRAT BAYTEKİN**

Proje desteği varsa Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından  
2005.007 sayı ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1-16
GEREÇ VE YÖNTEM.....	16-18
BULGULAR.....	18-30
TARTIŞMA.....	31-37
KAYNAKLAR.....	38-46

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda ve patoloji eğitimim sırasındaki katkılarından dolayı tez danışmanın Prof. Dr. Kutsal Yörükoğlu, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aydanur Kargı ve değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. M. Şerefettin Canda, Prof. Dr. Tülay Canda, Prof. Dr. A. Ali Küpelioglu, Prof. Dr. H. Uğur Pabuçcuoğlu, Prof. Dr. Meral Koyuncuoğlu, Prof. Dr. Sülen Sarıoğlu, Prof. Dr. Erdener Özer, Prof. Dr. Özgül Sağol, Doç. Dr. Burçin Tuna, Doç. Dr. Banu Lebe, Doç. Dr. Sermin Özkal, Doç. Dr. Çağnur Ulukuş, Öğr. Gör. Duygu Gürel'e teşekkür ederim. Ayrıca uzmanlık eğitimim sırasındaki katkılarından dolayı başta sevgili eşim Uzm. Dr. Serpil Baytekin ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tüm laboratuvar çalışanları ve personeli ile ilkokuldan bugüne kadar eğitime sürekli destek olan sevgili annem ve babama teşekkürlerimi sunarım.

## **ÖZET**

### **“Renal Hücreli Karsinomlarda Survivin, p53 ve PGP’nin Prognostik Değeri”**

Dr. Halil Fırat BAYTEKİN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D.

İnciraltı/ İZMİR

**Amaç ve hipotez:** Tüm kanserlerin yaklaşık % 3’ünü oluşturan renal hücreli karsinom (RHK), standart kriterlere göre düşük risk grubuna girmesine karşın, metastaz ve/veya nüks gelişen hastaların erken tanınması RHK için tanımlanan standart prognostik parametrelerden fazlasını gerektirir. Bu amaçla, dünya çapında bir çok merkezde, çok sayıda farklı molekülün RHK’da prognostik değeri araştırılmaktadır. Biz çalışmamızda apoptoz mekanizmalarında ve hücre siklus düzenlenmesinde görev yapan survivin ve p53 ile çoklu ilaç direncinde rol aldığı bilinen P-glikoprotein (PGP) renal hücreli karsinomdaki prognostik değerini araştırdık.

**Yöntem:** 1986-2004 yılları arasında nefrektomi yapılan ve RHK tanısı alan 104 hastanın tümürlü bloklarına ait hematoksilen-eozin boyalı kesitleri ile raporları incelenmiş T evresi, nükleer derecesi, histolojik alt türleri listelenmiş ve güncel bilgilerle gerekli değişiklikler yapılmıştır. Tümör ve normal böbrek parankimini bir arada içeren kesitler survivin, p53 ve PGP antikorları ile standart streptavidin-biotin yöntemi uygulanarak boyanmıştır. İmmunhistokimyasal değerlendirme semikantitatif olarak yapılmış ve sonuçların tümör evresi, Furhman nükleer derecesi, histolojik tür ve sağ kalımla ilişkisi araştırılmıştır.

**Bulgular:** Pozitif kontrolün sağlanabildiği 34 olgunun yalnızca üçü PGP ile boyanmıştır. p53 ile eşik değerinin üzerinde boyanan tümör sayısı 14 (%13.5) olup, p53 pozitifliği tümör evresi ile ilişkili ( $p=0.014$ ) bulunmuştur. Survivin 49 olguda (%52.9) değişen yoğunluk ve yaygınlıkta, nükleer ya da sitoplazmik boyanma göstermiştir. PGP pozitifliği tüm klinik-patolojik değişkenlerle ilişkisiz olarak saptanmıştır. p53’ün tümör evre ve derecesi ile ilişkili ancak sağ kalımla ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Survivin pozitifliğinin klinik ve patolojik değişkenler ve sağ kalımla ilişkili olmadığı, buna karşın tanı anında metastazı bulunan ve tanı anında metastazı olmayıp da sonradan metastatik hastalık saptanan olgularda benzerlik olduğu bulunmuştur. Ayrıca metastaz gelişen ve gelişmeyen olgular arasında survivin ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0.02$ ).

**Sonuç:** p53’ün prognozla ilişkisinin dolaylı olduğu, prognostik faktör olmadığı gözlenmiştir. Survivin pozitifliğinin metastatik potansiyeli olan RHK’ları belirlemede faydalı olabileceği ancak tek başına özgüllük ve duyarlılığının düşük olduğu, bağımsız prognostik faktör olmadığı saptanmıştır. Kemoterapiye büyük oranda dirençli RHK’da bu dirençten sorumlu mekanizmanın tek başına PGP olmadığı söylenebilir.

## **SUMMARY**

### **“Prognostic significance of survivin, p53 and PGP in Renal Cell Carcinoma”**

**Purpose of review:** Renal cell carcinoma (RCC) consists 3% of all human malignancies. More than the standart prognostic parameters are needed to identify the tumors with metastatic potential, but classified in low risk group. By the way, various biologic molecules are being studied for their prognostic significance, worldwide. In this study, we evaluated the proteins survivin and p53 which are entegrated in cell cycle regulation and apoptosis, and P-glycoprotein which plays a role in multidrug resistance.

**Material and methods:** We established the data from pathology reports, H&E stained slides of 104 patients who has undergone radical nephrectomy, diagnosed as RCC, and had archival material, between 1986-2004. Slides which contain tumour and normal renal parenchyma were stained immunohistochemically for survivin, p53, PGP antibodies by standart streptavidin biotin method. Immunohistochemical evaluation was made semiquantitatively, and the results were analysed for the correlation of the expressions with tumour stage, Fuhrman nuclear grade, histologic subtype, and survival.

**Results:** Of the 34 cases with positive control, only three were positive for PGP. 14 (13.5%) were positive above the cut-off value (10%) for p53, and p53 positivity was found to be correlated with tumour stage ( $p=0.014$ ). 49 of 104 (52.9%) cases were nuclear and/or cytoplasmically positive for survivin. PGP positivity did not show any correlation with the clinical and pathological parameters. p53 correlated with grade and stage, but not with survival. Survivin positivity also did not correlate with clinical and pathological prognostic parameters, however, there was similar staining patterns between the cases with initial or late metastatic disease. In addition, there was a significant survivin staining difference between the metastatic and non-metastatic diseases.

**Conclusion:** p53 seems to correlate indirectly with the prognosis, and is not a prognostic indicator for RCC. Survivin may be helpfull in assassing the tumours which have metastatic potential, but does not seem to be a prognostic marker. PGP looks like playing a minor role in chemoresistance of RCC.

## **RENAL HÜCRELİ KARSİNOM**

Renal neoplazmların büyük çoğunluğu epitelial kaynaklı olup çoğunlukla maligndir. Önceleri tek bir tür olarak kabul edilen Renal hücreli karsinom (RHK) günümüzde histolojik, sitogenetik, ve moleküler çalışmaların sonucu olarak birbirinden ayrılabilir, morfolojik ve genetik özellikleri arasında sıkı ilişki olan bir grup olarak kabul görmektedir (1).

Gelişmiş ülkelerde sayıca daha fazla olmak üzere tüm dünyada yılda yaklaşık 190.000 yeni olgu ile RHK tüm kanserlerin %3'ünü oluşturmaktadır. 6 ve 7. dekatlarda pik yapan RHK her yaşta görülebilir. Genel insidans son 20 yılda kademeli olarak artmıştır, buna karşılık 5 yıllık sağ kalım oranlarında belirgin iyileşme bu insidans artışına eşlik etmiştir. Bu durum tanısal tekniklerin gelişmesi ve buna bağlı erken tanı ve tedavi ile yakından ilişkilidir.

RHK, her iki cinsiyette de malign böbrek tümörlerinin %90'ından fazlasını oluşturur. Genel olarak erkeklerde 12, kadınlarda ise 17. en sık malignitedir. Endüstrileşmiş ülkelerde en sık karşılaşılan maligniteler sıralamasında gelişmemiş ülkelerdekinden daha ön sıralarda yer almaktadır. Son verilere göre 1980'lerden bugüne takip edilen tüm bölgelerde genel insidans her iki cinsiyette de artış göstermektedir. Çoğu epitelyal malignitede olduğu gibi insidans 40 yaşından sonra artış göstermekte ve 75 yaşından sonra düşmektedir. Her bölgede erkeklerde görülme sıklığı kadınlardakinin iki -üç katı fazladır.

RHK'ların tedavisinde esas olan radikal nefrektomidir, ancak tümör cerrahi olarak tam çıkarılsa da hematojen metastaz sıktır ve hastalığın erken evrelerinde bile olabilir. Tanı anında hastaların %30 kadarında metastaz vardır ve lokalize tümörü olup radikal nefrektomi uygulanan hastaların diğer bir %30'luk kısmında da tedavi sonrası metastaz ortaya çıkmaktadır (2). Metastatik hastalığı olanların %90'ından fazlasında sağkalım süresi 3 yılın altında olup ortalama 8 aydır (3). RHK'lar bilinen çoğu antikanser ilaca dirençlidir, bu nedenle metastatik hastalığı olan olgularda tedavi seçenekleri sınırlıdır (4). Son zamanlarda metastatik RHK olgularında biyolojik cevap düzenleyicileri olan özellikle interlökin-2 (IL-2) ve interferon-gamma (IF- $\alpha$ ) ile tedaviler denenmektedir (4,5).

**Etiyoloji:** Tütün kullanımı RHK'ların majör etiyolojik faktörlerinden biridir ve erkeklerde hastaların %39'u tütün kullanmaktadır. Endüstriyel süreçler yada içme suyu ile maruz kalınan karsinojenik asbest, RHK riskini arttırmaktadır (6). Henüz kesin kanıtlar bulunmasa da kadmiyum, bazı organik çözücüler, böcek ilaçları ve fungal toksinler gibi pek çok kimyasal, RHK'un olası etiyolojik etkenleri arasında yer almaktadır. Aşırı kilolu ve obez bireylerdeki artmış RHK insidansının mekanizmasında östrojenlerin rolü olabilir. Pek çok retrospektif ve prospektif çalışma RHK riskinin aşırı kilonun en yaygın ölçüsü olan vücut-kitle indeksi artışı ile paralel gittiğini göstermiştir (7).

Avrupa’da her iki cinsiyette de RHK olgularının %25’i fazla kilo ile ilişkilidir. Bu ilişkinin bazı yayınlarda kadınlarda daha güçlü olduğu ifade edilmektedir. RHK insidansı obesite ve tütün kullanımından bağımsız olarak hipertansiyon hikayesi olanlarda önemli ölçüde artmıştır (8).

RHK için diğer risk faktörleri ise ailede RHK öyküsü (9), doğum kilosu (10), meyve ve sebzelerin az tüketilmesi ve yüksek tansiyon hastalarında diüretiklerin dışındaki antihipertansif ilaçların kullanılmasıdır (11). Bunların etkileri henüz açık değildir. Bireylerin genetik özelliklerinin karsinojenlere karşı koymadaki etkinlikleri ile ilgili bir takım hipotezler ise araştırılmaktadır ve bu konularda az sayıda yayın sigara içenlerde poliakrilik aromatik hidrokarbonların, N-asetiltransferaz 2 genindeki polimorfizmlerinin yavaş asetilleyci genotipinin, hızlı asetilleyci genotipe sahip olan bireylere göre daha fazla risk altında olduklarını işaret etmektedir (12).

**Klinik özellikler:** Hematüri, yan ağrısı ve kitle RHK’un klasik triadıdır ancak hastaların %40 kadarında bu bulguların hiç biri yoktur. Hastaların bir kısmı kilo kaybı, karın ağrısı, anoreksi ve ateş gibi sistemik semptomlarla başvururlar (13). Klasik triad genellikle ilerlemiş hastalığın bir göstergesidir ve sadece %10 hastanın başvuru semptomu ağrı, hematüri ve kitle üçlüsünden oluşur; RHK daha sık olarak farklı tanısal çalışmalar sırasında rastlantısal olarak saptanır (14).

Hematüri en sık başvuru semptomudur, RHK hastalarının %50’sinden fazlasında görülür ve ancak toplayıcı sistem tutulmuşsa bu bulgu vardır, mikroskopik hematüri ise %63 hastada saptanabilmektedir. Pıhtı gelişen hastalar kolik tarzı ağrı ile başvurabilirler. Böğür kitlesi ile başvuru ise yetişkinlerden çok çocuk hastalarda karşılaşılan bir durumdur. Alt kutupta yerleşmiş tümörlerin palpasyonu daha kolaydır, kitle genelde düzgündür, hassasiyet yoktur ve solunumla hareket eder (13).

Yaklaşık %50 olguda eritrosit sedimentasyonu artmıştır (15). Hematüriden bağımsız normositik anemi hastaların ortalama %33’ünde görülür (16). Hepatosplenomegali, koagülopati, serum alkalen fosfataz, transaminaz ve alfa 2 globulin konsantrasyonu artışı karaciğer metastazı olmadığı halde görülebilir ve tümör çıkarıldığı zaman gerileyebilir (17). AA tipi sistemik amiloidoz hastaların %3 kadarında görülebilir (18). RHK, malignite ilişkili humoral hiperkalemi (psödohiperparatiroidizm), eritrositoz, hipertansiyon ve jinekomasti gibi paraneoplastik sendromları indükleyebilir. Hiperkalsemi kemik metastazı olmaksızın hastaların %10 kadarında ortaya çıkabilir (19). %66 hastada eritropoietin yükselmiştir ancak %4’ünde eritrositoz görülmektedir ve yaklaşık %33 hastada tümörlü böbrek renal veninde artmış renin konsantrasyonu ve hipertansiyon vardır (20). Jinekomasti, gonadotropin (21) veya prolaktin (22) üretimi ile olur. RHK aynı zamanda primeri bilinmeyen metastatik kitle olarak ortaya çıkan tümör olarak da bilinir ve bazen bu durum mesane gibi beklenmedik lokalizasyonlarda olur (23)



**Görüntüleme:** Günümüzde görüntüleme teknikleri ile renal kitlelerin saptanması ve özelliklerinin belirlenmesi tümör küçük olsa bile mümkündür. Farklı görüntüleme yöntemleri böbrekte yer kaplayan oluşumların benign malign ayrımının yapılmasında kullanılmaktadır. Bunlar intravenöz pyelografi (IVP), bilgisayarlı tomografi (BT), arteriografi, venografi, ultrasonografi (USG), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) olarak sıralanabilir. Bu görüntüleme yöntemleriyle bile, böbrekte yer kaplayan oluşumların bir kısmı belirsiz kalır. Önemli olan benign kistleri çoğu malign olan solid neoplazmlardan ayırmaktır. Bu kitlelerin yaklaşık olarak yarısı benign renal kistlerden oluşmaktadır.

IVP, hematürisi olan hastalara çoğunlukla yapılan ilk işlemdir ve eğer böbrekte yer kaplayan bir oluşum varsa bunu genellikle gösterir. Majör tanısal kriter, toplayıcı sistemde kabalaşma veya çarpıklık ve böbrek sınırındaki düzensizleşmedir. Ancak orta hatta, özellikle de böbrek posterior kısmında yerleşmiş tümörler bu tetkikle gözden kaçabilir (24).

Nefrotomografi, distorsiyonu barsak gazından ayırmada ve böbreğin dış sınırlarını ortaya çıkarmada çok daha faydalıdır. Bu yöntem lezyonun kistik yada solid yapısının ayrımında faydalıdır.

USG, basit kist solid kitle ayrımı yapmada oldukça faydalı, kolay uygulanabilen ve ucuz bir görüntüleme yöntemidir. 413 hastayla çalışılan bir araştırmada tek başına USG %97 sensitif, %97 spesifik olarak bulunmuştur ve yanlış negatiflik oranı %1'dir (25). Nefrotomografi ve USG birlikte kullanıldığında benign kisti saptamadaki doğruluk oranı %98 olmaktadır (14). Basit seröz kist ve renal kanserin birlikte aynı böbrekte olduğu durumlarda tanıda karışıklıklar ortaya çıkabilir ancak bunun insidansı %1'den azdır (26).

Selektif renal arteriografi geleneksel olarak renal kanserin tanısında ve evrelemesinde kullanılan yöntem olmasına karşın günümüzde yerini BT'ye bırakmıştır. Tipik olarak RHK hipervasküler, içinde kan gölcükleri veya nekrotik alanlar bulunan ve kontrast maddeyi hızlıca renal vene taşıyan şantlar içeren solid bir kitledir. Dikkatli bir anjiyografik teknik ve farmakolojik ajanların eklenmesiyle selektif renal arteriografinin RHK'ü benign kisten ayırma oranı %98'dir. Yanlış negatif ve yanlış pozitiflik oranları hemen hemen eşit olup %3 kadardır (27). %10 kadar RHK (özellikle papiller tip) hipovasküler veya avaskülerdir. Abse, granülom, ksantogranümatöz pyelonefrit arteriografide neoplazmı taklit edebilirler (28). Kontrast madde kullanılarak uygulanan ultrasonografik tetkiklerde artmış mikrodamar yoğunluğunun RHK'ü diğerlerinden ayırmada faydalı olduğu bildirilmektedir (29).

BT, RHK tanısında ve evrelemesinde tercih edilen görüntüleme yöntemi olmuştur. Kesitsel anatominin görüntülenmesine olanak verir; karaciğer, dalak, adrenal bez gibi böbrek çevresi dokularla kitlenin ilişkisini gösterir, arteriografiden çok daha az invaziv bir yöntemdir. Arteriografi ile BT arasında yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda RHK'da hem tanı hem evreleme bakımından BT arteriografiden daha doğru sonuçlar vermektedir (30). BT ince kesitlere ve 3 boyutlu

yapılandırmaya olanak vermekte ve cerrahi planlama için de mükemmel bir araç olmaktadır (31,32)

MR, RHK hastalarında renal ven ve/veya vena kava inferior (VCI) tutulumunu değerlendirmek için kullanışlı bir görüntüleme yöntemidir. En önemlisi MRI (özellikle Grass tekniği gibi yeni teknikler kullanıldığında) büyük damarlardaki kan akımını ve vena kava inferiora trombus varlığını yada yokluğunu gösterebilir. USG de vena kava inferiordaki tümör trombusünü gösterebilir ancak MRI renal ven ve/veya vena kava inferior tutulumunu değerlendirmede kullanılan yöntemdir (33).

### **Histolojik alt türler:**

#### **Böbrek Tümörleri Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırması; (11)**

- Berrak hücreli RHK
- Multiloküler berrak hücreli RHK
- Papiller RHK
- Kromofob RHK
- Bellini toplayıcı duktus karsinomu
- Renal medüller karsinom
- Xp 11 translokasyon karsinomları
- Nöroblastomla ilişkili karsinom
- Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom
- RHK sınıflandırılmayan
- Papiller adenom
- Onkositom

**RHK'un Derecelendirilmesi ve Evrelendirilmesi:** Renal hücreli karsinomların derecelendirilmesi için yıllar boyu pek çok sistem önerilmiştir. Bunlardan Fuhrman ve arkadaşlarının önerisi en çok kabul göreni olmuştur (34,35). Bu sistem nükleer boyut, nükleer membranın düzensizliği ve nükleol belirginliği temeline dayanır. Klinik gidişle Fuhrman nükleer derecesi arasında berrak hücreli RHK'larda sıkı ilişki vardır, papiller ve kromofob RHK'da Fuhrman veya diğer derecelendirme sistemlerinin kullanımı ise tartışmalıdır, farklı çalışmalarda papiller RHK'da nükleer derece ve sağ kalım süreleri arasındaki ilişkiye ilişkin birbiri ile çelişen sonuçlar yayınlanmaktadır (36). Benzer olarak kromofob RHK da sıklıkla nükleer düzensizlikler göstermesine karşın genel yaşam beklentisi çok iyidir.

1969 yılında Robson ve arkadaşlarının oluşturduğu evreleme sistemi pek çok klinisyen ve patolog tarafından kullanılmış ve sağ kalımla eşgüdüm sağlamıştır (37). Geçen yıllarda UICC ve

AJCC işbirliği ile TNM oluşturulmuş ve bu sistemde böbrekte sınırlı tümörler evre 1 ve evre 2 olarak yer almışlardır (38). Bu evreleme 1997 ve 2002 (39) yıllarındaki düzenlemelerle bu günkü halini almıştır (**Tablo 1**). Bu evreleme sistemlerinin tümü ancak belirli tümör tiplerinde değerli prognostik bilgiler verir. Örneğin tümör boyutu ve kapsül dışı yayılım kromofob hücreli RHK’da berrak hücreli RHK da olduğu kadar fazla prognostik öneme sahip değildir. Kromofob hücreli RHK’lar ortalama 8-9 cm çaplarla renal kortikal neoplazilerin en büyükleri olmalarına karşın hastaliksız yaşam oranları yaklaşık % 90’dır, toplayıcı duktus karsinomlarında ise prognoz kötüdür (40).

Evre	Robson (1969)	UICC/AJCC/TNM (1988-1992)	UICC/AJCC/TNM (1997)	AJCC/TNM (2002)
1	Organa sınırlı	2,5cm $\geq$ , organa sınırlı	7cm $\geq$ , organa sınırlı	1a:4cm $\geq$ , organa sınırlı 1b:>4-7cm, organa sınırlı
2	Perinefrik doku yayılımı	2,5cm $\leq$ , organa sınırlı	7cm $\leq$ , organa sınırlı	7cm’den büyük, organa sınırlı
3	Renal ven, vena kava yada lenf nodunda tümör	3a:Gerota fasyası sağlam,perinefrik dokuya invaze 3b:Renal ven veya VCI da makroskopik tümör	3a:Gerota fasyası sağlam, perinefrik doku tutulmuş 3b:Renal vende veya diyafram altında VCI da makroskopik tümör 3c:Vena kavada diyafram üzerinde makroskopik tümör	3a:Gerota fasyası sağlam,perinefrik doku ve/veya renal sinüs yağ dokusu tutulumu var 3b:Renal ven veya segmental dallarında (muskuler) makroskopik tümör, veya diyafram altında VCI da makroskopik tümör 3c: Vena kavada diyafram üzerinde makroskopik tümör yada vena kava duvar invazyonu
4	Komşu organ yayılımı yada uzak metastaz	Gerota fasyasının ötesine tümör yayılımı	Gerota fasyasının ötesine tümör yayılımı	Gerota fasyasının ötesine tümör yayılımı

**Tablo-1:** Renal epitelyal tümörlerde evreleme (39,41)

**İmmunhistokimyasal özellikler:** İmmunhistokimya yöntemlerinin primer renal epitelyal tümörlerin farklı alt tiplerinin tanınmasında, veya metastatik tümörlerin renal kökenlerinin belirlenmesinde potansiyel rolleri vardır. RHK’da alt türlerin doğru olarak sınıflandırılması prognozlarındaki değişkenlik ve tedavinin düzenlenmesi açısından önemlidir. Çok sayıda antikor bu gibi durumlarda kullanım alanı bulmaktadır (42). Hematoksilen-eozin boyalı preparatların incelenmesi RHK’da sınıflandırmayı büyük oranda sağlamaktadır. Histomorfolojik olarak az sayıdaki, iç içe geçmiş daha az diferansiye tümörün sınıflandırılmasında ise immunhistokimyasal yöntemler yardımcı olabilmektedir. Çoklu antikor panellerinin boyanma paternlerinin incelenmesi ve bu verilerin hematoksilen-eozin preparatları ile birlikte değerlendirilmesi tercih edilen yöntemdir. Günümüzde RHK’un sınıflandırılmasında immunhistokimyasal yöntemler çok kullanılan yöntemler değildir. Ancak farklı alt türler için özgün tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile, morfolojik olarak karışıklık yaratan az orandaki RHK’un sınıflandırılmasında immunhistokimyasal

yöntemlerin faydalı olacağı düşünülmektedir. RHK'un temel bazı histolojik alt türlerinin immunhistokimyasal özellikleri şu şekildedir; Berrak hücreli RHK CD10 (+); Kromofob hücreli RHK Parvalbumin (+), C-kit (+); Papiller RHK AMACR (+), CD10 (+), RCC Ma (+); Toplayıcı duktus karsinomu UEA-1 (+)'dir. Farklı antikorları değişen oranlarda eksprese eden RHK alt türlerinin ayırıcı tanısında belirli bir grup antikorun panel halinde kullanılması tanıda doğruluğun artırılması için daha uygundur. RHK histolojik alt türlerinin bazı immunhistokimyasal özellikleri **Tablo-2**'de gösterilmiştir (43,44).

	Berrak hücreli	Kromofob	Papiller	Toplayıcı duktus karsinomu	Müs. tübüler içsi hücreli karsinom
Parvalbumin	-	+	*	*	*
c-kit	-	+	*	*	*
Ksp cadherin	-	+	*	*	*
CD10	+	-/+	+	-	-/+
Vimentin	+/-	-	+	+	*
AMACR	*	*	+	-	+
RCC Ma	*	*	+	-	*
UEA-1	*	*	-	+	*

**Tablo-2.** (+) ve (-) olarak belirtilen immunhistokimyasal belirleyiciler RHK'ların alt tiplerinde bu antikor eksprese etme bakımından büyük oranı temsil etmektedir. (\*: Üzerinde henüz çalışılmakta olan ve yeterli bilgi bulunmayan)

Sitokeratin 8, Sitokeratin 19, Sitokeratin 20, Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWK), Lektin gibi farklı antikorların da dahil edildiği panellerle ayırıcı tanıda doğruluk oranı daha da arttırılabilir (43,45).

**Prognostik faktörler:** Lokalize RHK'da klinik ve moleküler değişkenler tedavi sonrası kanser nüksüne ilişkin ipuçları verebilir. Lokalize RHK nedeniyle tedavi alan hastaların %30'unda lokal nüks yada uzak organ metastazı izlenmektedir. Başlangıçta bu hastalardaki lokalize tümöre rağmen yüksek metastaz oranları nefrektomi sırasında tespit edilmemiş mikrometastatik hastalığa işaretir. RHK genel olarak konvansiyonel antikanser tedavilere dirençlidir ve sistemik yayılımı olan RHK hastaları %15-30 arası cevap oranları bildirilen immunoterapi almaktadırlar (46,47).

Kısa zaman öncesine kadar hasta sağkalımında kullanılan prediktif parametreler tümör evresi ve derecesi gibi geleneksel parametrelerden oluşmaktaydı (48,49). Son zamanlarda, binlerce genin değişken ekspresyonunu inceleyen gen dizilimine dayalı çalışmalarda büyük sayılarda potansiyel prognostik belirleyiciler tanımlanmıştır (50).

İdealde, prognostik belirleyici yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip ve tekrarlanabilir özellikte olmalıdır. Organ yada kansere özgün olup prognoza ilişkin bilgi verebilir özellikte, hasta yönlendirmede ve klinik karar vermede kullanışlı olmalıdır.

RHK'da sağkalımı ön görmede en önemli faktör tümör evresidir (37,53). Tümör boyutu (54), histolojik alt tür ve hücre tipi (55) ile nükleer derece (54), DNA içeriği (56) ve nükleer morfometri (57) prognostik önemi olan diğer parametrelerdir. Bunlara ek olarak genel durum (58), kilo kaybı, hastalıklı geçen süre, metastazların sayısı ve tipi (59), vasküler invazyon (60) ve pek çok laboratuvar değeri; örneğin hemoglobin düzeyi, eritrosit sedimentasyon hızı ve alkalen fosfataz düzeyleri sağ kalımla ilişki açısından araştırılmaktadır. Lokalize hastalıkta tümörlü böbrek renal veninde periferik oranla artmış ferritin düzeyleri saptanmaktadır. Metastaz durumunda ferritin düzeyleri periferik kanda da yükselmektedir ve artmış düzeyleri prognoza etki etmektedir (61). Metallothionein yüksek dereceli ve daha agresif davranan RHK'larda daha yüksek oranda ekspresyone edilmektedir (62), üzerinde çalışılan diğer moleküllere örnek, ısı şok proteini-27 ve cox-2'dir (63,64,65). RHK'da tümörü infiltre eden mast hücre yoğunluğu da prognoza etkisi olabilecek bir diğer faktördür (66).

**Evre:** Pek çok çalışmada evre, sağkalıma ilişkin en sabit bağımsız prognostik faktördür (67,68). Evre ile sağkalım süresi arasında belirgin zıt ilişki vardır. Ayrıca böbreğe sınırlı RHK hastalarında sağkalım süresi metastatik olgulardan daha uzun olmaktadır (69). Renal ven, vena kava, renal pelvis, perinefrik yağ dokusu ve lenf nodu tutulumu prognoza ilişkin pek çok çalışmanın konusu olmuştur (59). Çoğu çalışma, renal ven invazyonunu sağkalım süresini değiştiren bir etken olarak göstermemektedir (56,68,70). Renal pelvis tümör invazyonu, biyolojik tümör davranışından çok tümör evresine etki eden bir durum olarak kabul edilir ve bu nedenle bağımsız prognostik faktör değildir (69). Vena kava inferior invazyonu konusunda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar yayınlanmıştır. Pek çok geniş serili çalışmada tümör trombüsü tamamen çıkarılabildiği için vena kava invazyonunun sağkalım süresini çok az etkilediği bildirilmektedir (71,72). Renal kapsül ve perinefrik yağ dokusunu invaze eden tümörlerde sağkalım süresi böbreğe sınırlı olanlardan daha kısadır (73,74). Lenf düğümü metastazının varlığı, sağ kalım süresini kısaltan şanssız bir durumdur (56,75). Bununla birlikte yapılan geriye dönük çalışmalarda lenf düğümü tutulumu olan hastaların lenf düğümü diseksiyonundan fayda görüp görmediği konusu ise tartışmalıdır (76). Metastatik hastalığı olan hastaların prognozları kötüdür ve sırası ile 5 ve 10 yıllık sağkalım oranları % 5-10 ve % 0-7 dir. Metastatik hastalığı olanlarda adjuvan tedavilerle prognozun düzeltilmeye çalışılmasına karşın genel sağkalım süresinde bir iyileşme sağlanamamaktadır. Metastatik hastalık durumunda sağkalım, akciğer metastazlarında daha iyi bir seyir gösterse de metastaz yerine değil, daha çok tümörün biyolojik agresif davranışına bağlı görünmektedir. Bunun yanı sıra metastazın kemiğe olduğu durumlarda hastalığın seyri daha kötü olmaktadır (77,78). Bazı seçilmiş vakalarda soliter metastatik lezyonların eksizyonu sağkalım süresini uzatabilmektedir (79). Retrospektif analizlerde metastatik hastalığı olan olgularda radikal nefrektominin hastalığın seyrine etkisi olmadığı bildirilmiştir (70).

**Derece:** Tümörle ilişkili en önemli prognostik faktör iyi bilinmekte olan patolojik evredir, ancak düşük yada orta evre RHK'larda hastalığın gidişi farklılıklar göstermektedir ve bu durum tümör ile ilişkili diğer prognostik faktörlerin araştırılmasını gerektirmiştir. Hand ve Broders (80) hastaları tümörlerin mikroskopik diferansiasyonlarına göre gruplandıran ilk araştırmacılar olarak, ve yüksek dereceli kanseri olan hastaların kanser nedeniyle yalnızca daha sıklıkla değil aynı zamanda daha erken öldüklerini de saptamışlardır. Daha sonraları RHK için çok sayıda dereceleme şeması ortaya çıkmıştır. Bunlar; bir kısmı 3, bir kısmı ise 4 dereceye ayrılan ve farklı çalışmalarda kullanılmış olan derecelendirme sistemleridir. Bunların çoğu nükleer özellikleri esas alırken, bir kısmı yapısal değişkenlerle desteklenmiştir. Bu sistemlerin her biri, en azından ortaya çıkaran araştırmacıya göre hastalığın gidişatına ilişkin bilgi vermektedir, ancak yine bu sistemlerin her birinde tekrarlanabilirlik ve gözlemciler arası değişkenlik problemleri vardır (81). Skinner ve ark. (68) ile Fuhrman ve ark. (35) RHK hücrelerinin nükleer morfolojilerini esas alan derecelendirme sistemlerini geliştirmişlerdir. Fuhrmanın 4 dereceli sisteminde prognostik olarak benzer özellikler gösteren 3 hasta grubu ortaya çıkmaktadır (35). Fuhrman derecelendirme sistemi tümörün en yüksek dereceli olduğu alanda çalışılır. Sistemin özellikleri **Tablo-3'**de özetlenmiştir.

Derece	Özellik
1	Nükleus yuvarlak ( 10 µm ), nükleol belirsiz yada yok
2	Nükleus hafif düzensiz ( 15 µm ), nükleol kolayca görülebiliyor
3	Nükleus çok düzensiz ( 20 µm ), nükleol büyük ve belirgin
4	Nükleus bizar ve multilobule ( >20 µm ),nükleol belirgin

**Tablo-3:** Fuhrman derecelendirme sistemi (35)

Pek çok çalışma, uzun dönem sağ kalım için nükleer derecenin bağımsız prognostik değerini göstermektedir (35,68,82). Tümör derecesi bağımsız bir prognostik faktör olmasına karşın derecelendirme sistemlerindeki üniformitenin olmaması ve göreceliliği nedeniyle evreden daha değerli değildir.

**Tümör tipi:** RHK'da prognoz histolojik alt tür ile yakından ilişkilidir. RHK'un en sık karşılaşılan türü berrak hücreli RHK'dur ve 5 yıllık sağ kalım bu alt türde %55-60 olarak bildirilmektedir (83,84,85). Toplayıcı duktus karsinomu (Bellini duktus karsinomu) tüm RHK'lar içinde %1'den az yer tutar, sıklıkla kortikal lenfatik tutulum ve tanı anında hastaların %45 kadarında metastaz vardır; neredeyse tümü yüksek derecelidir ve bu hastalarda 5 yıl yaşam bildirilmemiştir (86). Toplayıcı duktus karsinomu ile birlikte medüller bölge kaynaklı bir diğer RHK histolojik alt türü

de medüller RHK'dur (87). Genellikle genç yaşta ortaya çıkan bu hastalıkta başvuru anında hem böbrek içi hem böbrek dışı metastaz vardır ve bildirilen tüm hastalar cerrahi ve agresif kemoterapiye rağmen haftalar yada aylar içinde ölmektedirler. Kromofob ve papiller RHK birlikte RHK'ların %15-20'sini oluştururlar (81). Bu histolojik alt türlerin her ikisinin de 5 yıllık sağkalım oranları birbirine yakın olup %90 kadardır (36). İki düşük dereceli kanser olan multiloküle kistik RHK (MLKRHK) ve düşük dereceli toplayıcı duktus karsinomu ayrı iki alt türdür. Eğer varsa bile bunların RHK ve toplayıcı duktus karsinomu ile sitogenetik ilişkileri henüz tam olarak ortaya çıkarılmış değildir. MLKRHK %10'dan daha az solid alan içeren, diffüz olarak benzer boyutta kistlerden oluşan unifokal kistik bir neoplazmdır (88). Tümörler derece 1-2 berrak hücrelerden oluşur ve böbrek dışına yayılım olmaz (89). Düşük dereceli toplayıcı duktus karsinomuyla az sayıda çalışma vardır ve 13 hasta ile yapılan bir çalışmada 62 aylık takipte yalnızca 1 hasta kanser nedeniyle ölmüştür (90). İğsi hücreli (sarkomatoid yada pleomorfik undiferansiye) histoloji, bir hücre fenotipidir ve özel tip bir neoplazm değildir. Derece 4 kanser anlamına gelir ve RHK'ların çoğu tipinde gözlenebilir (91,92). İğsi hücreli tümörler diğer hücre tiplerine göre önemli derecede daha maligndirler (68,93), hastaların çoğu 1 yıl içinde ölür (91).

**Nükleer morfolometri:** Nükleer membranın düzeni/düzensizliği, nükleusun hematoksilen ile boyanma yoğunluğu ve alanının ölçülmesi gibi esaslara dayalı bu yöntemin RHK'da sağkalıma ilişkin bilgi verdiği pek çok çalışmada gösterilmiştir. Örneğin 5 yıllık sağ kalım süresinin nükleer alanı 35  $\mu\text{m}^2$  üzerinde olduğu tümörlerde önemli ölçüde daha az olduğunu (94,95) yada bunun aksi sonuçların bildirildiği yayınlar bulunmaktadır (96,97,98).

**DNA içeriği:** Flow sitometri ile tümör DNA içeriğinin ölçülmesi prognoza ilişkin veriler sağlayabilir ancak bu konuda yeterli çalışma yoktur.

**Vasküler boşluk invazyonu ve Anjiogenez:** Mikrodamar invazyonu ve immunhistokimya ile belirlenen mikrodamar yoğunluğu, artmış metastaz riski ile ilişkilidir ve bu durum nüks olasılığını arttırmakta ve sağkalım süresini azaltmaktadır. Mikrodamar invazyonu gösteren veya yüksek derecede anjiogenez gösteren RHK hastalarının metastaz için yüksek risk altında olduğunu bildiren çalışmalar vardır (60,99). RHK hastalarında anjiogenez artışı dolaşımdaki artmış endostatinlerle ilişkilidir (100). Timidin fosforilaz seviyeleri mikroskopik venöz invazyonla ilişkilidir, ve timidin fosforilazın yüksek düzeyleri organa sınırlı RHK'da prognostik faktör olabilir (98,101,102).

Genel olarak RHK'da hastanın sağkalımını öngörmeye kullanılan değişkenler yukarıda tanımlanan evre, derece gibi değişkenlerden oluşmakta iken (48,103), son zamanlarda potansiyel prognostik değeri olan proteinler, prognostik değerleri açısından çalışılmaktadır (50,104). Ki-67 ve p53 hücresel proliferasyonla ilişkilidir (105,106). RHK da Ki-67 sağkalımda bağımsız belirleyicidir (105,107), ve mutant p53'ün de bazı çalışmalarda bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (108,109).

Gelsolin, epitelyal hücre adezyon molekülü (EpCAM) ve vimentin, hücre motilitesi ve kanserin ilerlemesinde etkili olabilir. Gelsolin akciğerin küçük hücreli dışı kanserlerinde kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş olan hücre motilitesinde aktin ile ilişkili proteinlerden biridir (110). EpCAM pek çok kanserin yüzeyinde eksprese edilir (111,112). Vimentin RHK'da kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş bağımsız bir belirleyicidir (113,114).

CA9, CA12, ve PTEN büyümekte olan tümörlerin oksijenden fakir mikroçevreye adaptasyonlarında rol alan hipoksi yolağının önemli komponentleridir. Buna ek olarak CA9 ve CA12 nin aşırı sunumu VHL mutasyonunun bir sonucudur ve sporadik berrak hücreli RHK'ların %75 inde saptanır (115,116). CA9' un azalmış ekspresyonu sağkalım süresinin kısalması ile ilişkili bulunmuştur (117). PTEN, hücrel migrasyon, proliferasyon ve apoptozun düzenlenmesinde rol alan bir fosfatazdır (118,119). Her ne kadar PTEN mutasyonu RHK da ender olarak görülse de (120,121) PTEN delesyonu kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (120). Genomik ve proteomik verinin çok hızlı artmasıyla birlikte prognozla ilişkili immunhistokimyasal belirleyicilerin sayısı da sürekli olarak artmaktadır.

**Tedavi:** Son 10 yıl içinde farklı tedavi yöntemleri önerilmekte olsa da lokalize RHK'da hala en geçerli tedavi yöntemi olarak tümörün radikal eksizyonu uygulanmaktadır. Metastatik RHK'ların prognozu kötüdür ve ortalama yaşam süreleri 8 aydır . Bunlara karşı sınırlı tedavi seçenekleri vardır, çünkü RHK'lar bilinen komoterapötik ajanların çoğuna dirençlidir (51). Son yıllarda biyolojik cevap düzenleyicileri 1L-2 ve IFN $\alpha$  ile metastatik hastalığı olanların bir kısmında cevap alınmıştır. Ayrıca, günümüzde süren klinik deneylerde, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve trombosit kökenli büyüme faktörünü de içeren, bir multikinaz inhibitörü olan "Sorafenib" tek başına ya da interferonla kombine olarak metastatik RHK tedavisinde kullanılmaktadır (52). Metastatik RHK'un klinik davranışı değişkendir. Klinik ve biyolojik davranış konusunda öngörülebilir bulunabilmek için yeni prognostik belirleyicilerin bulunması çok önemlidir. Sonuç olarak, bu faktörlerin kullanılmasıyla hastalar için optimal tedavi seçenekleri yaratılabilir.

### **Çalışmamızda Araştırılan Parametreler**

**p53 yapı ve fonksiyonu:** p53, transkripsiyonun düzenlenmesinde rol alan DNA'ya bağlanan bir moleküldür. p53'ün hücre büyümesi ve proliferasyonunda hücre siklusunu DNA hasarı ortaya çıktığında durduran ve apoptozu indükleyen önemli bir kontrol noktası proteini olduğu düşünülmektedir. Pek çok malignitede p53 proteininin DNA'ya bağlanan kısmında



değişiklikler yaratan mutasyonlar bildirilmiştir. Bu değişiklikler uygun bağlanmayı ve hücre siklus regülasyonunu önler ve kontrol edilemeyen hücre büyümesiyle proliferasyon ve maligniteye ilerlemeye yol açar. Son çalışmalar p53 mutasyonlarının artmış tümör anjiogenezi ile ilişkili olduğunu da göstermektedir (122). p53'teki mutasyonlar proteinin yarı ömrünü uzatır. Bu durum immunhistokimyasal çalışmalar ile belirlenebilecek yüksek miktarlarda proteinin hücre içi birikimine sebep olur. Bunun bir sonucu olarak, p53 proteininin immunhistokimyasal tespitinin, mutasyona uğramış p53 genleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (123). p53 mutasyonlarının tespit edilebilme özelliği bu molekülün pek çok malignitede prognostik faktör olarak kullanışlı bir belirleyici olmasını sağlamıştır. Ürolojik literatürde p53'ün mesane karsinomlarında önemli prognostik faktör olduğunu bildiren çalışmalar vardır, p53 pozitif mesane tümörlerinin yüksek derece ve ileri evre, metastaz ve kısalmış sağ kalım süresi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (124).

RHK'lu hastalarda p53'ün prognostik etken olarak rolü tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar p53'ün bu hastalarda, hastalısız yaşam için önemli bir belirleyici olduğunu savunmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada p53 on yıllık hastalısız yaşam için bağımsız prognostik faktör kabul edilmiş ve p53 pozitif ve negatif hastalarda sırasıyla on yıllık hastalısız yaşam oranlarının %48 ile %78 olduğu bildirilmiştir (125). p53 proteini ekspresyonu metastatik durumlarda sağ kalım açısından fark göstermemektedir. Diğer taraftan bazı araştırmacılar ise p53'ün klinik veya histolojik prognostik faktörler ile ilişki göstermediği ve sağ kalım süresine etki etmediği yönünde sonuçlar bildirmiştir (104). Bir çalışmada p53 artışının RHK'da tümör baskılayıcı fonksiyonları olan VHL ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (126). Bir çalışmaya göre klinik ve farklı moleküler belirleyiciler ile çalışılan RHK olgularında tek değişkenli ve çok değişkenli analizler p53'ün nükste önemli ve bağımsız moleküler belirleyici olduğunu göstermiştir (126).

**P-glikoprotein (PGP) yapı ve fonksiyonu:** Kanser kemoterapisinde başarısızlığın en önemli nedenlerinden birisi intrinsik ilaç direnci yada tedavi sırasında ortaya çıkan çoklu ilaç direncidir. RHK intrinsik olarak kemoterapiye en dirençli tümörlerden birisidir (127). En çok çalışılan ve ilk bulunan ATP-bağımlı taşıyıcı proteinler ile ilişkili direnç mekanizması, hücre içi ilaç konsantrasyonunu azaltan PGP'dir. PGP, RHK'u da içeren bazı kanserlerde intrinsik ve kazanılmış dirençten sorumlu mekanizmalardan birisidir. Bu protein normal böbrekte proksimal tüp epitelinde vardır, ayrıca RHK'da diğer tümör tiplerinden daha yüksek oranda saptanmaktadır (128,129). Çoklu ilaç direnci (MDR) mikroorganizmalar ve kanser hücrelerinde farklı kimyasal yapıdaki ve farklı yollarla etki eden kemoterapötiklere karşı oluşan bir direnç mekanizmasıdır. Klasik MDR kemoterapötüğü hücre dışına taşıyarak farklı ilaçların hücre içi konsantrasyonunu etkin düzeyin altına düşüren birbirinden farklı bir protein grubudur. ABC (ATP bağlayan kısım) bu taşıyıcı proteinlerin önemli ve her zaman var olan bir ailesidir. Bu süper ailenin üyeleri prokaryotlarda ve memelilerde bulunmaktadır ve pompalama işlemi için enerji kaynağı olarak

ATP kullanırlar. PGP ve MDR proteinleri (MRP1 ve ilişkili proteinler) ABC süperaillesinin en büyük ve üzerinde en çok çalışılmış olan üyeleridir. Daha basit yapı ve fonksiyona sahip bakteriyel pompaların çözümlenmesi ve bu bilgilerin model olarak kullanılmasıyla daha kompleks yapıya sahip PGP ve MRP gibi taşıyıcı proteinlerin yapıları ve fonksiyonlarına ilişkin bilgiler son yıllarda artmıştır. Çoğunluğu doğal kaynaklı çok sayıda küçük molekül, MDR'ını PGP, MRP1 ve ilişkili proteinlerin fonksiyonlarını bloke ederek önlemek için çalışılmaktadır(130). Özellikle PGP (PGP; ABCB1) bazı ilaç ve moleküllerinin emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksikolojik davranışlarıyla yakından ilişkilidir (131).

**Survivin yapı ve fonksiyonu:** Survivin, apopitoz inhibitörleri (IAP) gen ailesine mensup 16,5 kDa'luk intraselüler bir proteindir (132). IAP molekülleri çinko-bağlayan katlantıya sahip 1 veya daha çok kopyası bulunan 70 amino asitlik bir dizi ile karakterlidirler (133,134). Buna bakulaviral tekrar (BIR) denir, apopitozu inhibe eder (134). Survivin IAP ailesi proteinlerinin en küçüğüdür ve sadece tek bir N-terminal BIR ucu ve uzun bir c-terminal alfa heliks burgusu olan dimerik yapıya sahiptir (135). BIR ucunun antiapoptotik işlev için önemli olduğu düşünülmektedir, burgulu uç olasılıkla tubulin yapıları ile etkileşir. Survivin molekülü birbirinden ayrı ve kimyasal olarak farklı üç yüzeye sahiptir, BIR ucundaki asidik ve bazik bölgeler ve alfa 6 üzerindeki helikal hidrofobik yüzey. Bu düzenlenme protein-protein yüzeylerinin etkileşimi için uygundur (134).

Kanserin ortaya çıkışında, genetik karmaşa ve multifaktörielliğin ardında iki genel süreç; hücre proliferasyonu ve hücre yaşam döngüsünün düzenlenmesinin kontrolü yer almaktadır. Survivin son zamanlarda tanımlanmış olan bu iki süreçte rol alan ve çoğu kanserde aşırı eksprese olan bir moleküldür. Survivin'in sinyal yolağındaki ekspresyon artışı ile ilgili çalışmalar kanser tanısında prognostik ipuçları verebilecek ve hastalığa ilişkin öngörü sağlayabilecek bilgiler verebilir ve tedavi aşamasında yeni düzenlemeler yapılmasını sağlayabilir (133).

Apopitoz olarak bilinen programlı hücre ölümü hücrenin kendine has biyokimyasal ve morfolojik özelliklerle intiharıdır (136). Esas olarak iki temel apoptotik yolak tanımlanmıştır: 1) Membran bağlı ölüm reseptörleri ile başlatılan ve 2) Çevresel streslerin oluşturduğu mitokondriyal yollar. Her iki yolak da bir grup interselüler sistein proteazların ardışık aktivasyonu ile devam eder. Bu proteazlara kaspazlar denir. Kaspazlar aktive olduktan sonra belirli zaman diliminde hücrenin enerji üretimini, genetik yapısını bozarlar ve hücre yapısını değiştirirler. Apoptoz gelişim sürecinde olan organizmalarda görevini tamamlamış ve ihtiyaç kalmayan yapıların ortadan kaldırılmasında önemli olduğu kadar, erişkin dokularında da hücre proliferasyon ve eliminasyonu arasındaki dengenin korunması için de merkezi önemi olan bir süreçtir. Apoptotik hücre ölümü yaşamsal hücre mekanizmalarında hücreler için bir kontrol noktasıdır. Genetik mutasyon taşıyan, mitotik mekanizmalarda anormallik gösteren veya enfeksiyöz ajanların indüklediği hasarların

bulunduğu hücrelerin ortadan kaldırılmasında apoptoz rol alır. Kanserde, yapılan çalışmalarda apoptoz bozukluğu ile ilgili artan sayıda delil oluşmaktadır. Azalmış apoptoz nedeni ile anormal olarak artmış yaşam süresi hücrelerde genetik mutasyonun sürmesini, dolaşıma katılıp uzak bölgelere gitmiş olan hücrelerin kemoterapötiklere dirençli hale gelmesini ve burada yaşamlarına devam etmelerini sağlamaktadır (133).

İnsanlarda survivin geni 17. kromozomda bulunur ve bu geninin ürünü olarak 3 ayrı protein izoformu bulunabilir (137). Bu izoformlar tam boy survivin, survivin-2B ve survivin- $\Delta$ Ex-3'dür. Tam boy survivin geni 3 intron, 4 eksondan oluşur. Survivin-2B intron 2'nin bir bölümünün alıkonulması ile, survivin- $\Delta$ Ex-3 ise ekson 3'ün okunmaması sonucu oluşur. Sekans farkları ile oluşan bu ayrı survivin izoformları arasında protein yapısında ve apoptoz inhibisyonu yeteneğinde belirgin farklar vardır. Survivin-2B de apoptoz yeteneğinde belirgin düşüşe neden olan BIR ucu yoktur, aynı şekilde survivin- $\Delta$ Ex-3 te ekson 3'ün bulunmaması da benzer biçimde BIR ucu bulundurmaz ancak bunda apoptozu baskılama yeteneği korunmuştur. Survivin ve varyantları arasında subselüler lokalizasyon farklılıkları bulunmaktadır. Survivin ve survivin-2B baskın olarak sitoplazmik yerleşimli iken survivin- $\Delta$ Ex-3 primer olarak nükleer yerleşimlidir. Survivin'in subtiplerinin oluşu ve bunların hücre içi yerleşimlerinin farklı oluşu apoptoz ve apoptoz inhibisyonu arasındaki dengeyi sağlıyor olabilir (134).

Mitotik genlerde tipik olduğu gibi, survivin'in de G2/M fazında ekspresyonu transkripsiyonel olarak kontrol edilir (138,139). Mitoz sırasında survivin karboksil uçlu alfa sarmalları ile mitotik iğın mikrotubullerine bağlanır. Survivin-mikrotubul etkileşimi sonrası negatif geri besleme ile survivin ekspresyonunda azalma, bunun sonucunda survivin'in antiapoptotik fonksiyonunda gerileme ve kaspaz-3 aktivitesinde artış olur (132). Survivin fonksiyonunun kesintiye uğraması hücre bölünme defektleri, multipolar mitotik iğlerin oluşması, ve polipoid ve multinükleer hale gelen hücrelerdeki sitokinezinin bozulması ile ilişkili görünmektedir (140,141). Ek olarak survivin'in mitozdaki rolü ile ilgili bir delil de farelerdeki bir çalışmadır; survivin geninin homozigot olarak disfonksiyonel olması ile 4-5 gün içinde embriyonik ölüm gerçekleşmiştir ve bu embriyolarda bozuk mikrotübül oluşumu ile başarısız sitokinezi izlenmiştir (142).

Apoptoz inhibitörleri (IAP) ailesi proteinleri en az 1 adet BIR ucu içerirler ve apoptozu inhibe etme yetenekleri ile belirlenirler. Bu kriterlere göre insan ırkında 8 IAP ailesi üyesi bulunmaktadır: **NIAP, cIAP1, cIAP2, XIAP, Ts-XIAP, ML-IAP, apollon,** ve **survivin**. İnsanlarda ve Drosophilalarda bir çok IAP'lerin kaspazları BIR uçları ile doğrudan inhibe ettikleri gösterilmiştir (143,144). Örneğin kaspaz-9'a XIAP'nin bağlanması ve onu inhibe etmesi üçüncü BIR ucu (BIR3) aracılığı ile olmaktadır, kaspaz-3 ve kaspaz-9 da BIR1 ile BIR3 arasındaki molekül içi bir alan üzerinden inhibe olmaktadır (145). Survivin'in apoptozu hangi mekanizma ile inhibe ettiği konusu henüz tam olarak açıklanmış değildir. Bazı araştırmacılar tarafından survivin'in

kaspaz3'ü doğrudan baskıladığından bahsedilmektedir; ancak survivin diğer IAP'lerdeki kaspaz-3'e doğrudan bağlanmayı sağlayan yapısal bileşenlerden yoksundur (146). Survivin kaspaz-9'a bağlandığına ilişkin varsayımlar olmasına karşın benzer problemler bu teori için de geçerlidir (147). Fonksiyonel bir survivin molekülü için 34. pozisyondaki treoninin fosforilasyonu kritik önem taşır, bununla birlikte survivin fosforilasyonu kaspaz-9'la etkileşimi başlatmayı açıklamada yetersiz kalmaktadır (148). Sonuç olarak survivin kaspazları muhtemelen intermediyer proteinler aracılığı ile dolaylı olarak inhibe etmektedir (134). Survivin IAP'lere bağlanan proapoptotik bir protein olan **Smac/DIABLO**'ya bağlanır ve bu şekilde bunların kaspazları inhibe etmesini önler (149,150). İnterfazda survivin Smac/DIABLO ile birlikte sitozolde lokalizedir. Survivinde Asp-71'deki bir nokta mutasyonu Smac/DIABLO ile kompleks oluşturmasını önler (134). Bunun sonucu olarak, survivinin taksol ile indüklenen apoptozu önleme yeteneği ortadan kalkar (151)

**Survivin düzenlenmesi:** Survivin Thr-34 pozisyonunda fosforillenmesi, fonksiyonunun düzenlenmesinde çok önemli bir noktadır. Siklin bağımlı kinaz olan **p34cdc-siklinB1** survivini fosforilleme yeteneği olan, bilinen yegane kinazdır ve survivinle birlikte mitotik aygıt üzerinde lokalizedir (152). İğ kontrol noktası aktivasyonu ile indüklenen p34cdc2'deki seviye artışı survivin ekspresyonunda artış ile sonuçlanır (153). Survivindeki bu artış RNA seviyelerindeki yada promotor aktivitedeki bir değişim sonucu değildir, bu da survivinin p34cdc kinaz ile posttranskripsiyonel stabilitesine işaret eder (134). Dahası, Thr-34→Ala (T34A) mutasyonu ile üretilen, fosforillenemeyen survivin ubiquitin-proteozom yolu (154) ile vahşi-tip survivinden (153) çok daha hızlı ortadan kaldırılmaktadır. T34A mutasyonu ile Thr-34 fosforilasyonu bozukluğu survivin-kaspaz-9 kompleksinin çözülmesine ve hücre bölünmesi esnasında bunu takibeden kaspaz-9 bağımlı apoptozun engellenmesine neden olur (147). Apoptoz hücre siklusunda ilerleyememenin sonucu olarak oluşmaz çünkü T34A mutasyonu gösteren survivini eksprese eden hücreler G2/M duraklaması göstermezler. Apoptoz mitoz girişte ve mitozda ilerlemede ortaya çıkar. Bu bulgular survivinin apoptozun baskılanmasında Thr-34 fosforilasyonunun kritik önemde olduğunu göstermektedir (134).

Neoplastik dokulardaki survivinin değişken ekspresyon mekanizmaları büyük oranda gizemini korumaktadır. Survivin primer efüzyon lenfomasında artmış ekspresyonu STAT3 (Transkripsiyon-3 aktivatörü) ile indüklenen apoptozu önler (155). Buradan kanserde sıkça gözlenen yapısal STAT3 aktivasyonu survivin "up-regülasyonuna" neden olabilir. Ayrıca, c-H-Ras onkoproteini ile survivin "up-regülasyonu" da bildirilmiştir. Bu hücre siklusunun ilerlemesinden ve hücre proliferasyonundan bağımsızdır. Bu da artmış survivin seviyelerinin basitçe Ras aracılı hücre siklus değişikliklerine sekonder artmış G2/M fraksiyonuna bağlı olmadığı fikrini desteklemektedir. Buna ek olarak Fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI3-K) ve MEK-1

inhibitörleri de survivin seviyelerini düşürür bu da intraselüler Ras yollarının survivin regülasyonuna dahil olduğunu düşündürmektedir (156).

**Normal dokularda survivin ekspresyonu:** Embriyonik gelişim sırasında survivin yüksek miktarda eksprese olmaktadır ve doku homeostaz ve farklılaşmasında önemli olabilir. Gen tam diferansiye dokularda büyük oranda sessizdir (134). IAP ailesi içinde survivin ekspresyonu erişkin dokularında en sınırlı olanıdır ancak apoptoz ile regüle olan pek çok fetal dokuda bulunmaktadır (157). Survivin eksprese eden normal erişkin dokuları arasında timus, CD34 + kemik iliği kök hücreleri (158) ve bazal kolonik epitel (159) ile gastrik mukoza (160) bulunmaktadır.

Çift pozitif insan timositleri (CD4 + / CD8 +) en yüksek düzeyde survivin eksprese eden hücrelerdir (161). Tekli pozitif matür periferel T hücrelerinde survivin ekspresyonu yoktur, bu durum T hücre diferansiasyonunda survivinin rolü olduğunu göstermektedir. Survivin CD34 + hematopoetik hücrelerdeki ekspresyonu tüm fazlarda olurken kanser hücrelerinde ekspresyon yalnızca G2/M fazında olmaktadır. Survivin normal olarak kolon mukozasında, hiperplastik, premalign yada malign kolon lezyonlarında da saptanmaktadır. Bu kolonik lezyonlarda survivin ekspresyonu bazal kolonik kriplerde, diffüz ve yoğun yada heterojen ekspresyon biçimleri ile farklılıklar göstermektedir. Midenin yüzey epitel hücrelerinde kuvvetli nükleer ekspresyon vardır. Esas hücreler ve paryetal hücreler nükleer ve sitoplazmik survivin ekspresyonu gösterir, gastrik mukozal bütünlüğün korunmasında survivin görev alıyor olabilir (134).

**Kanserde survivin ekspresyonu:** Survivin en önemli özelliklerinden biri normal dokularla kıyaslandığında kanserdeki değişken dağılım özelliğidir, embriyonik ve fetal dokularda yoğun biçimde eksprese olan survivin diferansiasyonunu tamamlamış çoğu erişkin dokuda eksprese olmamaktadır (132). Daha önce bahsedildiği gibi normal dokulardaki sınırlı ekspresyonunun aksine akciğer (162), meme (163), kolon (164), mide (165), özefagus (166), pankreas (167), mesane (168), uterus (169), over (170), büyük hücreli non-Hodgkin lenfoma (171), lösemiler (172), nöroblastom (173), melanom (174), melanom dışı deri kanserlerini (175) kapsayan bir dizi malignitede survivin aşırı ekspresyonu saptanmaktadır.

Günümüzde tıpta survivin ekspresyonunun immunhistokimyasal boyama yöntemleri ile saptanması karsinomlar, sarkomlar ve hematolojik maligniteleri de içeren farklı neoplazmlar için bu proteinin prognostik bir belirleyici olmasını sağlayabilir. Tümörlerde yüksek survivin oranları daha agresif ve invaziv klinik gidişle ilişkilidir, survivin ekspresyonu olmayanlara göre daha kötü bir prognoz ve kemoterapötik ajanlara daha zayıf yanıt beklenebilir. Survivin ekspresyonu daha büyük, az diferansiye, lenf nodu metastazı olan tümörlerle ilişkili bulunmaktadır. Karsinomlardaki aşırı ekspresyon ile ilişkili kötü prognoza, benzer biçimde sarkomlarda da negatif bir prognostik belirleyicidir (134). Büyük B hücreli lenfomada survivin kötü prognoz için bağımsız prognostik faktördür (171). Normal servikal mukoza ve laringeal epitelde survivin bulunmazken düşük yada

yüksek dereceli SIL ve rekürren laringeal papillomatozis gibi HPV enfeksiyonu ile ilişkili lezyonlarda da bu proteinin artmış ekspresyonu dikkat çekicidir, premalign lezyonlarda survivin ekspresyonu bu bölgelerde de izlenmektedir (176).

Mitozdaki rolü bir yana survivin proteininin kanserde overekspresyonu basitçe çoğalmakta olan artmış hücre sayısını yansıtmamaktadır. Yüksek (38,2/10 BBA) ve düşük (1,9/10 BBA) mitotik indeksli melanomda survivin ekspresyonları arasında fark saptanmamıştır (174). Buna ek olarak survivin yalnızca mitozda değil tipik olarak tüm kanser hücrelerinde eksprese olmaktadır (133).

**Amaç:** Bu çalışmada, RHK'da PGP, p53 ve survivin ekspresyonunun sağkalıma etkisi, tümör evresi ve derecesi ile ilişkisi, ayrıca survivin ekspresyonunun nüks, metastaz ve sağkalım ile ilişkisi araştırılmaktadır.

## **GEREC VE YÖNTEM**

**Hasta seçimi:** Çalışmamıza üniversitemizde 1986-2004 yılları arasında nefrektomi uygulanan ve RHK tanısı alan 176 hastadan dosyasına ve tümörlü bloklarına ulaşılabilen 104 hasta (72 erkek, 32 kadın; erkek/kadın oranı 2.25:1) dahil edilmiştir. Cerrahi uygulandığı sırada hastaların en genç olanı 28, en yaşlı olanı 78 yaşında olup yaş ortalaması 61'dir. Tüm olgular pT evreleri, tümör dereceleri ve histolojik alt türleri için tekrar incelenmiş ve güncel bilgilere göre gerekli değişiklikler yapılmıştır. pT evreleri AJCC/TNM 2002 sistemine (44), tümör dereceleri Fuhrman dereceleme sistemine (35) ve histolojik alt tür sınıflandırması DSÖ 2004 RHK sınıflandırmasına (34) sadık kalınarak olguların tümü incelenmiştir. Olguların yaş, tümör çapı, nüks-metastaz durumları ve takip süreleri ile ilgili bilgiler hasta takip dosyalarından elde edilmiştir.

**Kesitlerin hazırlanması ve immunhistokimya:** İmmunhistokimyasal inceleme için tümörü en iyi örnekleyen ve tümör dışı parankimi içeren %10'luk formalinde fikse edilmiş, parafine gömülü dokular seçilmiştir. Bu bloklardan hazırlanan 4µm kalınlıktaki kesitler poli-L-lizinli lamlara alınarak oda ısısında en az 24 saat bekletilmiştir. Hazırlanan kesitlerde survivin, p53 ve PGP antikoları streptavidin biotin immunperoksidaz yöntemi ile çalışılmıştır. Kullanılan antikolar ve dilüsyon oranları şöyledir; Survivin (Neomarkers Ab-6, PP-1629, dilüsyon 1/500 ), p53 (DBS Polyclonal Ab, RP 106, dilüsyon 1/40), PGP (Neomarkers MS-1760-S, dilüsyon 1/10 ). Survivin için normal mide mukozası, p53 için pozitifliği bilinen meme tümörü olguları, PGP için çevre böbrek parankimi tüp epiteli pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

İmmunhistokimyasal boyama işleminden önce oda ısısında en az 1 gün bekletilen kesitler 30 dakika 70° C sıcaklıktaki etüvde bekletildikten sonra ksilolde 20 dakika bekletilerek deparafinize edilmiştir. Daha sonra % 96'lık alkolden başlayarak % 70'lik alkole kadar alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilmiştir. Bu aşamalardan sonra survivin, p53 ve PGP antikoları

uygulanacak olan deparafinize kesitler immunhistokimyasal boyama öncesinde EDTA tampon solüsyonu içinde 60 dakika kaynatılarak epitopun açığa çıkması sağlanmıştır. Oda ısısında soğutulan kesitler pH 7.2 fosfat tuzu tamponunda (PBS) 5 dakika yıkanmıştır. Bu aşamadan sonra immun boyama Lab vision Autostainer 360 otomatik immunhistokimya boyama cihazı ile yapılmıştır.

- 1- Kesitlerin üzerine % 3'lük hidrojen peroksit damlatılarak endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiş ve böylece primer antikor için uygun duruma getirilmiştir.
- 2- Kesitler üzerine survivin, p53, PGP primer antikorları damlatılarak 60 dakika bekletilmiştir
- 3- PBS de 5 dakika yıkanmış ve bağlanmamış antikorlar uzaklaştırılmıştır
- 4- Kesitlere bağlayıcı biotinize sekonder antikor damlatılmış ve 10 dakika beklenmiştir
- 5- Kesitler 5 dakika PBS de yıkanmıştır
- 6- Streptavidin peroksidaz solüsyonu kesitler üzerine damlatılarak 5 dakika beklenmiştir
- 7- Peroksidaz aktivitesini göstermek için kromojen olarak 3,3'diaminobenzidinetetraklorür (DAB) solüsyonu kesitler üzerine damlatılmış 20 dakika beklenmiş ve sonra kesitler çeşme suyunda yıkanmıştır. Tüm kesitlerde zıt boyanma sağlamak için Mayer'in hematoksilen boyası kullanılmıştır. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra % 70'lik etil alkolden % 96'lık etil alkole kadar serilerden, izopropilen-ksilol solüsyonu ve ksilolden geçirilerek şeffaflanması sağlanmış ve Entellan (Merck) damlatılarak lamelle kapatılmıştır.

#### **İmmunreaktivitenin değerlendirilmesi:**

**Survivin:** Olgulara uygulanan survivin immunhistokimyasal yöntemiyle kahverengi nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma olumlu olarak kabul edilmiştir. Kareli okülerle 1000 hücre sayılarak olumlu boyanan tümör hücrelerinin sayısı yüzde (%) olarak belirtilmiştir. Özgün olmayan boyanmaların tümü negatif kabul edilmiştir. Ayrıca nükleer boyanmanın şiddetine göre 1, 2 ve 3 pozitif olmak üzere üç, sitoplazmik boyanma ise diffüz ve fokal olmak üzere iki alt grupta değerlendirilmiştir. Bu şekilde survivin ile olumlu boyanan hücrelerin oranı % ve boyanma şekli olarak belirtilmiştir (177).

**p53:** Olgulara uygulanan p53 immunhistokimyasal yöntemiyle tümör hücrelerinde kahverengi nükleer boyanma olumlu olarak kabul edilmiştir. Kareli okülerle 1000 hücre sayılarak olumlu boyanan hücrelerin oranı % olarak belirtilmiştir (178). Eşik değeri olarak %10 kullanılmıştır (179).

**PGP:** PGP ile teknik nedenlerden dolayı 104 olgunun sadece 34 ünde pozitif kontrol sağlanmış ve değerlendirmeye alınmıştır. PGP immunhistokimyasının değerlendirilmesinde sitoplazmik boyanma olumlu olarak kabul edilmiştir (180,181).

**İstatistiksel değerlendirme:** İstatistiksel işlemler, Windows için SPSS (Scientific Package for Social Sciences) programı ile bilgisayarda yapılmıştır. Bağımsız prognostik faktör olduğu bilinen tümör evresi ve kötü prognozla doğrusal ilişkisi bilinen tümör derecesi; nüks-metastaz durumu, ve

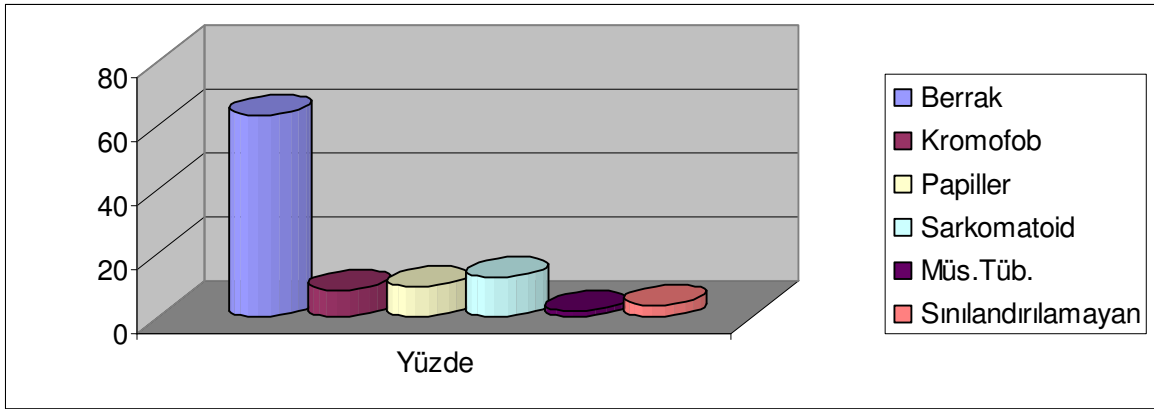
diğer değişkenler (survivin, p53, PGP) tek değişkenli Oneway ANOVA ve Chi-Square testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre 0.05'e eşit veya küçük olasılık katsayıları istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ( $p \leq 0.05$ ).

Spearman korelasyon testi ile iki sayısal değişken arasında doğrusal ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Gruplar arasındaki yaşam fonksiyonları Cox regresyon analizi ile test edilmiştir. Tüm parametrelerin sağkalım oranları belirlenerek sağkalım eğrileri çizilmiş ve gruplar arasındaki yaşam yüzdelerinin istatistiksel oranları araştırılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan parametreler çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile değerlendirilmiştir.

## **BULGULAR:**

Çalışmamızda incelenen 104 olgunun 72'si (%69) erkek, 32'si (%31) kadın olup takip süreleri 0-220 ay arasında değişmektedir ve ortalama takip süresi 46 aydır. 62 (%59.6) hastada takip süresi içinde nüks-metastaz izlenmemiştir, 42 (%40.4) hastada ise nüks-metastaz gelişmiştir ve nüks-metastaz gelişen hastaların 35'i (%83) ölmüştür, nüks-metastaz gelişen geri kalan 7 olgu ise sağdır. Takip süresi sonunda tüm olguların 56'sı (%53.8) halen hayatta iken 48'i (%46.2) ise ölmüştür.

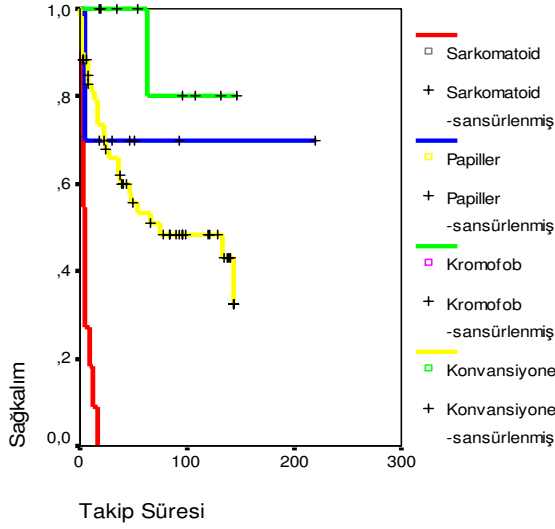
Olguların 66'sı berrak hücreli, 9'u kromofob hücreli, 10'u papiller, 13'ü sarkomatoid, 2'si müsinoz tübüler işçi hücreli ve 4'ü sınıflandırılmayan RHK'dur (**Resim-1**).



**Resim-1:** Olguların histolojik alt türlere göre oransal dağılımı

Histolojik alt türlerin sağ kalım süresi ile olan ilişkisine bakıldığında; sarkomatoid RHK'lar ortalama 5.5 ay ile en kısa sağkalım süresine sahip kısmı oluştururken en uzun sağ kalım süresine sahip kromofob RHK'ların ortalama sağ kalım süresi 74.3 aydır. Berrak hücreli RHK'ların 50.0 ay ve papiller RHK'ların ise ortalama 49.1 ay sağkalım süreleri vardır. RHK'larda histolojik alt tür ile sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p = 0.001$ ) (**Resim-2**).





**Resim-2:** Histolojik alt tür-sağkalım ilişkisi (p=0.001)

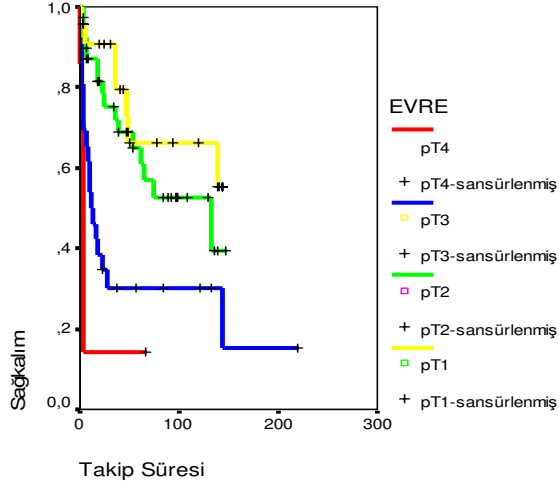
Olguların 26'sı evre 1 (Berrak hücreli 19, kromofob 1, papiller 3, sarkomatoid 1, sınıflandırılmayan 2), 43'ü evre 2 (Berrak hücreli 28, kromofob 7, papiller 5, sarkomatoid 1, sınıflandırılmayan 2), 27'si evre 3 (Berrak hücreli 15, kromofob 1, papiller 2, sarkomatoid 8, müsinoz tübüler içsi hücreli 1) ve 8'i evre 4 (Berrak hücreli 4, sarkomatoid 3, müsinoz tübüler içsi hücreli 1) tümör olarak saptanmıştır.

Olguların Fuhrman derecelerine göre dağılımları ise; 29'u (%27.8) derece 1, 43'ü (% 41.3) derece 2, 17'si (%16.3) derece 3, 15'i (%14.4) derece 4 şeklindedir ve evrelere göre derece dağılımları **Tablo-4'**te gösterilmiştir.

Derece \ Evre	D1	D2	D3	D4	Toplam
pT1	8(%7)	15(%14.4)	2(%1.9)	1(%0.9)	<b>26(%25)</b>
pT2	17(%16.3)	18(%17.3)	6(%5.7)	2(%1.9)	<b>43(%41.3)</b>
pT3	3(%2.8)	8(%7)	7(%6.7)	9(%8.6)	<b>27(%26)</b>
pT4	1(%0.9)	2(%1.9)	2(%1.9)	3(%2.8)	<b>8(%7)</b>
<b>Toplam</b>	<b>29(%27.8)</b>	<b>43(%41.3)</b>	<b>17(%16.3)</b>	<b>15(%14.4)</b>	<b>104</b>

**Tablo-4:** Evre-derece dağılımları

Tümör evresi ile sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0.001). Tümör evresi yükseldikçe ortalama sağkalım süresinin azaldığı gözlenmiştir. (**Resim-3**)



**Resim-3:** Tümör evresi-sağkalım ilişkisi ( $p < 0.001$ )

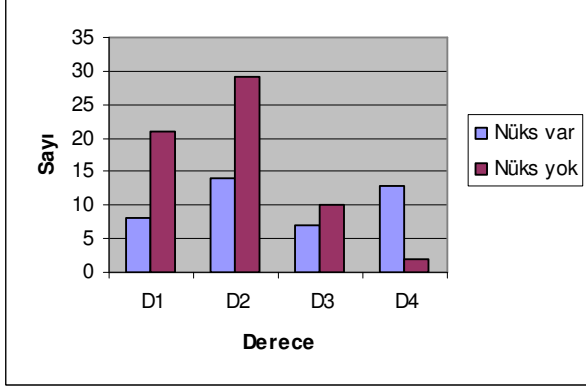
İki adet müsinöz tübüler iğsi hücreli RHK olgusu hariç tutularak yapılan analizlerde geriye kalan 102 hastanın 22'sinde tanı sırasında metastatik hastalık olduğu, 31'inde tanıdan en az bir yıl sonra metastatik hastalığın ortaya çıktığı ve 49'unda tanı sonrası metastaz izlenmediği tespit edilmiştir. Metastatik hastalık ile derece arasında istatistiksel olarak güçlü bir ilişki vardır. Herhangi bir zamanda metastatik hastalığın ortaya çıkma oranları derece ile doğrusal olarak artmaktadır; sırası ile derece 1,2,3 ve 4 RHK'lar için bu oranlar %39.2, %45.2, %52.9 ve %93.3 şeklindedir ( $p < 0.001$ ) (**Tablo-5**).

	Metastatik olmayan olgular*	Geç metastaz**	Erken metastaz***	Toplam
<b>Derece1</b>	17(%16.3)	2(%1.9)	9(%8.6)	28(%26.9)
<b>Derece2</b>	23(%22.1)	11(%10.5)	8(%7.6)	42(%40.3)
<b>Derece3</b>	8(%7.6)	5(%4.8)	4(%3.8)	17(%16.3)
<b>Derece4</b>	1(%0.9)	13(%12.5)	1(%0.9)	15(%14.4)
<b>Toplam</b>	49(%47.1)	31(%29.8)	22(%21.1)	104

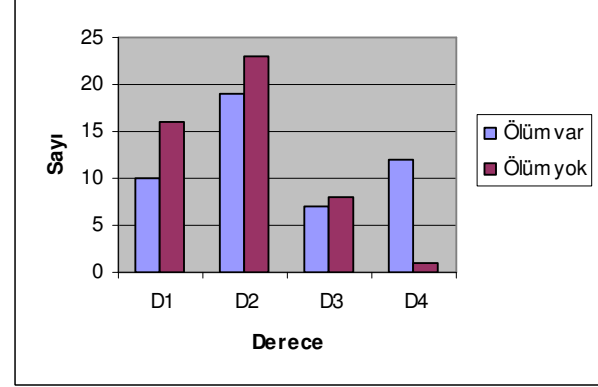
**Tablo-5:** Derece-metastatik hastalık ilişkisi

\*Cerrahi sırasında ve takip süresi boyunca metastaz yok,\*\*Cerrahi sonrası 1 yıldan sonra metastaz saptanan,\*\*\*Tanı anında metastazı da olan (Tanıdan sonra 1 yıl içinde metastaz, tanı anında var olan saptanamayan mikrometastatik hastalık olarak kabul edilmiştir)

Derece arttıkça nüks-metastaz oranı artmaktadır ( $p=0.001$ ), (**Resim-4**). Derece arttıkça ölüm oranı da artış göstermektedir ( $p=0.011$ ), (**Resim-5**).

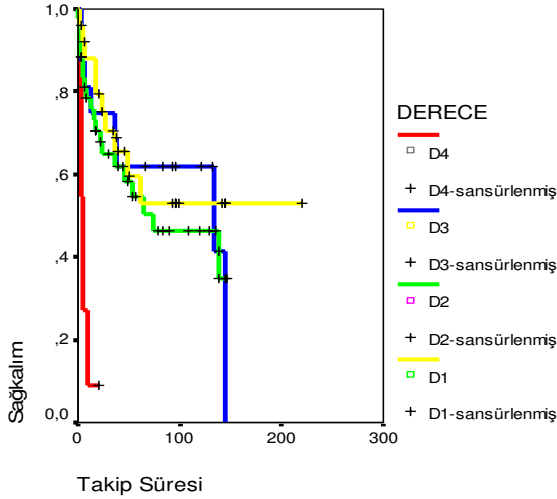


**Resim-4:** Derece-nüks/metastaz ilişkisi



**Resim-5:** Derece-sağkalım ilişkisi

Derece ile sağ kalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p=0.001$ ) (**Resim-6**).

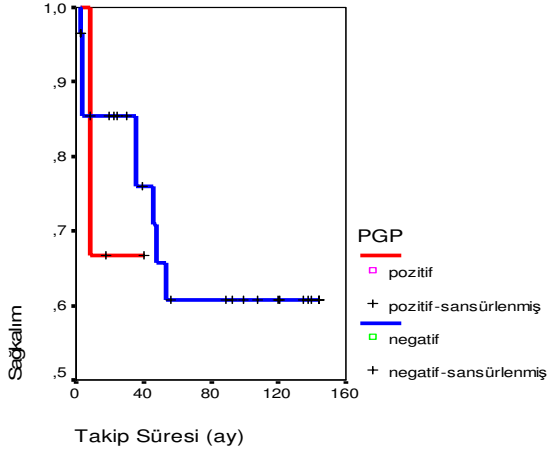


**Resim-6:** Tümör derecesi-sağkalım ilişkisi ( $p=0.001$ )

PGP ile yapılan immunhistokimyasal boyamada 104 olgunun 34 ünde pozitif kontrol sağlanmış ve bu olguların 3 ünde tümörde PGP ekspresyonu saptanmıştır (**Resim-7**). Bu sonuçlarla yapılan istatistiksel analizlerde PGP ile histolojik alt tür, derece ve evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Berrak hücreli RHK olgularının 22'sinin 2'si, kromofob hücreli RHK'ların 3'ünün 1'i pozitif boyanmıştır ve pozitif kontrolü olan papiller RHK'ların sayısı 3, sarkomatoid RHK'ların sayısı 4, müsinöz tübüler iğsi hücreli ve sınıflandırılmayan RHK'ların sayısı ise birer adet olmak üzere 2 olarak saptanmıştır ve bu 9 olgu PGP ile boyanmamıştır. PGP eksprese eden tümörlerin

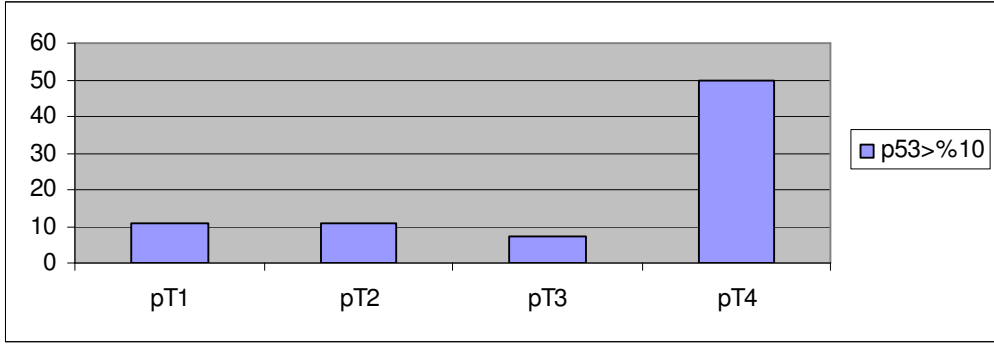
evrelere göre dağılımı ise evre 1, evre 2 ve evre 3 olguların her biri için 1'er adettir. Ayrıca PGP antikoru ile olumlu boyanan 3 tümörün de nükleer derecesi 2'dir.

PGP pozitifliği ve hastaların sağ kalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır **(Resim-8)**.



**Resim-8:** PGP-sağ kalım ilişkisi

p53 ile olguların 16'sı boyanmaz iken 88 olguda değişen yaygınlık ve yoğunlukta nükleer boyanma tespit edilmiştir. Genel olarak boyanma, tek tek tümör hücrelerinde, daha çok ise küçük hücre gruplarında izlenmiştir. Tümör hücrelerinin geniş alanlarda boyanması ender bir boyanma biçimi olarak izlenmiştir **(Resim-9, Resim-10)**. Tümörlerin %10'dan az boyanma gösterenlerinin sayısı 74 (%71.2), %10'dan fazla boyanma gösterenlerinin sayısı 14'tür (% 13.5) ve 16 olguda boyanma olmamıştır **(Resim-11, Tablo-6)**. p53 ile histolojik alt tür ve tümör derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. 26 evre1 tümörün 3'ü, 43 evre 2 tümörün 5'i, 27 evre 3 tümörün 2'si ve evre 4 olan 8 tümörün 4'ü p53 ile %10'un üzerinde boyanma göstermiştir; tümör evresi arttıkça p53 immunpozitiflik oranları artmaktadır. %10 değerinin üzerinde yaygınlıkta nükleer boyanma gösteren tümörlerin p53 immunreaktivitesi ile evresi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0.014).

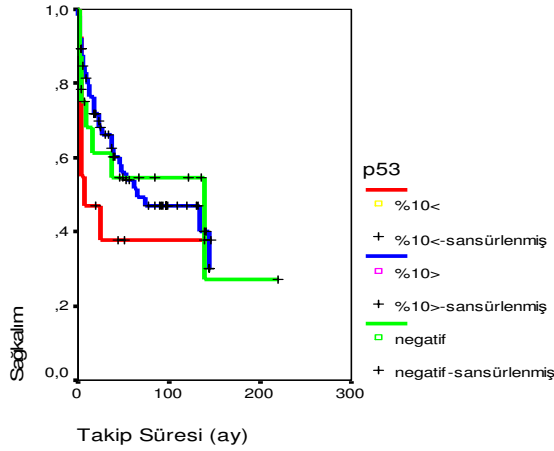


**Resim-11:** Evrelere göre eşik değeri üzerinde p53 pozitifliği

	pT1	pT2	pT3	pT4	Toplam
<b>Negatif</b>	2(%1.9)	5(%4.8)	8(%6.7)	1(%0.9)	16(%15.3)
<b>%10&gt;</b>	21(%20.1)	33(%31.7)	17(%16.3)	3(%2.8)	74(%71.1)
<b>%10&lt;</b>	3(%2.8)	5(%4.8)	2(%1.9)	4(%3.8)	14(%13.4)
<b>Toplam</b>	26(%25)	43(%41.3)	27(%25.9)	8(%7.6)	104

**Tablo-6:** p53-evre ilişkisi. p53 pozitifliği tümör evresi ile ilişkili bulunmuştur (p= 0.014)

p53 pozitifliğinin sağ kalımla ilişkisi saptanmamıştır (**Resim-12**).



**Resim-12:** p53-sağ kalım ilişkisi

Survivin 49 olguda (%47.2) değişen yaygınlık ve yoğunlukta eksprese edilmiş (**Resim-13**, **Resim-14**), 55 olguda (%52.8) ise boyanma gözlenmemiştir (**Tablo-7**).

Survivin	Sayı	Yüzde
Neg.	55	52.9
%5>	3	2.9
%5-25	10	9.6
%26-50	13	12.5
%51-75	7	6.7
%75<	4	3.8
Sitoplazmik	12	11.5
<b>Toplam</b>	<b>104</b>	<b>100</b>

**Tablo-7:** Olguların survivin boyanma yaygınlıklarına göre sayısı ve oranları

Berrak hücreli RHK'larda %36, kromofob hücreli RHK'larda %88, papiller RHK'larda %60, sarkomatoid RHK %61 oranında survivin pozitifliği saptanmıştır. Survivin ile boyanma berrak hücreli RHK'larda berrak hücreli olmayanlara göre daha yoğun olmaktadır ( $p \leq 0.001$ ) (**Tablo-8**). Survivin ekspresyonunun kromofob RHK'da, sarkomatoid, papiller ve berrak hücreli türlere göre daha yüksek olduğu izlenmiştir ( $p=0.001$ ).

Survivin	Berrak	Kromofob	Papiller	Sarkomatoid	Müsinöz Tüb.	Toplam
<b>Negatif</b>	42	1	4	5	0	<b>52</b>
%5>	0	0	0	3	0	<b>3</b>
%5-25	5	1	2	1	1	<b>10</b>
%26-50	7	1	3	2	0	<b>13</b>
%51-75	5	0	0	1	1	<b>7</b>
%75<	2	2	0	0	0	<b>4</b>
Sitoplazmik	5	4	1	1	0	<b>11</b>
<b>Toplam</b>	<b>66</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>100</b>

**Tablo-8:** Histolojik alt tür-survivin boyanma yoğunluğu ( $p < 0.001$ ). Dört adet sınıflandırılmayan RHK tabloda gösterilmemiştir.

Survivin ekspresyonu, böbreğe lokalize 69 olgunun 33'ünde (%47.8) saptanmış, ileri evre 35 olgunun ise 17'sinde (%48.5) izlenmiştir. Survivin ekspresyonunun evre ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir (**Tablo-9**).

Survivin	pT1	pT2	pT3	pT4	Toplam
<b>Neg.</b>	13(%12.5)	23(%22.1)	14(%13.4)	5(%4.8)	55(%52.8)
<b>%5&gt;</b>	0	1(%0.9)	1(%0.9)	1(%0.9)	3(%2.8)
<b>%5-25</b>	2(%1.9)	2(%1.9)	6(%5.7)	0	10(%9.6)
<b>%26-50</b>	4(%3.8)	6(%5.7)	3(%2.8)	0	13(%12.5)
<b>%51-75</b>	1(%0.9)	3(%2.8)	2(%1.9)	1(%0.9)	7(%6.7)
<b>%75&lt;</b>	2(%1.9)	2(%1.9)	0	0	4(%3.8)
<b>Sitoplazmik</b>	4(%7)	6(%7)	1(%7)	1(%7)	12(%7)
<b>Toplam</b>	26(%25)	43(%41.3)	27(%25.9)	8(%7.6)	104

**Tablo-9:** Survivin ekspresyonu-evre ilişkisi

Survivin ekspresyonu derece 1 RHK'larda %61, derece 2 RHK'larda %23.6, derece 3 RHK'larda %35.7, derece 4 RHK'larda %50 oranında saptanmıştır. Derece 1 RHK'da survivin ekspresyonu en yüksek oranda olurken bunu sırasıyla derece 4, derece 3, derece 2 tümörler takip etmektedir (p=0.001) (**Tablo-10**).

Survivin	Derece1	Derece 2	Derece 3	Derece 4	Toplam
<b>Neg.</b>	10(%9.6)	29(%27.8)	9(%8.6)	7(%6.7)	<b>55(%52.8)</b>
<b>%5&gt;</b>	0	0	0	3(%2.8)	<b>3(%2.8)</b>
<b>%5-25</b>	1(%0.9)	6(%5.7)	2(%1.9)	1(%0.9)	<b>10(%9.6)</b>
<b>%26-50</b>	7(%6.7)	3(%2.8)	1(%0.9)	2(%1.9)	<b>13(%12.5)</b>
<b>%51-75</b>	5(%4.8)	0	1(%0.9)	1(%0.9)	<b>7(%6.7)</b>
<b>%75&lt;</b>	3(%2.8)	0	1(%0.9)	0	<b>4(%3.8)</b>
<b>Sitoplazmik</b>	3(%2.8)	5(%4.8)	3(%2.8)	1(%0.9)	<b>12(%11.5)</b>
<b>Toplam</b>	<b>29(%27.8)</b>	<b>43(%41.3)</b>	<b>17(%16.3)</b>	<b>15(%14.4)</b>	<b>104</b>

**Tablo-10:** Survivin-derece ilişkisi (p=0.001)

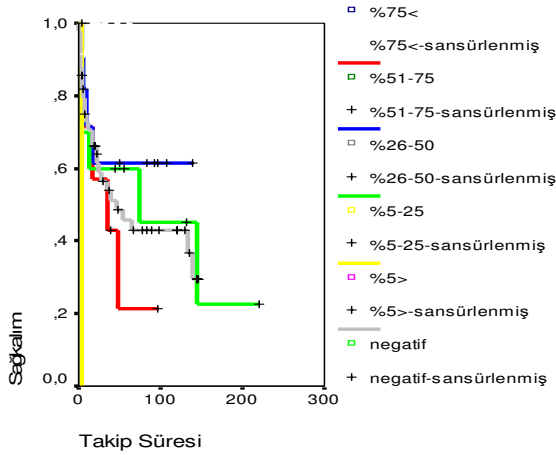
İki adet müsinoz tübüler işsi hücreli RHK olgusu hariç tutularak yapılan analizlerde geriye kalan 102 hastanın 22'sinde cerrahi sırasında metastaz olduğu, 31'inde cerrahiden en az 1 yıl sonra metastaz ortaya çıktığı ve 49'unda metastatik hastalık izlenmediği tespit edilmiştir. Metastatik

hastalık izlenen 53 hasta ve metastatik hastalığı olmayan 49 hastada survivin ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmıştır (p=0.02) (**Tablo-11**). Tanı sırasında metastazı olan RHK olguları ile cerrahi tedaviden en az 1 yıl sonra metastaz gelişen hastalar arasında ise survivin ekspresyonu yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır.

	Negatif	%5>	%5-25	%26-50	%51-75	%75<	Sitoplazmik	Toplam
<b>Metastaz yok</b>	24 (%23.5)	0	3 (%2.9)	10 (%9.8)	1 (%0.1)	3 (%2.9)	8 (%7.8)	49 (%48.0)
<b>Metastaz var</b>	29 (%28.4)	3 (%2.9)	7 (%6.8)	3 (%2.9)	6 (%5.8)	1 (%0.1)	4 (%3.9)	53 (%52.0)
<b>Toplam</b>	53 (%52.0)	3 (%2.9)	10 (%9.8)	13 (%12.7)	7 (%6.8)	4 (%3.9)	12 (%11.7)	<b>102</b> (%100)

**Tablo-11:** Olguların survivin ekspresyonlarına göre metastatik hastalık durumları (p=0.02)

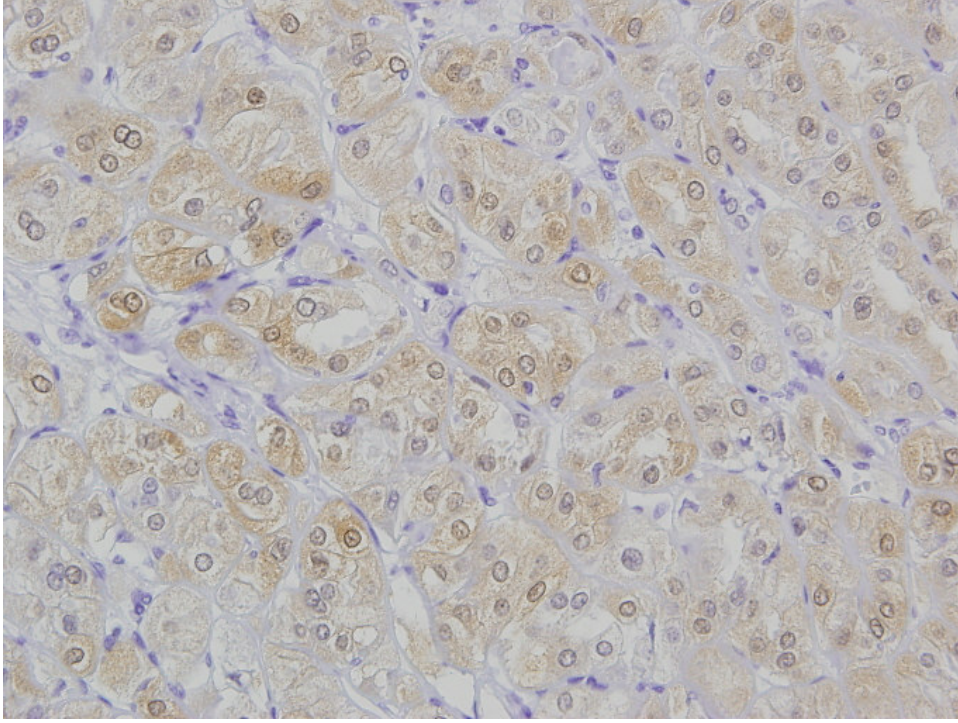
Survivin ekspresyonu ile sağkalım süresi arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (**Resim-15**).



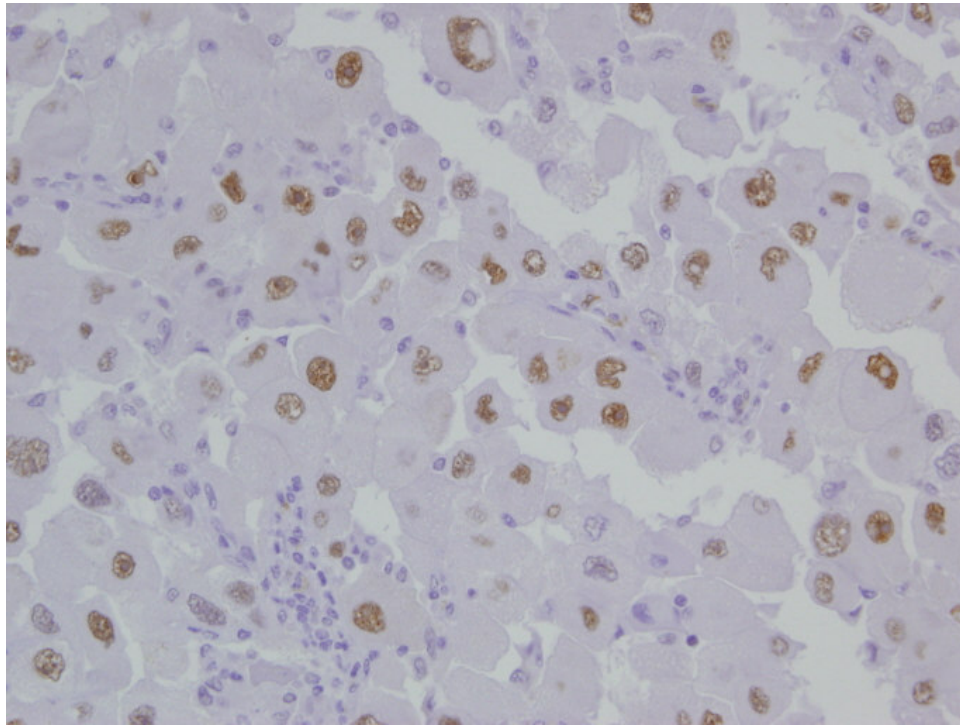
**Resim-15:** Survivin-sağkalım ilişkisi

Patolojik evre, tümör derecesi ve histolojik alt türü içeren çok değişkenli analizde yalnızca tümörün patolojik evresi bağımsız prognostik faktör olarak saptanmıştır (p=0.008).

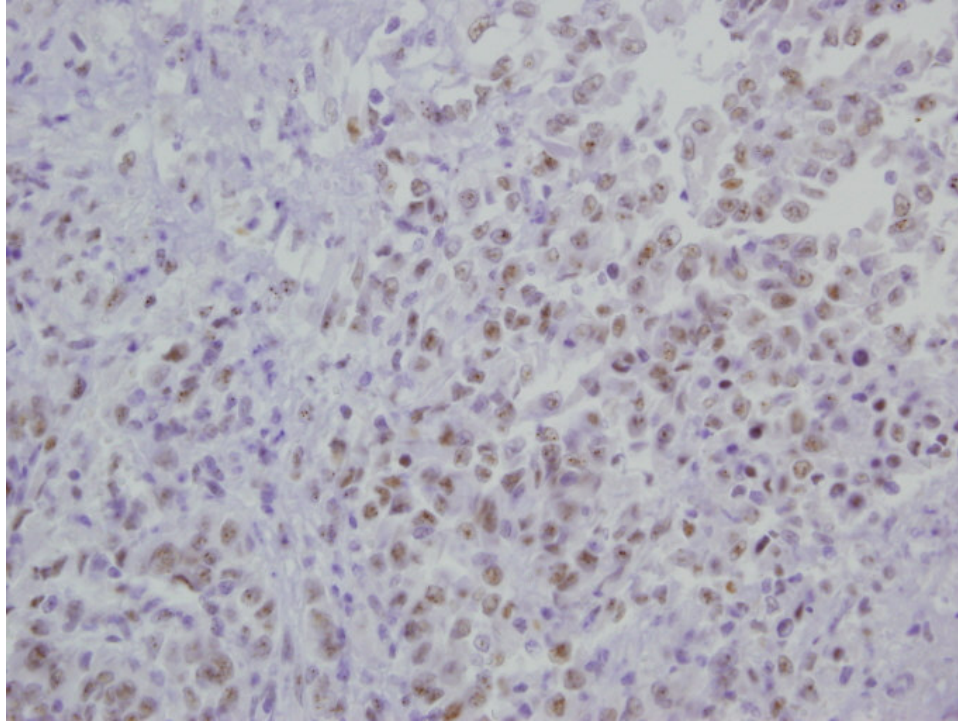




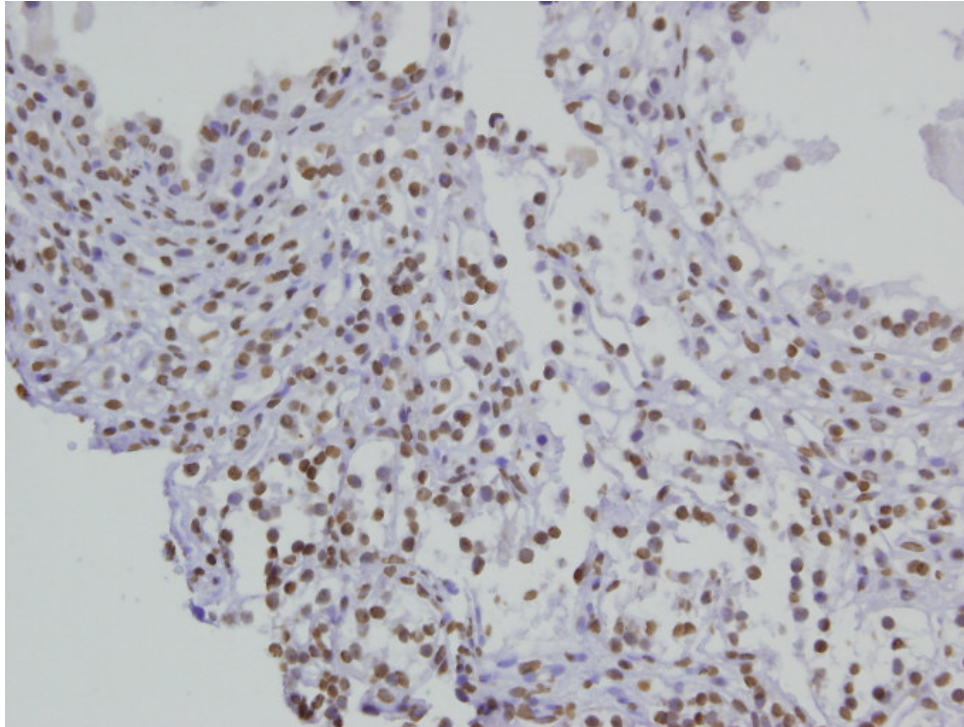
**Resim-7:** Yaygın sitoplazmik PGP pozitifliği



**Resim-9:** Kuvvetli nukleer p53 pozitifliği

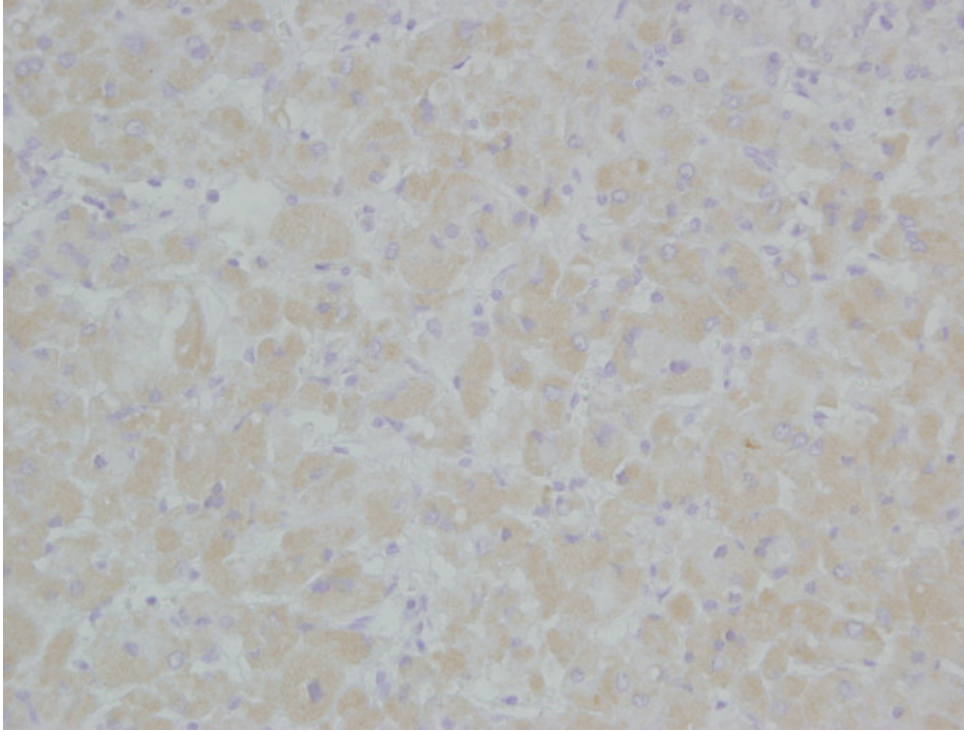


**Resim-10:** Nükleer p53 pozitifliği



**Resim-13:** Nükleer survivin pozitifliği





**Resim-14:** Sitoplazmik survivin pozitifliği

## **TARTIŞMA**

Günümüzde ilerleyen görüntüleme teknikleri ile geçmiş yıllardakine oranla daha erken evrede saptanmakta olsa da, hastaların bir kısmında tanı sırasında ve bir o kadarında ise cerrahiden sonra olmak üzere toplamda tüm olguların %60 kadarında nüks ve/veya metastatik hastalık saptanmaktadır. Gelişen tanı ve tedavi yöntemleri ile RHK hastalarında 5 yıllık sağkalım oranlarında belirgin iyileşme olmasına karşın, metastatik hastalarda sağkalım %90 oranında 3 yılın altında olup ortalama 8 aydır.

Metastazı olmayanlarda yeterli tedavi olarak görülen cerrahi tedavi yöntemi, metastazı olan hastalarda çoğu zaman yetersiz kalmakta ve ek tedavilere gereksinim duyulmaktadır. RHK kullanımında olan pek çok antikanser ilaçlara, bir kısmı bilinen mekanizmalarla dirençlidir. Bu hastalar için özellikle IL-2 ve IFN- $\alpha$ 'nın öne çıktığı biyolojik cevap düzenleyicileri, tedavi seçenekleri olarak denenmektedir. Halen üzerinde çalışılmakla birlikte bu tedavilerin RHK hastalarının hangi alt gruplarında daha etkin olduğu bilinmemektedir. Üzerinde çalışılmakta olan yeni tedavi yöntemleri, bilinen metastazı olmayan ancak nüks ve/veya metastaz geliştirecek olan ve tüm RHK'ların %30 gibi bir oranını kapsayan RHK olgularının tedavisinde erken kullanıma başlanması ile daha etkili olabilecek midir? Prognostik belirleyici için daha önce tanımladığımız özellikler ile bir takım proteinler bir yandan kanserin biyolojik davranışını önceden tahmin etmemizi sağlayıp diğer yandan da tedavide hedef olarak kullanılabilir yeni yöntemler olabilir mi sorusu gündeme gelmektedir.

Kötü prognozlu RHK alt grupları kısmen iyi tanımlanmıştır. Bunlar temel olarak, uzun yıllardır kullanılmakta olan morfolojik bir takım değişkenler ile son yıllarda üzerinde çalışılmakta olan, hücresel protein ürünlerinin ekspresyon edilmesi yada edilmemesi temeline dayanan bir takım proteinlerdir. Kötü prognozlu RHK'larda prognostik faktörlerle hastaların alt gruplara ayrılması için prognostik faktörlerin kullanımı ve yenilerinin keşfedilmesi çalışmaları gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır. Bu çalışmalar RHK hastalarında tedavi seçiminde daha uygun yöntemlerin geliştirilmesi ve tedavinin etkinliğinin artırılmasını sağlayacaktır.

RHK'da prognozu belirleyen temel değişkenlerden patolojik evre ve Fuhrman nükleer derecesi yanı sıra çalışmamızda p53 ve survivin ekspresyonunun prognozla ilişkisi ile genel olarak malign tümörlerde geniş kullanım alanı bulan tubulin ilişkili mekanizmalarla etki gösteren ve örneğin vinkristin, vinblastin ve paklitaksel dirençte önemli rolü bulunan PGP ekspresyonu araştırılmıştır.

Kanser kemoterapisinde başarısızlığın en önemli nedenlerinden birisi intrinsik ilaç direnci yada tedavi sırasında çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasıdır. RHK intrinsik olarak kemoterapiye dirençli tümörlerden birisidir (127). PGP'nin fizyolojik rolü tam olarak anlaşılamamış olsa da,

ABC ailesinin üyesi PGP çeşitli hidrofobik ilaçları ve peptidleri ATP bağımlı mekanizmalarla hücre içinden dışına atmaktadır. Vinka alkaloidleri, antrasiklinler ve epodofilotoksinler de PGP ile hücre dışına taşınmaktadır (182). PGP'nin salgılandığı karaciğer, ince barsak gibi bazı organlarda da böbrekte olduğu gibi, özellikle epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde eksprese olduğu saptanmıştır (183,184). Bir yandan eksikliği nedeniyle olası karsinojenlerin hücre dışına atılamaması ile kanser gelişiminde etkili olabileceği düşüncesi, diğer yandan artmış ekspresyonu ile intrinsik ve kazanılmış kemoterapi direncindeki etkisi nedeni ile PGP bir çok araştırmanın konusu olmaya devam etmektedir.

Bak M. Jr ve arkadaşlarının (185) bir çalışmasında kemoterapiye dirençli 17 RHK'un 10'unda PGP ekspresyonu saptanmış ve kemoterapiye duyarlı 4 tümörün hiçbirinde PGP ekspresyonu saptanmamıştır. Bu çalışmada kemoterapiye direncin RHK'da yaygın bir olgu olduğu ve bu direncin büyük oranda PGP ile ilişkili olduğu, PGP immunhistokimyasının RHK'da çoklu ilaç direncinin gösterilmesi ve kemoterapiyi yönlendirmede faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda tümör dışı böbrek parankiminde pozitif kontrolün sağlanmadığı tüm olgular çalışma dışı bırakılmış ve geriye kalan 34 olgunun 3'ü pozitif 31'i ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Bak M Jr ve arkadaşlarının çalışmalarının aksine bizim çalışmamızın sonuçları, RHK'da PGP'nin kemoterapiye dirençte etkili olduğu ancak kemoterapi direnç testi yapılamamasına karşın kemoterapi direncinin RHK'da büyük oranda PGP dışı mekanizmalarla oluştuğunu düşündürmektedir.

Duensing S. ve arkadaşlarının (186) çalışmasında, ileri evre RHK'larda PGP ekspresyonunun olmaması yada %1'in altında olmasının hastalıksız yaşam süresinin uzunluğu ile (ortalama 27 ay), ve %1'in üzerinde PGP ekspresyonu bulunan RHK'larda ise kısa (ortalama 4 ay) hastalıksız sağ kalım süresi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu veriler PGP ekspresyonunun sağkalım süresini öngörme açısından önemli olduğunu göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda PGP ile hastalıksız sağkalım süresi arasında ilişki saptanmamıştır.

Kemoterapötik direncinin hücre kültürlerinde uygulamalı olarak test edilmesini ve immunhistokimyasal olarak PGP'nin araştırılmasını içeren bir çalışmada Ferguson RE ve arkadaşları vinka alkaloidleri ve paklitaksele fonksiyonel direnci ve PGP ile olan ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada tümörde, aynı hastanın tümör dışı parankimine oranla PGP ekspresyonu daha düşük düzeylerde bulunmuş ve vinkristin direncinde PGP'nin baskın rol oynadığı gösterilmiştir (181).Tubulini hedef alan ve farklı kanser tiplerinde en başarılı ajanlar olmasına rağmen paklitaksel ve vinblastine RHK'da yanıt sırası ile %0 ve %0-16 olarak bildirilmektedir (187). Bizim çalışmamızda 34 olgunun yalnızca 3'ünde PGP ekspresyonunun saptanması, bir çalışmada Derebek E. ve arkadaşlarının da belirttiği gibi tümörün diferansiasyonu ile ilişkili olabilir. Derebek E. ve arkadaşlarının (188) çalışmasında metastatik RHK olgusunda

primer kitle düşük dereceli berrak hücreli RHK olup PGP eksprese ederken daha az diferansiye akciğer metastazı ise PGP yönünden negatif bulunmuştur.

Pek çok çalışmada yüksek dereceli tümörlerde PGP ekspresyonunun düşük dereceli olanlara göre daha düşük miktarlarda olduğu gösterilmiştir (189,190). Çalışmamızda PGP eksprese eden tümörlerin her 3'ünün de derece 2 olması ancak istatistiksel olarak PGP ekspresyonu ile tümör derecesi arasında anlamlı ilişki saptanmaması yüksek dereceli tümörlerde PGP'nin daha az eksprese edildiği sonucu ile uyumlu olabilir.

Çalışmamızda RHK'ların büyük oranda PGP eksprese etmediğini gözlemledik. Bize göre PGP'nin RHK'da kemoterapötik direncinin tek belirleyicisi olmadığını söylemek doğrudur. Gelecek çalışmalarda PGP dışında olası diğer direnç mekanizmaları açıklandıkça sözkonusu proteinlerin inhibitörleri yada bu proteinlerin substratı olmayan, RHK'da etkin kemoterapötik ajanlar geliştirilebilecektir.

Fizyolojik p53 proteininin hücre siklusunun DNA hasarı nedeniyle durdurulmasında ve apoptozda rolü vardır, ayrıca p53 geninde mutasyon insan kanserlerinde en sık saptanan tek gen mutasyonudur (191). Akciğer, meme, prostat ve mesane kanserleri gibi bir çok kanserde mutant p53 proteininin varlığının kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar vardır (109,192,193). RHK'da bildirilen farklı sonuçlar nedeniyle mutant p53'ün prognostik önemi tam olarak aydınlatılamamıştır (194,195). p53 proteininin kontrol noktası olarak önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Hücre büyümesi ve proliferasyonunu siklusu durdurarak kontrol eder ve DNA hasarı onarılamazsa apoptozu indükler (196). Bir çok malignitede, p53 proteininin DNA'ya bağlanan kısmında değişiklikler oluşturan ve hücre siklus bozuklukları ile sonuçlanan mutasyonlar tanımlanmaktadır. Mutasyonlar normalde oldukça kısa olan p53'ün yarı ömrünü immunhistokimyasal yöntemlerle saptanabilecek kadar uzatır. Sonuç olarak p53 mutasyonlarının saptanabilir olması hücre siklusunda önemli rolü olan bu proteinin prognostik değerinin araştırılmasına olanak vermektedir.

p53'ün RHK'daki prognostik değeri ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmektedir. Bazı gruplar p53'ün hastalısız sağkalım süresini belirlemede önemli olduğunu söylemektedir. Örneğin bir çalışmada p53 pozitif ve negatif RHK'ların 10 yıllık yaşamları sırası ile %48 ve %78 olarak bildirilmiştir (125). Shvarts O ve arkadaşlarının (126) çalışmasında RHK'da p53 pozitifliği hastalısız sağkalımda bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Warburton HE ve arkadaşlarının çalışmasında p53 ekspresyonunun RHK'da bağımsız prognostik faktör olduğu (197), tümörde p53 ekspresyonunun klinik gidişi öngörmeye faydalı olduğu ve kötü prognozla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (107,198). Bazı çalışmalarda ise primer tümörde p53 ekspresyonu ile evre ve derece arasında ilişki saptanmamış ancak histolojik alt türler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Zigeuner R ve arkadaşlarının (199) yaptığı bu

çalışmada papiller RHK'un diğer türlere göre büyük oranda daha fazla p53 eksprese ettiğini ancak prognozla ilişkili olmadığını, p53 eksprese eden berrak hücreli RHK'un p53 eksprese etmeyenlere göre daha fazla metastaz yaptığını saptamışlardır. Ne var ki berrak hücreli RHK'ların da yalnızca %12'si p53 pozitifdir. Ljungberg B ve arkadaşlarının (200) çalışmasında p53 immunreaktivitesinin ilerlemiş ve az diferansiye tümörlerde daha sık rastlanan bir bulgu olması, p53 ekspresyonunun RHK'da geç bir bulgu olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada papiller tümörlerin %42 ile en yüksek oranda, diğerlerinin ise yaklaşık olarak %15 oranında p53 eksprese ettikleri bulunmuştur. Bir başka çalışmada yalnızca kromofob RHK'larda p53 mutasyonları olduğu bildirilmiş ve RHK'da p53 mutasyonu saptanmamıştır, bu durum papiller RHK'daki yüksek p53 pozitifliğinin mutasyon sonucu değil başka bir yoldan p53'ün aşırı ekspresyonu olduğunu telkin etmektedir (200,201). Aynı çalışmada Contractor H ve arkadaşları (200) p53 ekspresyonunun kromofob ve papiller RHK'da prognostik değerinin olduğu ancak berrak hücreli RHK'da prognozla ilişkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır. Bunun aksine Moch ve arkadaşları (195) berrak hücreli RHK'da p53'ün bağımsız prognostik faktör olduğunu saptamışlardır. Bu bulgulara zıt olarak bir çok araştırmacı bizim çalışmamızdakine benzer çıkan sonuçlarla p53'ün klinik bazı verilerle ilişkili olduğunu ancak prognozla ilişkili olmadığını saptamışlar (201) yada herhangi bir histopatolojik veya klinik veri ve sağkalımla ilişkili olmadığını saptamışlardır (104). Bot FJ ve arkadaşlarının (202) çalışmasında ise olguların %32'si p53 pozitif bulunmuş ancak p53 pozitifliğinin prognostik değerinin olmadığı saptanmıştır. p53'ün RHK'da araştırıldığı bir diğer çalışmada da tümörün morfolojik bulguları prognostik değer açısından p53'ün önüne geçmiş, patolojik evre hastalısız sağkalımı öngörmeye en önemli değişken olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda p53 immunreaktivitesinin histolojik alt tür ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmamasına rağmen papiller RHK %20 pozitiflik gösterirken kromofob ve berrak hücreli karsinomlarda sırası ile %11 ve %9 p53 pozitifliğinin saptanması prognostik değeri olmadığı halde papiller RHK'da p53 pozitifliğinin daha yüksek oranda olduğunu bildiren Ljungberg B (200) ve Zigeuner R(199) ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumludur.

Çalışmamızda p53 pozitifliği derece ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermese de derece 4 tümörlerde derece 1, 2 ve 3 tümörlerin iki katından fazla bir oranda pozitiflik göstermesi p53 mutasyonları ile diferansiyasyon kaybı arasında bir paralellik olduğunu, evre ile p53 ekspresyonu arasında saptanan ilişki ise ileri evre tümörlerde p53 mutasyonlarının daha sık olduğunu göstermektedir. Doğal p53'ün 6-30 dakikalık yarı ömrü ve çok daha az miktarda üretiliyor olması bu proteini immunhistokimyasal yöntemlerle saptamamızı önler. İmmunhistokimyasal olarak saptanabilir düzeyde nükleer p53 birikimi, 17p13.1 bölgesini etkileyen mutasyonların bir sonucudur. Normal hücre siklusundaki kontrol işlevinden yoksun mutant p53 tümörigenezde önemli bir rol oynamakta, ancak RHK'da tümör hücrelerinin çoğunluğunun p53

negatif olması bu kanserlerde belirtilen mutasyonun pek de sık olmadığını göstermektedir. Antiapoptotik mekanizmalarından birini kaybeden ve hücre siklus ve proliferasyonunu kontrol edemeyen neoplastik hücrenin hızla çoğalması farklı, kimisi daha az diferansiye hücrelerin ortaya çıkmasına imkan sağlamaktadır. Bu durumda invazyon yeteneği daha fazla olan tümör hücrelerinin ortaya çıkması olasıdır. Böyle bir olasılığı göz ardı etmemek lokal nüks yada uzak metastaz yeteneğinin p53 mutasyonu ve protein disfonksiyonu ile bir noktada ilişkili olduğu anlamak açısından önemlidir. p53 eksprese eden RHK'ların tümünün nüks ve/veya metastaz yapmadığı, metastatik RHK'ların büyük kısmının p53 eksprese etmediği dikkate alınırsa bu konuda yapılan çalışmaların birbirinden farklı sonuçlar vermesi şaşırtıcı olmaktan çıkar. p53 mutasyonunun metastaz yapma kapasitesi sağlamaktan çok, metastaz yapmak için bilinen engelleri aşma yeteneği kazanan hücrenin hayatta kalma olasılığını artırdığı düşünülebilir. Bu nedenle metastatik veya lokal nüks yapmış progresif olguların az bir kısmı p53 ekspresyonu gösterirken büyük bir çoğunluğu göstermemektedir. Her ne kadar evre ile doğrusal ilişki gösterse de, çalışmamızın sonuçları bize p53 pozitifliğinin RHK'da prognostik değerinin olmadığını göstermektedir. RHK'da hastaliksız sağkalım süresi ile p53 pozitifliği arasında doğrudan ilişki olmaması, bu gen ürününün prognostik belirleyici olmadığını göstermektedir. RHK'da p53'ün prognostik değeri ile ilgili bu farklı sonuçların sebebi tümör heterojenitesi, kullanılan antikörlerin özgünlüğünde ve immunhistokimyasal tekniklerdeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Apoptoz inhibitörleri ailesi içerisinde yer alan survivinin iyi bilinen antiapoptotik işlevi dışında mitozda ve mikrotübül stabilitesinde de önemli rolü olduğu gösterilmiştir (133,203,204). Survivin diferansiye erişkin dokuların büyük kısmında eksprese edilmez. 1997 yılında ilk defa antiapoptotik ve mitotik bifonksiyonel yapısı tanımlandıktan sonra pek çok malignitede çalışılmış ve neredeyse tüm malign tümörlerde aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir. Survivin tümörde seçici olarak eksprese ediliyor olması ve ekspresyonunun yüksek dereceli, hızlı ilerleyen, kemoterapiye daha dirençli tümörlerle ve kısa sağkalım ile ilişkili olduğunun bildirilmesi, bu proteini farklı kanser türleri için potansiyel prognostik belirleyici yaparken normal erişkin dokularında değil de sadece tümörde eksprese ediliyor olması survivini aynı zamanda tümöre spesifik tedavilerin geliştirilmesinde hedef yapmaktadır (133).

RHK'da prognoz ve sağkalım ile survivin ekspresyonu arasındaki ilişkiyi konu alan araştırmaların sayısı az olmakla birlikte üst üriner sistem, prostat ve mesaneyi kapsayan bir dizi çalışmada survivin ve tümörün biyolojik davranışındaki ilişki açısından farklı sonuçlar bildirilmektedir.

Shariat SF ve arkadaşlarının (177) yaptığı çalışmada prostat kanserlerinde survivin ekspresyonu Gleason skoru ilişkili bulunmuş ve agresif tümörlerin agresif olmayan tümörlere oranla daha çok survivin eksprese ettikleri sonucuna varılmıştır. Survivin ekspresyonunun prostat



karsinomunda prognozu belirleyen önemli değişkenlerden biri olan Gleason skoru ve bölgesel lenf nodu metastazı ile ilişkili olması agresif davranışı belirlemede önemli olduğunu göstermektedir.

Mesane de ürotelyal karsinomda Lehner R ve ark (205). yaptığı çalışmada istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamış olsa da nükleer survivin pozitifliği gösteren ürotelyal karsinom olgularının negatif olanlara göre hastalıksız yaşam süreleri daha uzun bulunmuştur.

Nakanishi K ve ark. (206) üst üriner sistemde ürotelyal karsinomda survivinin sağkalımla ilişkisini araştırdıkları çalışmada survivin ekspresyonunun klinikopatolojik verilerle ilişkisinin olmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda mesane de prognostik değeri bilinen p53 ile de ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada noninvaziv ve invaziv tümörler arasında ayrı ayrı yapılan analizlerde survivinin yalnızca invaziv tümörlerde PCNA ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Kosari F ve ark. (207) ile Parker S ve ark. (208) yaptıkları gen ekspresyonu analizine dayalı bir çalışmada agresif davranışlı primer ve metastatik berrak hücreli RHK'da gen ekspresyonu açısından anlamlı farklılık izlememişlerdir. Metastaz temel alınarak agresif ve nonagresif olarak gruplandırılan berrak hücreli RHK'lar arasında ise survivin gen ekspresyonları arasında önemli fark saptanmıştır. Survivin ekspresyonu hastalıksız sağkalım ile zıt ilişkili saptanmıştır.

Parker S (208) ve Kosari F (207) ile ark. yaptıkları bir diğer çalışmada ise survivinin immunhistokimyasal olarak kullanılabilen prognostik bir belirleyici olabileceği sonucuna varmışlardır. %2 değerinin üzeri yüksek düzeyli survivin pozitifliği olarak değerlendirilmiş ve hastalıksız sağkalım 1, 5, 10 yıl için sırasıyla %77, %43, %36 olarak bulunmuştur. Düşük survivin düzeyli hastalarda ise 1, 5, 10 yıllık hastalıksız sağkalım sırasıyla %96, %87, %81 olup, arada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Mahotka C ve ark. (209) nın çalışmasında, berrak hücreli RHK'lardan daha az agresif olduğu bilinen kromofob ve papiller RHK'lar ile berrak hücreli olanlar arasında survivin ekspresyonu açısından fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda da pozitiflik oranı açısından histolojik alt türler arasında fark saptanmamıştır ancak boyanma şiddeti berrak hücreli RHK'larda diğer türlerden önemli derecede daha az bulunmuştur.

Çalışmamızda survivin ile sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır. Ancak metastaz geliştiren ve geliştirmeyen gruplar arasında yapılan analizlerde metastaz yapan primer tümörlerde survivinin sitoplazmik pozitifliği daha sıklıkta izlenmiştir. Buna ek olarak başvuru anında metastatik hastalığı olanlar ile lokalize RHK tanısı alan ve daha sonra metastaz geliştiren tümörler arasında ise survivin pozitifliği açısından bir fark saptanmaması bu proteinin daha agresif tümör davranışını yansıtabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar survivinin RHK'da prognostik değerinin sınırlı olduğunu, tümörün biyolojik davranışına ilişkin bir takım ipuçları verse de metastatik potansiyeli tam olarak yansıtmadığını göstermektedir. RHK'da potansiyel prognostik belirleyicilerin bulunması için yapılan çalışmalarda survivin ekspresyonu ve

prognostik değeri konusunda sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Birbirine zıt sonuçların bildirildiği kısıtlı sayıdaki bu yayınlar, tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğu RHK’da, prognoza ışık tutabilecek ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için hedef olabilecek bu proteinin daha fazla çalışılmasını gerektirmektedir. Tam diferansiye olmuş erişkin dokularının büyük kısmında eksprese edilmeyen ancak çoğu kanserde saptanabilen survivin kansere spesifik ilaçların geliştirilmesinde önemli bir basamak olabilir. RHK’da survivinin prognostik değerinin belirlenebilmesi için gelecekte yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Özet olarak literatürden edindiğimiz bilgiler ve çalışmamızdan çıkan sonuçlar bize RHK’da tek bir molekülün prognoza ilişkin yeterli bilgi veremediğini göstermektedir. Tümör evresi ve derecesi nüks ve/veya metastatik hastalıkla ilişki en önemli prognostik belirleyiciler olma özelliklerini korumaktadırlar. RHK’larda düşük dereceli ve erken evre tümörlerdeki yüksek risk gruplarını ve en uygun tedaviyi belirlemek önemlidir. Bunun için en uygun yöntem, günümüzde halen üzerinde çalışılmakta olan ve gelecekte yapılacak çalışmalarla değeri daha net biçimde ortaya çıkacak olası prognostik belirleyicileri kullanmak olabilir. Bunları bir panel halinde kullanıp, yüksek risk gruplu hastaların belirlenmesi ve belki de PGP pozitifliği belirlenen tümörlerde geleneksel tedavi yöntemlerine bu proteinin substratı olmadığı belirlenen antikanser ajan “patupilon”un (epothilone B, EPO906) eklenmesi söz konusu olabilir.

## **KAYNAKLAR**

- 1) Dal CP, Gaeta J, Huben R, Li FP, et al. Renal cortical tumors. Cytogenetic characterization. *Am J Clin Pathol.* 1989; 92: 408-414.
- 2) Kirkali Z, Lekili M. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol.* 2003; 13: 433-438.
- 3) Dekernion JB, Ramming KP, Smith RB. The natural history of metastatic renal cell carcinoma: a computer analysis. *J Urol.* 1978; 120: 148-152.
- 4) Atzpodien J, Lopez Hanninen E, Kirchner H, Bodenstern H, et al. Multiinstitutional home-therapy trial of recombinant human interleukin-2 and interferon alfa-2 in progressive metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1995; 13: 497-501
- 5) Fyfe G, Fisher RI, Rosenberg SA, Sznol M, et al. Results of treatment of 255 patients with metastatic renal cell carcinoma who received high dose recombinant interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol.* 1995; 13: 688-696.
- 6) IARC (1999) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. IARC Press; Lyon.
- 7) IARC (2002) IARC Handbooks of Cancer prevention. Weight control and physical activity. IARC Press; Lyon.
- 8) Grossman E, Messerli FH, Boyko V, Goldbourt U. Is there an association between hypertension and cancer mortality? *Am J Med.* 2002; 112: 479-486.
- 9) Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castela JE, Ross RK, et al. Family history and risk of renal cell carcinoma. *Cancer.* 2001. 10: 1001-1004.
- 10) Bergstrom A, Lindblad P, Wolk A. Birth weight and risk of renal cancer. *Kidney Int.* 2001; 59: 1110-1113.
- 11) Eble JN, Togashi K, Pisani P: Renal cell carcinoma, Eble NJ, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (eds). World Health Organisation Classification of Tumours, Pathology and Genetics, Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs, 2004, pp. 9-87
- 12) Semenza JC, Ziogas A, Largent J, Peel D, et al. Gene-environment interactions in renal cell carcinoma. *Am J Epidemiol.* 2001; 153: 851-859.
- 13) Gibbons RP, Monte JE, Correa RJJr, Mason JT. Manifestations of renal cell carcinoma. *Urology.* 1976; 8: 201-206.
- 14) O'Reilly PH, Osborn DE, Testa HJ, Asbury DL, et al. Renal imaging: a comparison of radionuclide, ultrasound, and computed tomographic scanning in investigation of renal space-occupying lesions. *BMJ.* 1981; 282: 943-945.
- 15) Dönmez T, Kale M, Özyürek H, Atalay H. Erythrocyte sedimentation rates in patients with Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* 1992; 2: 51-52,
- 16) Gold PJ, Fefer A, Thompson JA. Paraneoplastic manifestations of renal cell carcinoma. *Semin Urol Oncol.* 1996; 14: 216-222.
- 17) Laski ME, Vugrin D. Paraneoplastic syndromes in hypernephroma. *Semin Nephrol.* 1987; 7: 123-130.
- 18) Vanatta PR, Silva FG, Taylor WE, Costa JC. Renal cell carcinoma and systemic amyloidosis: demonstration of AA protein and review of the literature. *Hum Pathol.* 1983; 14: 195-201.
- 19) Fahn HJ, Lee YH, Chen MT, Chang LS. The incidence and prognostic significance of humoral hypercalcemia in renal cell carcinoma. *J Urol.* 1991; 145: 248-250.
- 20) Steffens J, Girardot P, Bock R, Braedel HU, et al. Carcinoma of the kidney with production of renin. A special form of hypertension. *Urol.* 1992; 26: 5-9.
- 21) Golde DW, Schambelan M, Weintraub BD, Rosen SW. Gonadotropin secreting renal cell carcinoma. *Cancer.* 1974; 33: 1048-1053.
- 22) Stanisc TH, Donovan J. Prolactin secreting renal cell carcinoma. *J Urol.* 1986; 136: 85-86.
- 23) Çelebi İ, Güzelsoy M, Yörükoğlu K, Kırkalı Z. Renal cell carcinoma with gallbladder metastasis. *Int Urol.* 1998; 5: 288 – 290.
- 24) Jerome PR, Philip WK, Charles LS. *Cancer medicine* 2000; 5: 1530-1538.
- 25) Smith EH, Bennet AH. The usefulness of ultrasound in the evaluation of renal masses in adults. *J Urol.* 1975; 113: 525-529.

- 26) Emmett JL, Levine SR, Woolner LB. Co-existence of renal cyst and tumour: incidence in 1007 cases. *Br J Urol.* 1963; 35: 403.
- 27) Weinerth JL, Johnsrude IS, Anderson EE, Hendrix PC. Surgical Validation of angiographic studies of renal lesions. *J Urol.* 1976; 116: 550-552.
- 28) Goodman M, Curry T, Russel T. Xanthogranulomatous pyelonephritis: a local disease with systemic manifestations. *Medicine.* 1979; 58: 171-181.
- 29) Kabakci N, Igci E, Secil M, Yorukoglu K, et al. Echo contrast-enhanced power Doppler ultrasonography for assessment of angiogenesis in renal cell carcinoma. *J Ultrasound Med.* 2005; 24: 747-753.
- 30) Weyman PJ, McClennan BL, Stanley RJ, Levitt RG, et al. Comparison of computed tomography and angiography in the evaluation of renal cell carcinoma. *Radiology.* 1980; 137: 417-424.
- 31) Chernoff DM, Silverman SG, Kikinis R, Adams DF, et al. Three dimensional imaging and display of renal tumors using spiral CT: a potential aid to partial nephrectomy. *Urology.* 1994; 43: 125-129.
- 32) Wirth SL, Novick AC. 3-dimensional volume rendered computerized tomography for preoperative evaluation and intraoperative treatment of patients undergoing nephron sparing surgery. *J Urol.* 1999; 161: 1097-1102.
- 33) Karstaedt N, McCullough DL, Wolfman NT, Dyer RB. Magnetic resonance imaging of the renal mass. *J Urol.* 1986; 136: 566-570.
- 34) Schouman N, Warter A, Ross M, Bollock C. Renal cell carcinoma. Statistical study of survival based on pathological criteria. *World J Urol.* 1984; 2: 109-113
- 35) Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982; 6: 655-663.
- 36) Amin MB, Corless CL, Renshaw AA, Tickoo SK, et al. Papillary (chromophil) renal cell carcinoma: histomorphologic prognostic parameters in 62 cases. *Am J Surgical Pathol.* 1997; 21: 621-635.
- 37) Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol.* 1969; 101: 297-301.
- 38) Beahrs OH, Henson DE, Hutter RV, Kennedy BJ. Handbook for staging of cancer. 4th edition. 1993 Philadelphia: Lippincott.
- 39) Gren F, Page D, Fleming I, et al. *AJCC cancer staging manual.* 6th ed. 2002 New York: Springer.
- 40) Crotty TB, Farrow GM, Lieber MM. Chromophobe cell renal carcinoma: Clinicopathological features of 50 cases. *J Urol.* 1995; 154: 964-967.
- 41) *AJCC Cancer Staging Manual* 5th ed. Fleming D, Cooper JS, Henson DE, et al. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997; pp: 231-234.
- 42) Avery AK, Beckstead J, Renshaw AA, Corless CL. Use of antibodies to RCC and CD10 in the differential diagnosis of renal neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2000; 24: 203-210.
- 43) Skinnider BF, Amin MB. An immunohistochemical approach to the differential diagnosis of renal tumors. *Semin Diagn Pathol.* 2005; 22: 51-68.
- 44) Kırkalı Z, Çelebi İ, Akan G, Yörükoğlu K. Bellini duct (collecting duct) carcinoma of the kidney. *Urology.* 1996; 47: 921-923.
- 45) Kim MK, Kim S. Immunohistochemical Profile of Common Epithelial Neoplasms Arising in the Kidney. *Applied immunohistochemistry and molecular morphology.* 2002; 10, No:4
- 46) Pyrhonen S, Salminen E, Ruutu M, Lehtonen T, et al. Prospective randomized trial of interferon alfa-2a plus vinblastine versus vinblastine alone in patients with advanced renal cell cancer. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 2859-2867.
- 47) Zisman A, deKernion JB. Historical perspective: past, present and future. Belldegrun A, Ritchie A, Figlin R, Oliver R, Vaughan ED (eds). *Renal and adrenal tumors: biology and management*, pp: 3-16, Oxford University Press 2003, New York
- 48) Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, et al. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2001; 166: 63-67.
- 49) Zisman A, Pantuk AJ, Dorey F. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 1649-1657
- 50) Takahashi M, Sugimura J, Yang X, Vogelzang N, et al. Gene expression profiling of renal cell carcinoma and its implications in diagnosis, prognosis, and therapeutics. *Adv Cancer Res.* 2003; 89: 157-181.

- 51) Yagoda A, Abi-Rached B, Petrylak D. Chemotherapy for advanced renal-cell carcinoma. *Semin Oncol.* 1995; 22: 42-60.
- 52) Bellmunt J, Montagut C, Albiol S, Carles J, et al. Present strategies in the treatment of metastatic renal cell carcinoma: an update on molecular targeting agents. *BJU Int.* 2006; 1: [ Baskida ]
- 53) Giberti C, Oneto F, Martorana G, Rovida S, et al. Radical nephrectomy for renal cell carcinoma: long-term results and prognostic factors on a series of 328 cases. *Eur Urol.* 1997; 31: 40-48.
- 54) Medeiros LJ, Gelb AB, Weiss LM. Renal cell carcinoma. Prognostic significance of morphologic parameters in 121 cases. *Cancer.* 1988; 61: 1639-1651.
- 55) Golimbu M, Joshi P, Sperber A, Tessler A, et al. Renal cell carcinoma: survival and prognostic factors. *Urology.* 1986; 27: 291-301.
- 56) Ljungberg B, Forsslund G, Stenling R, Zetterberg A. Prognostic significance of the DNA content in renal cell carcinoma. *J Urol.* 1986; 135: 422-426.
- 57) Murphy WM, Chandler RW, Trafford RM. Flow cytometry of deparaffinized nuclei compared to histological grading for the pathological evaluation of transitional cell carcinomas. *J Urol.* 1986; 135: 694-697.
- 58) Thrasher JB, Paulson DF. Prognostic factors in renal cancer. *Urol Clin North Am.* 1993; 20: 247-262.
- 59) Citterio G, Bertuzzi A, Tresoldi M, et al. Prognostic factors for survival in metastatic renal cell carcinoma: retrospective analysis from 109 consecutive patients. *Eur Urol.* 1997; 31: 286- 291.
- 60) Van Poppel H, Vandendriessche H, Boel K, Mertens V, et al. Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically nonmetastatic renal cell carcinoma. *J Urol.* 1997; 158: 45-49.
- 61) Kirkali Z, Güzelsoy M, Mungan U, Kirkali G, et al. Serum ferritin as a clinical marker for renal cell carcinoma: Influence of tumor size and volume. *Urol Int.* 1999; 62: 21-25.
- 62) Tuzel E, Kirkali Z, Yörükoğlu K, Mungan MU, et al. Metallothionein expression in renal cell carcinoma: subcellular localization and prognostic significance. *J Urol.* 2001; 165:1710-1713.
- 63) Erkizan O, Kirkali G, Yorukoglu K, Kirkali Z. Significance of heat shock protein-27 expression in patients with renal cell carcinoma. *Urology.* 2004; 64: 474-478.
- 64) Tuna B, Yorukoglu K, Gurel D, Mungan U, et al. Significance of COX-2 expression in human renal cell carcinoma. *Urology.* 2004; 64:1116-1120.
- 65) Mungan MU, Gurel D, Canda AE, Tuna B, et al. Expression of COX-2 in Normal and Pyelonephritic Kidney, Renal Intraepithelial Neoplasia, and Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* 2006; 50: 92-97.
- 66) Tuna B, Yorukoglu K, Unlu M, Mungan MU, et al. Association of Mast Cells with Microvessel Density in Renal Cell Carcinomas. *Eur Urol.* 2006; 50: 530-534.
- 67) Giuliani L, Giberti C, Martorana G, Rovida S. Radical extensive surgery for renal cell carcinoma: long-term results and prognostic factors. *J Urol.* 1990; 143: 468-474.
- 68) Skinner DG, Coldvin RB, Vermillion CD, Pfister RC, et al. Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study of 309 cases. *Cancer.* 1971; 28: 1165-1177
- 69) McNichols DW, Segura JW, DeWeerd JH. Renal cell carcinoma: long-term survival and late recurrence. *J Urol.* 1981; 126: 17- 23.
- 70) Selli C, Hinshaw WM, Woodard BH, Paulson DF. Stratification of risk factors in renal cell carcinoma. *Cancer.* 1983; 52: 899-903.
- 71) Hatcher PA, Anderson EE, Paulson DF, Carson CC, et al. Surgical management and prognosis of renal cell carcinoma invading the vena cava. *J Urol.* 1991; 145: 20- 23.
- 72) O'Donohoe MK, Flanagan F, Fitzpatrick JM, Smith JM. Surgical approach to inferior vena caval extension of renal carcinoma. *Br J Urol.* 1987; 60: 492- 496.
- 73) Sosa RE, Muecke EC, Vaughan Ed Jr, McCarron J Jr. Renal cell carcinoma extending into the inferior vena cava: the prognostic significance of the level of vena caval involvement. *J Urol.* 1984; 132: 1097- 1100.
- 74) Heney NM, Nocks BN. The influence of perinephric fat involvement on survival in patients with renal cell carcinoma extending into the inferior vena cava. *J Urol.* 1982; 128: 18-20.
- 75) Bassil B, Dosoretz DE, Prout GR. Validation of the tumour, nodes and metastasis classification of renal cell carcinoma *J Urol.* 1985; 134: 450- 454.
- 76) Van Brussel JP, Mickisch GH. Prognostic factors in renal cell and bladder cancer. *BJU Int.* 1999; 83: 902-909.

- 77) Mani S, Todd MB, Katz K, Poo WJ. Prognostic factors for survival in patients with metastatic renal cancer treated with biologic response modifiers. *J Urol.* 1995; 154: 35-40.
- 78) Kankuri M, Pelliniemi TT, Pyrhonen S, Nikkanen V, et al. Feasibility of prolonged use of interferon-alfa in metastatic kidney carcinoma: a phase II study. *Cancer.* 2001; 92: 761-767.
- 79) Skinner DG, Vermillion CD, Colvin RB. The surgical management of renal cell carcinoma. *J Urol.* 1972; 107: 705-710.
- 80) Hand J, Broders A. Carcinoma of the kidney: The degree of malignancy in relation to factors bearing on prognosis. *J Urol.* 1932; 28: 199.
- 81) Stephen MB. Risk and prognosis in renal neoplasms *Urology.* 1999; 26: 643-660.
- 82) Green LK, Ayala AG, Ro JY, Swanson DA, et al. Role of nuclear grading in stage 1 renal cell carcinoma. *Urology.* 1989; 32: 310-315.
- 83) Delahunt B: Histopathologic prognostic indicators for renal cell carcinoma. *Semin Diag Pathol.* 1998;15: 68.
- 84) Gelb AB. Renal cell carcinoma. Current prognostic factors. *Cancer.* 1997; 80: 981-986.
- 85) Lanigan D. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Br J Urol.*1995; 75:565-571.
- 86) Baer SC, Ro JY, Ordonez NG, Maiese RL, et al. Sarcomatoid collecting duct carcinoma: A clinicopathologic and immunohistochemical study of five cases. *Hum Pathol.* 1993; 24: 1017-1022.
- 87) Avery RA, Harris JE, Davis CJ Jr, Borgaonkar DS, et al. Renal medullary carcinoma: Clinical and therapeutic aspects of a newly described tumor. *Cancer.* 1996; 78:128-132.
- 88) Murad T, Komaiko W, Oyasu R, Bauer K. Multilocular cystic renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 1991; 95: 633-637.
- 89) Storkel S, Thoenes W, Jacobi GH, Lippold R. Prognostic parameters in renal cell carcinoma- a new approach. *Eur Urol.* 1989; 16: 416-422.
- 90) Mac Lennan GT, Farrow GM, Botswick DG. Low grade collecting duct carcinoma of the kidney: Report of 13 cases of low grade mucinous tubulocystic renal carcinoma of possible collecting duct origin. *Urology.* 1997; 50: 679-684.
- 91) Ro JY, Ayala AG, Sella A, Samuels ML, et al. Sarkomatoid renal cell carcinoma: Clinicopathologic study of 42 cases. *Cancer.* 1978; 59: 516-526.
- 92) Tomera KM, Farrow GM, Leiber MM. Sarcomatoid renal cell carcinoma: A study of 42 cases. *Cancer.* 1987; 59: 516
- 93) Boxer RJ, Waisman J, Lieber MM, Mampaso FM, et al. Renal carcinoma: computer analysis of 96 patients treated by nephrectomy. *J Urol.* 1979; 122: 598-601.
- 94) Tosi P, Luzi P, Baak JP, Miracco C, et al. Nuclear morphometry as an important prognostic factor in stage I renal cell carcinoma. *Cancer.* 1986; 58: 2512-2518.
- 95) Gutierrez JL, Val-Bernal JF, Garijo MF, Buelta L, et al. Nuclear morphometry in prognosis of renal adenocarcinoma. *Urology.* 1992; 39: 130-134.
- 96) Yörükoğlu K, Aktaş S, Güler C, Sade M, et al. Volume-weighted mean nuclear volume in renal cell carcinoma. *Urology.* 1998; 52: 44-47.
- 97) Kirkali Z, Yörükoğlu K, Ozkara E, Kazimoglu H, et al. Proliferative activity, angiogenesis and nuclear morphometry in renal cell carcinoma. *Int J Urol.* 2001; 8: 697-703.
- 98) Özer E, Yörükoğlu K, Sağol Ö, Mungan U, et al. Prognostic significance of nuclear morphometry in renal cell carcinoma. *BJU Int.* 2002; 90: 20-25.
- 99) Dekel Y, Koren R, Kugel V, Livne PM, et al.. Significance of angiogenesis and microvascular invasion in renal cell carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2002; 8:130-132.
- 100) Feldman AL, Alexander HR Jr, Yang JC, Linehan WM, et al. Prospective analysis of circulating endostatin levels in patients with renal cell carcinoma. *Cancer.* 2002; 95: 1637-1643.
- 101) Wada S, Yoshimura R, Naganuma T, Yoshida N, et al. Thymidine phosphorylase levels as a prognostic factor in renal cell carcinoma. *BJU Int.* 2003; 91: 105-108.
- 102) Sevinc M, Kirkali Z, Yörükoğlu K, Mungan U, et al. Prognostic Significance of Microvascular Invasion in Localized Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* 2000; 38: 728-733.
- 103) Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, et al. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 1649-1657.

- 104) Kim HL, Seligson D, Liu X, Janzen N, et al. Using protein expressions to predict survival in clear cell renal carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2004; 10: 5464-5471.
- 105) Delahunt B, Bethwaite PB, Thornton A, Ribas JL. Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation-resistant polyclonal Ki-67 antibody labeling. Correlation with clinical outcome. *Cancer*. 1995; 75: 2714-2719.
- 106) Maxwell SA, Rivera A. Proline oxidase induces apoptosis in tumor cells, and its expression is frequently absent or reduced in renal carcinomas. *J Biol Chem*. 2003; 278: 9784-9789.
- 107) Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J, Patard J, et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. *Urology*. 2000; 55: 501-505.
- 108) Shiina H, Igawa M, Urakami S, Shirakawa H, et al. Clinical significance of immunohistochemically detectable p53 protein in renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 1997; 31: 73-80.
- 109) Uchida T, Gao JP, Wang C, Jiang SX, et al. Clinical significance of p53, mdm2, and bcl-2 proteins in renal cell carcinoma. *Urology*. 2002; 59: 615-620.
- 110) Shieh DB, Godleski J, Herndon JE 2nd, Azuma T, et al. Cell motility as a prognostic factor in stage I nonsmall cell lung carcinoma: the role of gelsolin expression. *Cancer* 1999; 85: 47-57.
- 111) Shetye J, Christensson B, Rubio C, Rodensjo M, et al. The tumor-associated antigens BR55-2, GA73-3 and GICA 19-9 in normal and corresponding neoplastic human tissues, especially gastrointestinal tissues. *Anticancer Res*. 1989; 9: 395-404.
- 112) Riethmuller G, Schneider-Gadicke E, Schlimok G, Schmiegel W, et al. Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma. German Cancer Aid 17-1A Study Group. *Lancet*. 1994; 343: 1177-1183
- 113) Moch H, Schraml P, Bubendorf L, Mirlacher M, et al. High-throughput tissue microarray analysis to evaluate genes uncovered by cDNA microarray screening in renal cell carcinoma. *Am J Pathol*. 1999; 154: 981-986.
- 114) Sabo E, Miselevich I, Bejar J, Segenreich M, et al. The role of vimentin expression in predicting the long-term outcome of patients with localized renal cell carcinoma. *Br J Urol*. 1997; 80: 864-868.
- 115) Gnarr JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet*. 1994; 7: 85-90.
- 116) Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*. 1999; 399: 271-275.
- 117) Bui MH, Seligson D, Han KR, Pantuck AJ, et al. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 802-811.
- 118) Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet*. 1997; 15: 356-362.
- 119) Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem*. 1998; 273: 13375-13378.
- 120) Velickovic M, Delahunt B, McIver B, Grebe SK. Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Mod Pathol*. 2002; 15: 479-485.
- 121) Alimov A, Li C, Gizatullin R, Fredriksson V, et al Somatic mutation and homozygous deletion of PTEN/MMAC1 gene of 10q23 in renal cell carcinoma. *Anticancer Res*. 1999; 19: 3841-3846.
- 122) Zhang L, Yu D, Hu M, Xiong S, et al. Wild-type p53 suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression. *Cancer Res*. 2000; 60: 3655-3661.
- 123) Moch H, Sauter G, Moore D, Mihatsch M J, et al . p53 and erbB-2 protein overexpression are associated with early invasion and metastasis in bladder cancer. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993; 423: 329.
- 124) Uhlman DL, Nguyen PL, Manivel JC, Aeppli D, et al. Association of immunohistochemical staining for p53 with metastatic progression and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1994; 86: 1470-1475.

- 125) Girgin C, Tarhan H, Hekimgil M, Sezer A, et al. p53 mutations and other prognostic factors of renal cell carcinoma. *Urol Int.* 2001; 66: 78-73.
- 126) Shvarts O, Seligson D, Lam J, Shi T, et al. p53 is an independent predictor of tumor recurrence and progression after nephrectomy in patients with localized renal cell carcinoma. *The Journal of Urology.* 2005; 173: 725-728.
- 127) Motzer RJ, Russo P. Systemic therapy for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2000; 163: 408-417.
- 128) Kakehi Y, Kanamaru H, Yoshida O, Ohkubo H, et al. Measurement of multidrug-resistance messenger RNA in urogenital cancers; elevated expression in renal cell carcinoma is associated with intrinsic drug resistance. *J Urol.* 1988; 139: 862-865.
- 129) Rochlitz CF, Lobeck H, Peter S, Reuter J, et al. Multiple drug resistance gene expression in human renal cell cancer is associated with the histologic subtype. *Cancer.* 1992; 69: 2993-2998.
- 130) Teodori E, Dei S, Martelli C, Scapecchi S, et al. The functions and structure of ABC transporters: implications for the design of new inhibitors of Pgp and MRP1 to control multidrug resistance (MDR). *Curr Drug Targets.* 2006; 7: 893-909.
- 131) Raub TJ. P-glycoprotein recognition of substrates and circumvention through rational drug design. *Mol Pharm.* 2006; 3: 3-25.
- 132) Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med.* 1997; 3: 917-921.
- 133) Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med.* 2001; 7: 542-547.
- 134) Johnson ME, Howerth EW. Survivin: a bifunctional inhibitor of apoptosis protein. *Vet Pathol.* 2004; 41: 599-607.
- 135) Verdecia MA, Huang H, Dutil E, Kaiser DA, et al. Structure of the human anti-apoptotic protein survivin reveals a dimeric arrangement. *Nat Struct Biol.* 2000; 7: 602-608.
- 136) Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature.* 2000; 407: 770-776.
- 137) Mahotka C, Wenzel M, Springer E, Gabbert HE, et al. Survivin-ΔEx-3 and survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res.* 1999; 59: 6097-6102.
- 138) Li F, Altieri DC. The cancer antiapoptosis mouse survivin gene: characterization of locus and transcriptional requirements of basal and cell cycle-dependent expression. *Cancer Res.* 1999; 59: 3143-3151.
- 139) Zwicker J, Lucibello FC, Wolfrain LA. Cell cycle regulation of the cyclin A, cdc25C and cdc2 genes is based on a common mechanism of transcriptional repression. *EMBO J.* 1995; 14: 4514-4522.
- 140) Chen J, Wu W, Tahir SK, Kroeger PE, et al. Down-regulation of survivin by antisense oligonucleotides increases apoptosis, inhibits cytokinesis and anchorage-independent growth. *Neoplasia.* 2000; 2: 235-241.
- 141) Li F, Ackermann EJ, Bennett CF, Rothermel AL, et al. Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with survivin function. *Nat Cell Biol.* 1999; 8: 461-466.
- 142) Uren AG, Wong L, Pakusch M, Fowler KJ, et al. Survivin and the inner centromere protein INCENP show similar cell-cycle localization and gene knockout phenotype. *Curr Biol.* 2000; 21: 1319-1328.
- 143) Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis. *Genes Dev.* 1999; 3: 239-252.
- 144) Miller L. An exegesis of IAPs: salvation and surprises from BIR motifs. *Trends Cell Biol.* 1999; 9: 323-328.
- 145) Sun C, Cai M, Gunasekera AH, Meadows RP, et al. NMR structure and mutagenesis of the inhibitor of apoptosis protein XIAP. *Nature.* 1999; 401: 818-821.
- 146) Riedl SJ, Renatus M, Schwarzenbacher R, Zhou Q, et al. Structural basis for the inhibition of caspase-3 by XIAP. *Cell.* 2001; 104: 791-800.
- 147) O'Connor DS, Grossman D, Plescia J, Li F, et al. Regulation of apoptosis at cell division by p34cdc2 phosphorylation of survivin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 13103-13107.
- 148) Shi Y. Survivin structure: crystal unclear. *Nat Struct Biol.* 2000; 7: 620-623.
- 149) Du C, Fang M, Li L, Li Y, et al. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell.* 2000; 102: 33-42.
- 150) Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to an antagonizing IAP proteins. *Cell.* 2000; 102: 43-53.



- 151) Song Z, Yao X, Wu M. Direct interaction between survivin and Smac/DIABLO is essential for the anti-apoptotic activity of survivin during taxol-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2003; 25: 23130-23140.
- 152) Muzio L, Staibano S, Pannone G, Mignogna MD, et al. Expression of the apoptosis inhibitor survivin in aggressive squamous cell carcinoma. *Exp Mol Pathol.* 2001; 70: 249-254.
- 153) O'Connor DS, Wall NR, Porter ACG, Altieri DC. A p34cdc2 survival checkpoint in cancer. *Cancer Cell.* 2002; 2: 43-54.
- 154) Zhao J, Tenev T, Martins LM, Downward J, et al. The ubiquitin-proteasome pathway regulates survivin degradation in a cell cycle-dependent manner. *J Cell Sci.* 2000; 113: 4363-4371.
- 155) Aoki Y, Feldman GM, Tosato G. Inhibition of STAT3 signaling induces apoptosis and decreases survivin expression in primary effusion lymphoma. *Blood.* 2003; 101:1535-1542.
- 156) Sommer KW, Schamberger CJ, Schmidt GE, Sasgary S, et al. Inhibitor of apoptosis protein (IAP) survivin is upregulated by oncogenic c-H-Ras. *Oncogene.* 2003; 22: 4266-4280.
- 157) Adida C, Crotty PL, McGrath J, Berrebi D, et al. Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene survivin in human and mouse differentiation. *Am J Pathol.* 1998; 152: 43-49.
- 158) Carter BZ, Milella M, Altieri DC, Andreeff M. Cytokine-regulated expression of survivin in myeloid leukemia. *Blood.* 2001; 97: 2784-2790.
- 159) Gianani R, Jarboe E, Orlicky D, Frost M, et al. Expression of survivin in normal, hyperplastic, and neoplastic colonic mucosa. *Hum Pathol.* 2001; 32: 119-125.
- 160) Chiou S, Moon WS, Jones MK, Tarnawski AS. Survivin expression in the stomach: implications for mucosal integrity and protection. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 305: 374-379.
- 161) Kobayashi Y, Yukiue H, Sasaki H, Fukai I, et al. Developmentally regulated expression of survivin in the human thymus. *Human Immun.* 2002; 63:101-107.
- 162) Monzo M, Rosell R, Felip E, Astudillo J, et al. A novel anti-apoptosis gene: Re-expression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17: 2100–2104.
- 163) Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, Nohara T, et al. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 127–134.
- 164) Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, et al. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58: 5071–5074.
- 165) Lu CD, Altieri DC, Tanigawa N. Expression of a novel anti-apoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas. *Cancer Res.* 1998; 58: 1808–1812.
- 166) Kato J, Kuwabara Y, Mitani M, Shinoda N, et al. Expression of survivin in esophageal cancer: Correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int. J.Cancer.* 2001; 95: 92–95.
- 167) Satoh K, Kaneko K, Hirota M, Masamune A et al. Expression of survivin is correlated with cancer cell apoptosis and is involved in the development of human pancreatic duct cell tumors. *Cancer.* 2001; 92: 271–278.
- 168) Swana HS, Grossman D, Anthony JN, Weiss RM, et al. Tumor content of the anti-apoptosis molecule survivin and recurrence of bladder cancer. *New Engl. J. Med.*1999; 341: 452–453.
- 169) Saitoh Y, Yaginuma Y, Ishikawa M. Analysis of Bcl-2, Bax and Survivin genes in uterine cancer. *Int. J. Oncol.* 1999; 15: 137–141.
- 170) Yoshida Y, Ishiko O, Sumi T, Matsumoto Y, et al. Survivin, Bcl-2 and matrix metalloproteinase-2 enhance progression of clear cell- and serous-type ovarian carcinomas. *Int. J. Oncol.* 2001; 19: 537–542.
- 171) Adida C, Haioun C, Gaulard P, Lepage E, et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood.* 2000; 96:1921-1925.
- 172) Kamihira S, Yamada Y, Hirakata Y, Tomonaga M, et al. Aberrant expression of caspase cascade regulatory genes in adult T-cell leukaemia: survivin is an important determinant for prognosis. *Br. J. Haematol.* 2001; 114: 63–69.
- 173) Islam A, Kageyama H, Takada N, Kawamoto T, et al. High expression of Survivin, mapped to 17q25, is significantly associated with poor prognostic factors and promotes cell survival in human neuroblastoma. *Oncogene.* 2000; 19: 617–623.
- 174) Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. Expression and targeting of the apoptosis inhibitor, survivin, in human melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 1999; 113: 1076–1081.

- 175) Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. Expression of the apoptosis inhibitor, survivin, in nonmelanoma skin cancer and gene targeting in a keratinocyte cell line. *Lab. Invest.* 1999; 79: 1121–1126.
- 176) Poetker DM, Sandler AD, Scott DL, Smith RJ, et al. Survivin expression in juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2002;11: 957-961.
- 177) Shariat SF, Lotan Y, Saboorian H, Khoddami SM, et al. Survivin expression is associated with features of biologically aggressive prostate carcinoma. *Cancer.* 2004; 100: 751-757.
- 178) Tuna B, Yorukoglu K, Tuzel E, Guray M, et al. Expression of p53 and mdm2 and their significance in recurrence of superficial bladder cancer. *Pathol Res Pract.* 2003; 199: 323-328.
- 179) Pinto AE, Monteiro P, Silva G, Ayres JV, et al. Prognostic biomarkers in renal cell carcinoma: relevance of DNA ploidy in predicting disease-related survival. *Int J Biol Markers.* 2005; 20: 249-256.
- 180) Siegsmond M, Brinkmann U, Schaffeler E, Weirich G, et al. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(C3435T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 1847-1854.
- 181) Ferguson RE, Jackson SM, Stanley AJ, Joyce AD, et al. Intrinsic chemotherapy resistance to the tubulin-binding antimetabolic agents in renal cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2005; 115: 155-163.
- 182) Gottesman MM, Pastan I, Ambudkar SV. P-glycoprotein and Multidrug resistance. *Curr Opin Genet.* 1996; 6: 610-617.
- 183) Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, et al. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987; 84: 7735–7738.
- 184) Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Boccia J, Casals D, et al. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem.* 1990; 38: 1277–1287.
- 185) Bak M Jr, Efferth T, Mickisch G, Mattern J, et al. Detection of drug resistance and P-glycoprotein in human renal cell carcinomas. *Eur Urol.* 1990; 17: 72-75.
- 186) Duensing S, Dallmann I, Grosse J, Buer J, et al. Immunocytochemical detection of P-glycoprotein: initial expression correlates with survival in renal cell carcinoma patients. *Oncology.* 1994 ; 51: 309-313.
- 187) Amato RJ. Chemotherapy for renal cell carcinoma. *Semin Oncol.* 2000; 27: 177-186.
- 188) Derebek E, Kirkali Z, Doğan SA, Değirmenci, et al. 99m Tc-MIBI scintigraphy in metastatic renal cell carcinoma: clinical validation of the relationship between 99mTc-MIBI uptake and P-glycoprotein expression in tumor tissue: *European Journal of Nuclear Medicine.* 1996; 23: 976-979
- 189) Kim WJ, Kakehi Y, Kinoshita H, Arao S, et al. Expression patterns of multidrug-resistance (MDR1), multidrug resistance-associated protein (MRP), glutathione-S-transferase-pi (GST-pi) and DNA topoisomerase II (Topo II) genes in renal cell carcinomas and normal kidney. *J Urol.* 1996; 156: 506-511.
- 190) Gamelin E, Mertins SD, Regis JT, Mickley L, et al. Intrinsic drug resistance in primary and metastatic renal cell carcinoma. *J Urol.* 1999; 162: 217-224.
- 191) Cross SM, Sanches CA, Morgan CA, Schimke MK, et al. A p53-dependent Mouse spindle checkpoint. *Science.* 1995; 267: 1353–1356.
- 192) Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden H, et al. Accumulation of p53 protein correlates with poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res.* 1992; 52: 4828–4831.
- 193) Moul JW. Angiogenesis, p53, bcl-2 and Ki-67 in the progression of prostate cancer after radical prostatectomy. *Eur Urol.* 1999; 35: 399–407.
- 194) Kamel D, Turpeenniemi-Hujanen T, Vahakangas K, Paakko P, et al. Proliferating cell nuclear antigen but not p53 or human papillomavirus DNA correlates with advanced clinical stage in renal cell carcinoma. *Histopathology.* 1994; 25: 339–347.
- 195) Moch H, Sauter G, Gasser TC, Buchholz N, et al. p53 protein expression but not mdm-2 protein expression is associated with rapid tumor cell proliferation and prognosis in renal cell carcinoma. *Urol Res.* 1997; 25: 25–30.
- 196) Lane DP, Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes Dev.* 1990; 4: 1-8.
- 197) Warburton HE, Brady M, Vlatkovic N, Linehan WM, et al. p53 regulation and function in renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 2005; 65: 6498-6503.
- 198) Uchida T, Gao JP, Wang C, Jiang SX, et al. Clinical significance of p53, mdm2, and bcl-2 proteins in renal cell carcinoma. *Urology.* 2002; 59: 615-620.

- 199) Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, Schips L, et al. Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue. *Urology*. 2004; 63: 651-655.
- 200) Ljungberg B, Bozoky B, Kovacs G, Stattin P, et al. p53 Expression in Correlation to Clinical Outcome in Patients with Renal Cell Carcinoma; *Scand J Urol Nephrol*. 2001; 35: 15 – 20.
- 201) Imai Y, Strohmeyer TG, Fleischhacker M, Slamon DJ, et al. p53 mutations and MDM-2 amplification in renal cell cancers. *Mod Pathol*. 1994; 7: 766-770
- 202) Bot FJ, Godschalk JC, Krishnadath KK, van der Kwast TH, et al. Prognostic factors in renal-cell carcinoma: immunohistochemical detection of p53 protein versus clinico-pathological parameters. *Int J Cancer*. 1994; 57: 634-637.
- 203) Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *Br J Cancer*. 2005; 92: 212-216.
- 204) Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. *Nat Review Cancer*. 2004; 4: 592-603.
- 205) Lehner R, Lucia MS, Jarboe EA, Orlicky D, et al. Immunohistochemical localization of the IAP protein survivin in bladder mucosa and transitional cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002; 10: 134-138.
- 206) Nakanishi K, Tominaga S, Hiroi S, Kawai T, et al. Expression of survivin does not predict survival in patients with transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *Virchows Arch*. 2002; 441: 559-563.
- 207) Kosari F, Parker AS, Kube DM, Lohse CM, et al. Clear cell renal cell carcinoma: gene expression analyses identify a potential signature for tumor aggressiveness. *Clin Cancer Res*. 2005; 11:5128-5139.
- 208) Parker AS, Kosari F, Lohse CM, Houston Thompson R, et al. High expression levels of survivin protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer*. 2006;107: 37-45.
- 209) Mahotka C, Krieg T, Krieg A, Wenzel M, et al. Distinct in vivo expression patterns of survivin splice variants in renal cell carcinomas. *Int J Cancer*. 2002;100:30-36 .