

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

BÖBREK TÜMÖRLERİNDE
VHL GEN MUTASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. RAŞİT ALTINTAŞ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İBRAHİM KADRİ CÜREKLİBATIR

İZMİR
AĞUSTOS 2010

ÖNSÖZ

Üroloji ihtisasım boyunca mesleki bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Necmettin Çıkılı olmak üzere hocalarım Prof. Dr. Oktay Nazlı, Prof. Dr. Gürhan Günaydın, Prof. Dr. Bülent Semerci, Prof. Dr. Ceyhun Özyurt, Prof. Dr. Erdal Apaydın, Prof. Dr. Çağ Çal, Prof. Dr. Barış Altay'a, çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan tez danışmanım Prof. Dr. İ. Kadri Cüreklibatır'a, çalışmada konu ile ilgili fikir ve deneyimlerini paylaşan Doç. Dr. Burak Turna'ya, uzmanlık eğitimi boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Op. Dr. Adnan Şimşir'e, tezimin genetik değerlendirme kısmında önemli katkılarından dolayı Uzm. Dr. Asude Alpman'a, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve her konuda desteği ve anlayışı için eşim Fatma Dursun Altıntaş'a teşekkür ederim

Dr. Raşit Altıntaş

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ – AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek tümörleri tarihsel değerlendirme	3
2.2. Böbrek tümörleri epidemiyoloji, etyoloji ve risk faktörleri	3
2.3. Sınıflama	5
2.3.1. Papiller adenom	7
2.3.2. Onkositom	8
2.3.3. Şeffaf hücreli böbrek hücreli tümör	8
2.3.4. Multiloküler şeffaf hücreli BHT	9
2.3.5. Papiller BHT	9
2.3.6. Kromofob tip BHT	10
2.3.7. Bellini toplayıcı kanal karsinomu	10
2.3.8. Renal medüller karsinom	10
2.3.9. XP11.2 translokasyonu/TFE3 gen füzyonu gösteren renal karsinomlar	10
2.3.10. Nöroblastom ile birliktelik gösteren BHT	11
2.3.11. Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom	11
2.3.12. Sınıflandırılmayan BHT	11
2.3.13. Wilms tümörü (Nfroblastom)	11
2.3.14. Nfrojenik kalıntılar ve nfroblastomatozis	11
2.3.15. Kısmen kistik diferansiasyon gösteren nfroblastom	12
2.3.16. Metanefrik adenom ve adenofibrom	12
2.3.17. Metanefrik stromal tümör	12
2.3.18. Konjenital mezoblastik nfroma	12
2.3.19. Şeffaf hücreli sarkom	12
2.3.20. Rhabdoid tümör	12
2.3.20. Ailesel BHT	13
2.2.20.1 Von Hippel Lindau (VHL) hastalığı	13
2.3.20.2. VHL sendromu olmaksızın şeffaf hücreli BHT	17
2.3.20.3. Familyal şeffaf hücreli BHT	17
2.3.20.4. Kalıtsal papiller BHT tip-1	17
2.3.20.5. Kalıtsal leimyomatozis BHT	18

2.3.20.6. Birt Hogg Dube (BHD).....	18
2.3.20.7. Ailesel onkositom.....	18
2.3.20.8. Kromozom 3 translokasyonu.....	18
2.4. Semptomlar ve tanı.....	19
2.5. Evreleme.....	21
2.6. Böbrek tümörlerinin doğal seyri.....	22
2.7. Tümör belirleyicileri.....	23
2.7.1. Biyomoleküler tümör belirteçleri.....	24
2.7.1.1. Ferritin.....	24
2.7.1.2. Nükleer matriks protein-22 (NMP-22)	24
2.7.1.3. Eritrosit sedimentasyon hızı.....	24
2.7.1.4. Neopterin.....	24
2.7.1.5. Adiposit farklılaşması ile ilgili protein.....	25
2.7.2. Hücre siklusuna dayalı tümör belirteçleri.....	25
2.7.2.1. Ki-67 (Proliferatif hücre nükleer antijeni)	25
2.7.2.2. p53.....	26
2.7.2.3. p21.....	26
2.7.2.4. Siklin A ve siklin D1.....	26
2.7.3. İmmünojen özelliğe sahip tümör belirteçleri.....	26
2.7.3.1. Tümörle ilişkili tripsin inhibitörü.....	26
2.7.3.2. Doku polipeptid spesifik antijen.....	26
2.7.3.3. Diferansiyasyon antijenleri.....	26
2.7.3.4. Tümör spesifik paylaşılan antijen.....	26
2.7.3.5. Anormal eksprese edilen antijenler.....	26
2.7.4. Apoptoza dayalı tümör belirteçleri.....	27
2.7.4.1. Apoptotik indeks.....	27
2.7.4.2. Bcl-2.....	27
2.7.4.3. F7-26.....	27
2.7.5. Enzimatik tümör belirteçleri.....	27
2.7.5.1. Gama-enolaz.....	27
2.7.5.2. İnducible nitrik oksit (iNOS).....	27
2.7.5.3. Timidilat sentaz.....	28

2.7.5.4. Piruvat kinaz tip M2.....	28
2.7.6. Cluster designating tabanlı (CD) tümör belirteçleri.....	28
2.7.6.1. CD10.....	28
2.7.6.2. CD154.....	28
2.7.6.3. CD44.....	28
2.7.6.4. CD95 (APO-1/Fas).....	29
2.7.6.5. CD70.....	29
2.7.7. Proteinöz yapıdaki tümör belirteçleri.....	29
2.7.7.1. Eritropoietin.....	29
2.7.7.2. Glikoprotein tümör belirteçleri.....	29
2.7.7.3. Fibrinojen.....	29
2.7.7.4. Hücresel fibronektin.....	30
2.7.7.5. Vinkulin.....	30
2.7.7.6. Ag-NOR proteinleri.....	30
2.7.7.7. C-reaktif protein (CRP).....	30
2.7.8. Adezyon molekülleri.....	30
2.7.8.1. E-Kaderin.....	31
2.7.8.2. P-selektin.....	31
2.7.8.3. Kaderin-6.....	31
2.7.9. Malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilen hücre spesifik proteinler..	31
2.7.9.1. Tu M2-PK.....	31
2.7.9.2. MUC1.....	31
2.7.9.3. Prolifere Olan Hücre Nükleer Antijeni.....	32
2.7.10. Karyometrik tümör belirteçleri.....	32
2.7.11. Sitoloji ve DNA'ya bağlı tümör belirteçleri.....	32
2.7.11.1. Karbonik anhidraz IX.....	32
2.7.11.2. Kromozom 3'ün kısa kolunun kaybı.....	33
2.7.11.3. PTEN.....	33
2.7.11.4. Multi drug rezistans genleri (MDR).....	33
2.7.11.5. Kromozomal aberasyonlar	33
2.7.11.6. VHL tümör supresör geni.....	34
2.7.11.7. Proto-onkogen AxI.....	34

2.7.11.8. Kromozom 14q heterozigosite kaybı.....	34
2.7.11.9. TAP geni.....	34
2.7.11.10. p16 Tümör Supresör Geni.....	34
2.8. Prognostik faktörler.....	34
2.8.1. Tümör ile ilişkili prognostik faktörler.....	35
2.8.1.1. Tümör evresi.....	35
2.8.1.2. Venöz tutulum.....	35
2.8.1.3. Lenf nodu tutulumu.....	35
2.8.1.4. Adrenal bez tutulumu.....	36
2.8.1.5. Metastaz.....	36
2.8.1.6. Tümör derecesi.....	36
2.8.1.7 Histolojik tipler.....	36
2.8.1.8. Sarkomatoid elemanların olması.....	37
2.8.1.9. Nükleer Morfometri.....	37
2.8.1.10. Histolojik tümör nekrozu.....	37
2.8.1.11. Toplayıcı sistem invazyonu.....	37
2.8.1.12. Tümör proliferasyon belirteçleri.....	37
2.8.2. Hasta ile ilişkili faktörler.....	38
2.8.3. Tedavi ile ilişkili faktörler.....	38
2.9. Tedavi.....	38
2.9.1. Organa sınırlı böbrek tümörlerinde tedavi.....	38
2.9.1.1. Açık Radikal Nefrektomi.....	38
2.9.1.2. Açık nefron koruyucu cerrahi.....	39
2.9.1.3. Laparoskopik radikal nefrektomi.....	40
2.9.1.4. Laparoskopik Nefron Koruyucu Cerrahi.....	41
2.9.1.5. Minimal İnvaziv Tedaviler.....	41
2.9.2. Lokal ileri evre böbrek tümörlerinde tedavi.....	42
2.9.3. Metastatik Böbrek Tümörlerinde Tedavi.....	42
2.9.3.1. Cerrahi.....	42
2.9.3.2. Radyoterapi.....	43
2.9.3.3. Kemoterapi.....	43
2.9.3.4. İmmünoterapi.....	43

2.9.3.5. Anjiogenez inhibitörü ilaçlar.....	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Hasta seçimi.....	46
3.2. Klinik değerlendirme.....	46
3.3. Patolojik değerlendirme.....	46
3.4. Genetik değerlendirme.....	47
3.4.1. Örneklerin toplanması.....	47
3.4.2. Kandan DNA izolasyonu.....	47
3.4.3. DNA Amplifikasyonu.....	48
3.4.3.1. Primerlerin sulandırılması.....	49
3.4.3.2. Reaksiyon karışımı.....	50
3.4.3.3. İzlenen PCR programı.....	50
3.4.3.4. Agaroz jel elektroforezi.....	50
3.4.3.5. PCR ürünlerinin 1. saflaştırılma işlemi.....	51
3.4.4. Cycle sequencing.....	52
3.4.4.1. İkinci saflaştırma işlemi (Zymo DNA Sequencing Clean-Up Kit).....	53
3.4.5. Örneklerin cihaza yükleme aşaması.....	54
4. BULGULAR.....	55
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ.....	64
7.KAYNAKLAR.....	65

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Kromozom 3

Şekil 2: VHL geninin ekzonları, protein yapısı ve fonksiyonel ünitesi

Şekil 3: VHL gen mutasyonu

Şekil 4: Heterozigot değişiklik görülen alanların VHL proteini üzerinde fonksiyonel alanlar ile birlikte gösterimi

Şekil 5: Örnek görüntüler

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Hasta grubuna yapılan cerrahi tedaviler

Grafik 2: Tümörün T evresi

Grafik 3: Tümörün N evresi

Grafik 4: Tümörün M evresi

Grafik 5: Tümör spesmenlerinin histolojik incelemesi

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışma ile böbrek kanserlerinde VHL geninde mutasyonların tespit edilmesi ve mutasyonlar ile tümör tipi arasında ilişki kurulması ayrıca VHL geninde mutasyonların patolojik evrelere göre farklılıklarının belirlenmesi planlanmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Bu çalışmaya Şubat 2009-Kasım 2009 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı'nda böbrek tümörü ön tanısıyla ablatif cerrahi uygulanan 40 hasta rasgele seçildi. Aynı dönemde üroloji kliniğinde opere edilen, anamnezinde, fizik muayenesinde, temel hemogram, böbrek fonksiyon testleri, karaciğer fonksiyon testlerinde malignite kuşkusu uyandıracak bulgusu olmayan 38 hasta rasgele kontrol grubu olarak belirlendi. Hastalardan preoperatif dönemde VHL gen mutasyonlarını araştırmak amacı EDTA'lı tüpe 2 ml kan örneği alınarak incelendi. Patoloji sonucu malign böbrek tümörü gelmeyen 4 hasta çalışma dışı bırakıldı.

BULGULAR: Çalışmaya böbrek tümörü ön tanısı ile dâhil edilen 40 hastanın 20'i erkek 20'si kadın idi. Kontrol grubunda ise toplam hasta sayısı 37, erkek sayısı 21, kadın sayısı ise 16 olarak saptandı. Hasta grubunda yaş ortalaması 59, kontrol grubunda 61 olarak belirlendi. Hastaların 29'una açık radikal nefrektomi, 5'ine açık parsiyel nefrektomi, 2'sine ise laparoskopik radikal nefrektomi yapılmıştır. Tümörlerin 2002 TNM evrelemesine göre dağılımı incelendiğinde sırasıyla 8 (%22) hastada T1a, 11 (%31) hastada T1b, 3 (%8) hastada T2, 9 (%25) hastada T3a, 3 (%8) hastada T3b, 2 (%6) hastada ise T4 olarak saptandı. Hastaların 28'i (%78) N0, 5'i (%14) N1, 3'ü (%8) ise N2 olarak değerlendirilirken 5 (%14) hasta M1 olarak tespit edildi. Böbrek spesmenleri histolojik olarak UICC ve AJCC sınıflandırma sistemi ile incelendiğinde 18 (%50) hastada şeffaf hücreli BHT, 3 (%8,3) hastada kromofob hücreli BHT, 3 (%8,3) papiller tip 1 BHT olarak saptandı. Hastaların genetik inceleme sonuçları incelendiğinde ise toplam 6 hastada daha önce mutasyon olarak tanımlanmamış heterozigot değişiklik (2 hastada Q167Q ve V181V birleşik heterozigotluğu; 2 hastada P61P heterozigotluğu; 1 hastada L129L heterozigotluğu; 1

hastada P61P heterozigotluğu) görülmüştür. Bu değişikliklerin hiç birisi aminoasit değişikliğine neden olmamıştır.

SONUÇ: Literatürde ülkemizde sporadik böbrek tümörlü hastalarda VHL gen mutasyonlarının veya polimorfizmlerinin araştırıldığı herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızda hastaların hiç birisinde VHL mutasyonunun saptanmamış olması Türklerin genetik yapısındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Yurtdışı kaynaklı çalışmalar ile kıyaslandığında hasta sayısının az olması da yine hiç VHL mutasyonu saptanmamasına neden olarak gösterilebilir. Gelecekte sağlıklı Türk popülasyonunda VHL gen polimorfizmlerinin saptanmasında ve tümör dokusu çalışmaları ile birleştirilerek mutasyonların tanımlanmasında öncülük edecek bir çalışma olarak düşünmekteyiz.

1. GİRİŞ - AMAÇ

Ürolojik tümörler arasında 3. en sık ölüm nedeni olan renal hücreli karsinom, tüm erişkin malignansilerinin %2'sini oluşturmaktadır (1). Kaynaklandığı yer, progresyon, ve tümörlerin karakteristiklerinden edinilen bilgilerin katkısıyla sınıflandırma ve tanıda ilerlemeyi sağlayan sitogenetik ve moleküler teknikler geliştirilmiştir. Çoğunlukla sporadik olarak ortaya çıkmaktadır, %4 kadarı ise ailesel olarak ortaya çıkan VHL hastalığının bir komponenti olarak ortaya çıkmaktadır. Von Hippel-Lindau (VHL) genindeki germline mutasyonlar insanlarda retinal ve santral sinir sistemi hemanjioblastomları ile karakterize ailesel kanser sendromuna neden olmaktadır. VHL hastalığı otozomal dominant olarak kalıtılan, multi sistemik, retinal (%41–59), santral sinir sistemi hemanjioblastomlarına (%57–60), renal hücreli kanserlere (%24–28), feokromasitomaya (%7–19), ve diğer organlarda tümörlere predispozisyonla karakterize ailesel kanser sendromlarındandır (2). Biallelik VHL gen defektleri sporadik şeffaf hücreli böbrek hücreli tümörlerin (BHT) yaklaşık %75'inde bulunmaktadır. VHL geni 3p25-26 bölgesinde lokalize 3 ekzonlu bir gendir. VHL genindeki mutasyonlar ile tümör tipinin belirlenmesi ve hastalığın prognozu arasında korelasyon bildirilmektedir (1). Mutasyonun gen içindeki yerleşiminin tümörün tipini, boyutunu ve agresif seyredip seyretmeyeceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır. Hastalığın seyri süresinde hastanın kendisine olduğu kadar sonraki kuşaklarda mutasyon taraması ile erken tanı ve tedavi imkânlarının uygulanması gerçekleşecektir. Tüm ekzonlarının çoğaltılabilir olması ve her hastada yeni bir mutasyon ortaya çıkarılabiliyor olması nedeniyle mutasyon tespiti dizi analizi yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Her hastaya dizi analizi uygulanması oldukça maddi yük getirecek bir işlem olduğundan dizi analizi öncesinde sadece belirlenen bölgelerin seçilmesi işlemi SSCP veya DHPLC gibi işlemlerle gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemlerde normalden farklılık gösteren diziler seçilebilmekte ancak farklılığı yaratan tespit edilememektedir. Farklılığı yaratan mutasyonun tespit edilebilmesi amacıyla seçilen bölge dizi analizi ile değerlendirilmektedir. Bu çalışma ile böbrek kanserlerinde VHL geninde mutasyonların tespit edilmesi ve mutasyonlar ile tümör tipi arasında ilişki kurulması

planlanmaktadır. Ayrıca VHL geninde mutasyonların patolojik evrelere göre farklılıklarının belirlenmesi planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek tümörleri tarihsel değerlendirme

Tarihsel süreç içerisinde böbrek hücreli kanser hipernefroma, Grawitz tümörü, nefrokalsinom, alveolar karsinom ve renal adenokarsinom isimleri ile anılmıştır. Bu çeşitliliğin asıl nedeni böbrek hücreli karsinomun hangi dokudan veya hücrelerden geliştiğinin tam olarak aydınlatılamamış olmasıdır. Carson'a göre (1928), böbrek tümörlerinin ilk gros değerlendirilmesi 1826'da Konig'in gözlemlerine dayanmaktadır. Robin 1855 yılında böbrek hücreli kanserin renal tübüler epitelyumdan kaynaklandığını öne sürmüştü, bu görüş 1867'de Waldayer tarafından da kanıtlanmıştır (1). Grawitz ise 1883 yılında böbrek tümörlerinin böbrek içerisindeki adrenal artıklardan köken aldığını iddia ederek kavram karışıklıklarına neden olmuştur (2). Oberling ve arkadaşları tarafından 1960 yılında elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarla böbrek hücreli kanserin proksimal tübül epitelyumundan kaynaklandığı gösterilmiştir (3).

2.2. Böbrek tümörleri epidemiyoloji, etyoloji ve risk faktörleri

Böbrek hücreli tümörler ürolojik kanserler içerisinde sık görülen ve önemli ölüm oranları ile ön plana çıkan patolojilerdir. Erişkin kanserlerinin %3'ünü oluşturmaktadır. Ürogenital kanserler içerisinde prostat ve mesane kanserlerinden sonra 3. sırada yer almaktadır. Erkek kadın oranı yaklaşık olarak 3/2'dir (7,8). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2009 yılında tahmin edilen renal pelvis ve böbrek tümörlü yeni vaka sayısı 57760 iken; buna bağlı ölüm sayısı 12980 olarak beklenilmektedir (7). Dünyadaki 20 coğrafi alanı içine alan GLOBOCAN verilerine göre 2002 yılında 208000 böbrek kanserli yeni hasta ve buna bağlı 102000 ölüm bildirilmiştir (8). Böbrek hücreli tümör genellikle ileri yaşlarda ortaya çıkar ve 6.-7. dekatlarda en yüksek seviyeye ulaşır. Hastalık büyük oranda sporadik olup %4'ü ailesel olarak saptanmaktadır (1).

Böbrek kanserlerinin gelişmesinde değişik faktörler sorumlu tutulmaktadır. Sigara kullanımının böbrek kanseri ile ilişkisini değerlendiren bir meta-analizde 24 çalışma

incelenmiş ve etyolojik bir faktör olduğu ispatlanmıştır. Sigara içenlerde içmeyenlere göre 1,6-2,03 kat daha fazla böbrek kanseri görülmektedir (9). Epidemiyolojik çalışmaların büyük kısmında böbrek kanserlerinin obezite ile ilişkisi gösterilmiştir. Vücut kitle indeksi fazla olanlarda böbrek kanseri riski yaklaşık 2 kat artmaktadır. Kolesterol ve diğer lipidlerin artışının immün sistemi baskılayarak tümör gelişimine neden olabileceği düşünülmektedir (10). Fiziksel aktivite artışı ile böbrek kanseri riski azalmakta bu da fiziksel aktivitenin artışı ile obezitenin önlenmesi ile açıklanmaktadır (11). Hipertansiyon ile böbrek kanserine bağlı mortalitede artış görülmektedir. Bu durumun antihipertansiflere mi hipertansiyonun kendisine mi bağlı olduğu açık değildir (12). Böbrek kanserlerinin görülme oranlarının toplumlar arasında farklılık göstermesini açıklayan bir faktör beslenme alışkanlıklarıdır. Et ve süt ürünlerinin fazla tüketilmesi böbrek kanseri riskini 1,5 kat arttırmaktadır, meyve ve sebze tüketimi ise böbrek kanseri riskini azaltmaktadır (13). Meslek nedeniyle asbest, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (asfalt ve yangın söndürücü sektörü), organik çözücüler (benzidin, benzen, herbisitler ve vinil klorid) ve petrol ürünlerine maruz kalanlarda böbrek kanseri riski artmaktadır (14). Ankilozan spondilit ve serviks kanseri nedeniyle iyonize radyasyon (radyum-224) tedavisi alan hastalarda böbrek kanseri gelişme riski yüksektir (14). Kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyaliz uygulanan ve böbreğin kazanılmış kistik hastalığı gelişen hastalarda böbrek kanseri gelişme riski yüksektir (15). Üriner sistem enfeksiyonu hikâyesi olanlarda böbrek kanseri insidansının 1,9 kat arttığı bildirilmektedir. Bakteriyel enfeksiyonun inflamasyonunda oluşan reaktif oksijen radikalleri ve nitrozaminlerin DNA hasarına neden olarak karsinogeneizde rol aldığı düşünülmektedir (16). Böbrek kanserlerinde aile hikâyesi olanlarda renal hücreli karsinom gelişme riski 4 kat artmaktadır. Ailesel sendromlarla gelişen böbrek kanserlerinde genetik faktörler söz konusu olup her iki böbrekte ve multiple olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda von Hippel-Lindau ve tuberoz skleroz gibi gen mutasyonları olan hastalıklarda böbrek kanseri gelişme riskinin yüksek olduğunu göstermektedir (17). Böbrek tümörlerinin gelişiminde sorumlu tutulan risk faktörleri tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1: Böbrek Tümörlerinde Risk Faktörleri

Sigara
Obezite
Sedanter Yaşam
Hipertansiyon
Beslenme Alışkanlıkları
Meslek
İyonize Radyasyon
Kronik Böbrek Yetmezliği
Üriner Sistem Enfeksiyonu
Aile Öyküsü

2.3. Sınıflama

Böbrek tümörlerinin en kapsamlı sınıflaması 1970 yılında Deming ve Harvard tarafından yapılmıştır. Bu sınıflama çeşitli kistik hastalıkları ve böbreği sekonder tutan retroperitoneal tümörleri de içermiştir (1). Bu sınıflamanın kapsamlı ve komplike olması nedeniyle daha az komplike bir sınıflama yapılması gündeme gelmiş ve Glenn tarafından 1980 yılında ortaya konulmuştur (4). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2004 yılında Mainz ve Hidelberg'in sınıflamalarının özeti olarak nitelendirilebilecek böbrek tümörleri sınıflandırmasını yapmıştır. Bu sınıflamada patolojik ve genetik analizlerin sonuçları da göz önünde bulundurularak kategoriler oluşturulmuştur. DSÖ'nün en son yapılan böbrek tümörü sınıflaması Tablo 2'de gösterilmiştir. Ailesel böbrek kanserleri ayrı bir grup olarak belirtilmiş ve Tablo 3'de belirtilmiştir (5).

Tablo 2: Dünya Sağlık Örgütü 2004 Böbrek Tümörü Sınıflaması

Ailesel böbrek tümörü
Böbrek hücreli tümör (BHT)
Malign
Şeffaf hücreli BHT
Multiloküler şeffaf hücreli BHT

Papiller BHT

Kromofob BHT

Bellini toplayıcı kanal tümörü

Renal medüller tümör

Xp11 translokasyon karsinomu

Nöroblastoma ile ilişkili karsinoma

Müsinöz tubuler ve iğsi hücreli karsinoma

Sınıflandırılmayan BHT

Benign

Papiller Adenoma

Onkositom

Metanefrik tümör

Metanefrik adenom

Metanefrik adenofibrom

Metanefrik stromal tümör

Nefroblastik tümör

Nefrojenik artık

Nefroblastoma

Kısmen kistik diferansiasyon içeren nefroblastoma

Nöroendokrin tümör

Karsinoid

Nöroendokrin karsinoma

Primitif nöroektodermal tümör

Nöroblastoma

Feokrositoma

Mix mezenkimal ve epitelyumyal tümör

Kistik nefroma

Mix epitelyal ve stromal tümör

Synovial sarkom
Diğerleri
Mezenkimal tümör
Hematopoetik ve lenfoid tümör
Germ hücreli tümör
Metastatik tümör

Tablo 3: Ailesel BHT: Sendromik ve nonsendromik bulgular

Sendrom	Gen	Tümör
Von Hippel-Lindau	VHL (3p25)	Şeffaf Hücreli
Tuberoz skleroz	TSC1, TSC2	Anjiomyolipom, şeffaf hücreli, diğerleri
Kromozom 3 translokasyonu	Sorumlu gen bulunamadı	Şeffaf hücreli
Ailesel böbrek kanseri	Gen tanımlanamadı	Şeffaf hücreli
Hereditör papiller BHT	c-met	Papiller tip 1
Birt-Hogg-Dube (BHD)	BHD	Kromofob hücreli
Ailesel onkositoma	Birçok kromozomda parsiyel veya komplet kayıp	Onkositom
Hereditör leiomyom-BHT	FH	Papiller tip 2

2.3.1. Papiller adenom

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2004 sınıflamasına göre, 5 mm veya daha küçük çaplı papiller veya tübüler yapılardan oluşmaktadır. Renal tübül epitelyum hücrelerinden

köken alan en sık tümör olup otopsi serilerinde 40 yaş altı yetişkinlerde %10, 70 yaş üzerinde ise %40 oranında izlenmektedir. Benzer lezyonlar uzun süre hemodiyaliz uygulanan hastalarda da sıklıkla ortaya çıkmakta olup akkiz renal kistik hastalık tanısı alan hastaların %33'ünde gözlenmektedir (6).

2.3.2. Onkositom

Benign renal kitlelerin %3-7'sini oluşturmaktadır, Açık kahverengi renkli, düzgün kenarlı, genellikle ortasında skar dokusu bulunan, nekroz ve hipervaskülaritenin hiç gözlenmediği büyük çaplı (ortalama 4–6 cm) tümörlerdir. Ayırıcı tanıdaki zorluklar nedeniyle çoğu kez BHT nedeniyle radikal nefrektomi veya parsiyel nefrektomi yapılan hastaların patolojik spesmenlerinin histopatolojik incelenmeleri ile tanı alır. Metastaz yaptıkları henüz gösterilememiştir (6).

2.3.3. Şeffaf hücreli böbrek hücreli tümör

Tüm renal hücreli tümörlerin %70'ini oluşturarak yetişkinlerde en sık görülen böbrek tümörüdür. Sporadik şeffaf hücreli böbrek hücreli tümörde ortalama yaş 61 iken germline von Hippel-Lindau mutasyonu taşıyıcılarında yaş 37'ye düşmektedir. Çoğu vaka sporadik olup sadece %5 kadarı aileseldir. Üçüncü kromozom üzerinde bulunan VHL geni tümör baskılayıcı gendir ve bir alel kaybı sporadik BHT'lerin %98'inde görülür. Bu gen VHL hastalığı olanlarda ise kayıptır ve BHT gelişme olasılığı bu hastalarda %40'tır (6).

Genellikle soliter ve böbreğin korteksinde yerleşimli olup kesit yüzü heterojen görünümündedir. Yoğun lipid içeriği nedeniyle sarı turuncu alanların yanı sıra, nekroz, kistik dejenerasyon ve kanama alanları izlenebilir. Çevresinde psödokapsül bulunabilir. Nükleer özellikler oldukça değişkendir; bu nedenle nükleer büyüklük ve yapıya, belirgin nükleolusun olup olmamasına göre çeşitli sınıflamalar ortaya konmuştur. Fuhrman sisteminin adaptasyonu bugün sıklıkla kullanılmaktadır. Bu sınıflama tümör evrelemesinden bağımsız olarak prognozu öngörebilmektedir ve Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4: Böbrek Hücreli Tümörde Fuhrman Nükleer Grade

Grade	Nükleer çap (µm)	Nükleer çeper	Nükleolus
1	10	Yuvarlak, uniform	Yok ya da silik
2	15	Düzensiz	Küçük
3	20	Düzensiz	Belirgin
4	>20	Düzensiz, multilobüle	Belirgin, yoğun kromatin demetleri

Şeffaf hücreli BHT hücreleri vimentin düşük molekül ağırlıklı sitokeratin, CK8, CK18 ile immünohistokimyasal olarak pozitif boyanırlar.

Sporadik şeffaf hücreli BHT'lerin çoğunda VHL geninin bulunduğu lokalizasyonda translokasyon veya delesyon gözlenmektedir. Çok küçük çaplı tümörlerde bile kromozom 3p delesyonu izlendiği için şeffaf hücreli BHT gelişiminde başlangıç noktasının bu değişiklik olduğu düşünülmektedir. BHT'lerin progresyonu veya metastazı sırasında birçok kromozom bölgelerinde ek genetik değişiklikler ortaya çıkmaktadır.

2.3.4. Multiloküler şeffaf hücreli BHT

Ortalama görülme yaşı 51'dir. Kesit yüzü çok sayıda kistlerden meydana gelen bu tümörde septalar şeffaf hücrelerce döşenir ve çekirdekler Fuhrman grade 1'dir (6). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bildirilen vakaların hiçbirinde rekürrens veya metastaz gösterilmemiştir.

2.3.5. Papiller BHT

Morfolojik olarak papiller veya tübülopapiller yapılardan meydana gelmektedir. Daha çok 5.-6. dekatlarda ve erkeklerde daha sık görülen bu tümör tüm BHT'lerin

%10-15'ini oluşturmaktadır (6). Genellikle psödokapsüle sahiptir, diğer renal parankimal tümörlerle kıyaslandığında bilateralite ve multifokalite daha sık görülür. Nükleer derece genellikle yüksek olup nükleol içermektedirler. 2004 DSÖ sınıflamasında tip 1 ve tip 2 olarak 2 alt tipi vardır. Tanı aldığında Tip 1 tümörler daha düşük evrede iken, Tip 2 tümörlerin çoğu daha yüksek derecede ve evrededir.

2.3.6. Kromofob tip BHT

Renal epitelyal tümörlerin %5'ini oluşturan bu tümörün herediter ve sporadik formları vardır. Bilateral ve çok sayıda izlendiklerinde Birt-Hogg-Dube sendromu akılda bulundurulmalıdır. Şeffaf ve eozinofilik hücreler bir arada ve karışık halde bulunabilir. Sadece %10'u böbrek kapsülü dışına yayılır (6).

2.3.7. Bellini toplayıcı kanal karsinomu

Yetişkin böbrek epitelyal tümörlerin %1'ini oluşturur. Sıklıkla erkeklerde görülür ve prognozu çok kötüdür (18).

2.3.8. Renal medüller karsinom

Sıklıkla 10–40 yaşlarında görülen bu neoplazm hemen tüm vakalarda sickle cell trait ile birliktelik gösterir. Çok agresif seyirli bu tümörlerin operasyon sonrası ortalama sağkalım 15 hafta olarak belirtilmektedir (19).

2.3.9. XP11.2 translokasyonu/TFE3 gen füzyonu gösteren renal karsinomlar

Çocukluk çağı hastalarında sık saptanır. Papiller yapılar üzerinde sıklıkla psammom cisimlerine rastlanmaktadır (6).

2.3.10. Nöroblastom ile birliktelik gösteren BHT

Sıklıkla nöroblastom olgularından hayatta kalan çocuklarda görülmektedir ve ortalama yaş 13,5 olarak saptanmıştır (20).

2.3.11. Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom

Kadın hastalarda daha sıklıkla görülür. Benign seyir gösterir, hastalıktan ölüm bildirilmemiştir (6).

2.3.12. Sınıflandırılmayan BHT

Vakaların yaklaşık %4-5'ini oluşturur (6).

2.3.13. Wilms tümörü (Nefroblastom)

Nefrojenik blastemal hücrelerden köken alan bu tümör yenidoğan ve çocukluk çağının en sık görülen böbrek tümörü olup tüm kanserlerin %25'ini oluşturur. Sıklıkla 2–5 yaşlarında görülür, genellikle tek taraflıdır. Çoğunluğu (%90) sporadik olmakla birlikte %5'lik bir kısmı WAGR Sendromu, Beckwith-Wiedemann Sendromu ve Denys-Drash Sendromu gibi kalıtsal hastalıklar ile birliktelik gösterebilir (6).

2.3.14. Nefrojenik kalıntılar ve nefroblastomatozis

Nefrojenik kalıntılar böbrekte anormal olarak sebat eden embriyonel hücre odaklarıdır ve premalign lezyon olarak kabul edilirler çünkü nefroblastom geliştirebilirler. Wilms tümörlü böbreklerde görülme sıklığı artar (6).

2.3.15. Kısmen kistik diferansiasyon gösteren nefroblastom

Erkek çocuklarda daha sık görülüp 24 aydan önce görülmektedir. Cerrahi küratiftir (21).

2.3.16. Metanefrik adenom ve adenofibrom

Hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülebilir. Kadınlarda daha sık görülür, yaklaşık yarıya yakını insidental saptanır (6).

2.3.17. Metanefrik stromal tümör

Ortalama görülme yaşı 24 ay olan nadir ve benign bir tümördür. Cerrahi küratiftir (6).

2.3.18. Konjenital mezoblastik nefroma

Bebeklerde en sık görülen konjenital böbrek tümörüdür (6).

2.3.19. Şeffaf hücreli sarkom

Ortalama 36. ayda görülen nadir bir neoplazmdır. Sık nüks eden bir tümördür.

2.3.20. Rhabdoid tümör

Tüm çocukluk çağı böbrek tümörlerinin %2'sini oluşturan nadir ve invaziv bir neoplazmdır. %80'i hayatın ilk iki yılında tanı alır. %90 tanı aldıktan sonra ilk 2 yılda hayatını kaybetmektedir (6).

2.3.20. Ailesel BHT

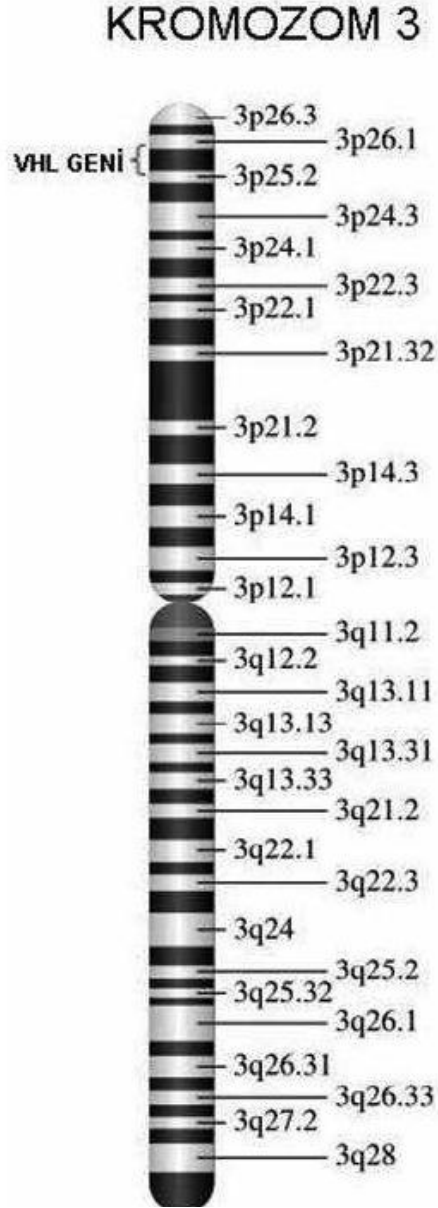
2.2.20.1 Von Hippel Lindau (VHL) hastalığı

Von Hippel Lindau 36000 doğumda 1 görülen ve otozomal dominant kalıtım şekli gösteren böbrek kanserlerinin hereditör formudur (22). Klinik bulguları böbrek hücreli tümör, feokromasitoma, pankreatik kist, endolenfatik sak tümörleri, epididimin papiller kistadenomu, retinal anjiomlar, beyin sapı, beyincik ve spinal kord hemanjioblastomu gelişme risklerini içerir. En erken lezyonlar retinal hemanjioblastomlardır ve lazerle fotokoagülasyon yapılmazsa körlüğe neden olan bir durumdur (41). İkinci erken olarak santral sinir sistemi hemanjiomları görülür. Tümörlerin vaskülariteleri çok fazladır. Merkezi sinir sistemi tutulumlarının tedavisinde yaşanan son gelişmeler ile metastatik böbrek hücrelerinde ölüm bu hastalardaki en sık mortalite nedeni haline gelmiştir. Böbrek hücreli tümör sıklıkla şeffaf hücreli tipte ve solid veya kistik olabilir. Hastalar her bir böbrek başına 600'e kadar mikroskopik tümör, 1000'in üzerinde de kist geliştirebilirler (23). Germline mutasyonların niteliğine göre klinik bulgular değişebilmektedir (6). Bu klinik bulgular feokromasitomanın eşlik edip etmemesine göre oluşturulmaktadır ve Tablo 5'de gösterilmektedir. Bu hastalarda kromozom 3p25–26 da lokalize olan VHL geni germline mutasyonlarına bakılmalıdır (Şekil 1).

Tablo 5: VHL Hastalarında Fenotip

VHL Tipi	Fenotip	
	BHT	Feokromasitoma
Tip 1	+	-
Tip 2A	+	+
Tip 2B	-	+

Resim 1: Kromozom 3



VHL hastalarında 3. kromozomun kısa kolundaki kayıp böbrek tümörleri ile ilişkili bulunmuştur (24). Böbrek kanseri hücre örnekler incelendiğinde VHL geninde tek bir normal alel kaybının VHL ilişkili şeffaf hücreli böbrek tümörü ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. VHL geni üzerindeki germline mutasyonlar VHL ailelerinde %100'e yakın oranda saptanmaktadır (25).

VHL hastalığındaki farklı klinik manifestasyonlar VH genindeki mutasyonun yeri ve tipi ile ilişkili olabilir (26). Maranchie ve arkadaşları böbrek hücreli tümör

insidansının parsiyel germline VHL mutasyonlu hastalarda komplet mutasyonlu olan hastalarla kıyaslandığında daha yüksek olduğunu saptamışlardır (27). Çeşitli organ sistemlerinin tutulum yaygınlığının mutasyon analizleri (insersiyon, delesyon..) ve mutasyon lokalizasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. VHL gen mutasyonları sporadik form şeffaf hücreli böbrek hücreli tümörlerde de PCR incelemeleri ile saptanabilmektedir (28).

VHL geni transkripsiyonun modülasyonundan ve büyüme faktörlerinin sentezinden sorumlu pVHL proteinini kodlar (Şekil 2) (29). VHL proteini 213 aminoasit olan pVHL₃₀, 160 aminoasit olan pVHL₁₉ proteinlerinden oluşur (30). Bu proteinlerin RNA'nın okunmasından sorumlu protein parçalarına bağlandığı düşünülmektedir. pVHL, elongin B ve elongin C ile Cul-2'nin heterodimerik kompleks oluşturarak hipoksi indüklenebilir faktör 1 α ve 2 α (HIF-1 α HIF-2 α) ya bağlanıp ubiquitin aracılı degradasyonu hızlandırır (31). HIF α subünitleri oksijen düzeyi normal olan hücrelerde bulunmaz, ancak hipoksik koşullarda hızla stabilize edilir. Oksijen duyarlılığı, hipoksi ile deaktive olan HIF prolihidroksilazlar ile kontrol edilir. HIF prolihidroksilazlar HIF α subünitinin VHL bağlayıcı bölgesindeki anahtar prolinleri modifiye eder. Hidroksilasyon yokluğunda VHL HIF α 'ya bağlanamaz ya da onun yıkılımı gerçekleşemez (32). VHL'de bir mutasyon olduğunda hipoksi, açlık ve diğer streslere bağlı olarak hücrel cevabın düzenlenmesinde rol oynayan HIF fazla miktarda birikir ve vasküler endotelyal growth faktör (VEGF), glukoz taşıyıcısı-1 (GLUT-1), platelet derived growth faktör (PDF), eritropoietin gibi vasküler büyüme faktörlerinin transkripsiyonunu artırır (33,34). VEGF vasküler permeabilite artışı ve tümör anjiogenezinden sorumlu faktördür ve görüntüleme yöntemlerinde görülen vasküler görünümünden sorumludur. Sonuçta VHL genindeki mutasyon hücre döngüsünün regülasyon bozukluğuna ve kontrolsüz hücre bölünmesine neden olur (35). pVHL, ayrıca hücre döngüsünün kontrolü, mRNA'nın regülasyonu, mikrotübül ve fibronektin metabolizmasını da etkilemektedir (36). Ayrıca tümöre bağlı antijen olan tümör büyüme faktörü ve karbonik anhidraz-9'un salgılanmasını da düzenler (37). Normal ekspresyonda VHL geninin 214 aminoasit kodlayan 3 ekzonu bulunmaktadır. Alternatif başlama kodonu olarak ta 54. kodon bulunmuştur (32). VHL'nin eşlik etmediği BHT'den elde edilen hücre örnekleri immün baskılanmış fareye enjekte edildiğinde farede tümörler oluşmaktadır. Wild-

VHL mutasyonlarının %27'si tek bir aminoasidi değiştiren mutasyonlardır. %27'si gövdede (frameshift) veya kodonlarda (internal stop codon), %4'ü ise bağlantı yerleri (splice donör) veya alıcı bölgelerdeki (acceptör site) mutasyonlara bağlıdır. %28'i bir ya da daha fazla ekzon içeren ve geri kalanı ise tüm VHL genini içeren geniş bozulmalardır. Hotspot mutasyonları tespit ettiği düşünölen birçok nokta mutasyonu akraba olmayan bireylerde tekrarlayarak meydana gelmektedir. Bu tür mutasyonlar etkin olmayan tamirler nedeniyle büyük oranda olduğu bilinen CpG dinökleotidlerinde oluşmaktadır (40).

VHL kesin tanısının konulabilmesi için DNA analizleri, Southern Blotting, Multiplex Amplification Probe Hybridization (MAPH), Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) gibi genetik analizler yapılabilir (42).

2.3.20.2. VHL sendromu olmaksızın şeffaf hücreli BHT

Tümör analizleri bu hastalarda iki genetik olayı ardı sıra gelmesi durumunda patolojinin oluştuğunu göstermişlerdir. Bunlardan ilki relokaliye olan kromozom 3p'nin instabiliteden dolayı kaybolması, ikincisi ise geride kalan VHL kopyasının mutasyon ya da delesyonudur. Bu hastalarda VHL'nin geliştirdiği diğer organ tümörlerinin oluşmamasının sebebi henüz anlaşılamamıştır (43).

2.3.20.3. Familyal şeffaf hücreli BHT

Tespit edilebilir herhangi bir VHL gen mutasyonu saptanmadığı durumlarda tanı alır. Ortalama 47 ve daha erken yaşlarda tanı alır, birinci derece akrabalarda şeffaf hücreli BHT'ün iki ya da daha fazla görölmesi olarak tanımlanır (44).

2.3.20.4. Kalıtsal papiller BHT tip-1

Multiple, bilateral papiller böbrek tümörlü aileler ile kendini gösteren otozomal dominant kalıtılan bir sendromdur. Genetik analizler hastalığın 7q31.3 kromozomundaki MET protoonkogenindeki mutasyonlar sonucu oluştuğunu ortaya koymuştur (45).

2.3.20.5. Kalıtsal leiomyomatozis BHT

İlk olarak 2001 yılında tanımlanmıştır (46). Kutanöz ve uterin leiomyomların yanında agresif tip ve sıklıkla papiller tip-2 veya toplayıcı kanal BHT görülen hastalardır. Böbrek tümörleri genellikle soliter ve unilateraldir. 1q43.3-q43 üzerinde bulunan fumarat hidraz (FH) genindeki defekt sonucu oluşan otozomal dominant bir hastalıktır (47).

2.3.20.6. Birt Hogg Dube (BHD)

Fibrofolikülom, pulmoner kist, spontan pnömotoraks ve böbrek tümörü gelişimi sık görülen ve otozomal dominant kalıtılan herediter kanser sendromudur (48). Böbrek lezyonları sıklıkla distal nefrondan gelişir, bilateral ve multifokaldır. Böbrek tümörleri sıklıkla kromofob BHT (%33), hibrit tümör (%50) ve onkositomdur (%5). Ek olarak çevreleyen normal dokuda onkositozis %50 oranında görülür. Şeffaf hücreli tip gibi diğer böbrek hücreli tümörler de nadiren saptanabilir (49). Bu sendromun geni 17p11.2 üzerinde bulunur ve genin ürünü follikülidir, otozomal dominant kalıtım paterni gösterir (50). Kutanöz Birt-Hogg-Dube sendromlu hastaların %15-30'unda böbrek tümörü gelişir (51).

2.3.20.7. Ailesel onkositom

İlk olarak 1998 yılında tanımlanmıştır, tümörler yavaş büyür ve rastlantısal tanı alırlar. Hastalığın prevalansı bilinmemekte ve genetik lokusu hala tanımlanmamıştır. Teşhis otozomal dominant kalıtılan multiple onkositomların tanınması ile konur (52,53).

2.3.20.8. Kromozom 3 translokasyonu

Kromozom 3'ün kısa kolundan farklı kromozomlarla (3:2, 3:8, 3:11, 3:6) olan translokasyonlar sonucu ortaya çıkan böbrek tümörleridir. Translokasyonların böbrek

tümörüne neden olduğu bilinmekle birlikte bunun nasıl ortaya çıktığı kesin olarak bilinmemektedir (54).

2.4. Semptomlar ve tanı

Böbrek tümörleri retroperitoneal yerleşimlerine bağlı olarak sıklıkla asemptomatiklerdir. Semptomlar tümörün lokal büyümesine, hemorajiye, paraneoplastik semptomlara ya da metastatik lezyonlara bağlı oluşabilir. Klasik bilgi olarak BHT’de klinik bulgular, yan sırt veya karın ağrısı, palpe edilebilir bir kitle ve hematüriden oluşan bir triad olarak tanımlanmaktadır, ancak çok ender görülmektedir ve ileri evre hastalığın göstergesi olabilir (55). İleri evre hastalığın diğer belirtileri kilo kaybı, ateş, gece terlemeleri, ya da fizik muayenedeki palpabl servikal lenfadenopati, varikozel ve bilateral alt ekstermite ödemidir. Paraneoplastik sendromlar hastaların %20’sinde görülür (1). Bu sendromlar ve görülme sıklıkları tablo 6’de gösterilmiştir.

Tablo 6: BHT ile birlikte görülen paraneoplastik sendromlar

Paraneoplastik sendrom	Görülme sıklığı (%)
Sedimentasyon hızında artış	55.6
Hipertansiyon	37.5
Anemi	36.5
Kaşeksi, kilo kaybı	34,5
Pireksi	17,2
Anormal karaciğer fonksiyonu	14,4
Hiperkalsemi	4,9
Polisitemi	3,5
Nöromiyopati	3,2
Amiloidozis	2

Ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografinin sıklıkla kullanılması nedeniyle olguların %50’si insidental olarak saptanmaktadır (56). Böbrek hücreli tümör klasik triadı, paraneoplastik sendromlar veya laboratuvar bulguları ile gelen hastalarda ilk

basamakta yapılması önerilen tetkik ultrasonografidir. Yapılan incelemede kitle saptanması durumunda ise karşı taraf böbrek fonksiyonunun da değerlendirilebilmesi nedeniyle bilgisayarlı tomografi önerilmektedir (57). Bilgisayarlı tomografi böbrek kistlerinin Bosniak sınıflaması ile ayrımında da önem taşımakta ve komplike kistlerde radikal nefrektomi kararı verdirebilmektedir. Bosniak sınıflaması tablo 7’de gösterilmiştir. Laboratuvar incelemelerinde ise hemogloblin düzeyi, eritrosit sedimentasyon hızı, serum kalsiyum ve alkalen fosfataz düzeylerine bakılmalıdır (1).

Tablo: 7 Bosniak Sınıflaması

Gruplar	Duvar kalınlığı	Kalsifikasyon	Septum varlığı	Septumda kontrastlanma	Solid içerik
Tip 1	İnce	-	-	-	-
Tip 2	İnce	-/+	+ (ince)	+/-	-
Tip 3	İnce/kalın	+/-	+ (ince/kalın)	+	-
Tip 4	Kalın, düzensiz	+/-	+/-	+	+

Böbrek hücreli tümör evrelemesinde bilgisayarlı tomografi ve akciğer grafisi kullanılmaktadır (57). Manyetik rezonans görüntüleme lokal invaziv malignitede, venöz tutulum, böbrek yetmezliğinde ve kontrast alerjisi durumunda tercih edilmelidir (58). Metastaz taramasında akciğer grafisi, abdominopelvik bilgisayarlı tomografi ve karaciğer fonksiyon testleri yapılmalıdır. Kemik ve beyin metastazları genellikle semptomatiktir. Her hastaya kemik ve beyin metastaz taraması yapılmasına gerek yoktur. Kemik sintigrafisinin alkalen fosfataz yüksekliği ya da kemik ağrıları varlığında yapılması önerilmektedir. Toraks değerlendirilmesinde toraks BT en kesin yöntemdir. Toraks BT yapılamadığı durumlarda ise daha az güvenilir bir seçenek olan akciğer grafisi yapılabilir (59).

Perkütan biyopsi ya da aspirasyon endikasyonu görüntüleme yöntemleri sayesinde azalmıştır. Böbrek kitlelerinde ince iğne aspirasyon biyopsisi sonucu böbrek hücreli tümör tespit etme oranı %83- 90 arasında değişmektedir (1). Böylece %5-15’lik bir böbrek hücreli tümör oranı gözden kaçmaktadır (60). Böbrek hücreli tümörlerde

tedavi seçeneği cerrahi olduğu için ancak metastatik kanser, lenfoma, apse, soliter böbrek gibi tedaviyi değiştirecek durumlarda etkili olabilir. Kanama, tümör ekimi, pnömotoraks gibi komplikasyonlar akılda tutulmalıdır (61–62).

2.5. Evreleme

Böbrek hücreli tümörlerde günümüze kadar farklı evreleme sistemleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar ile evreleme sistemleri devamlı olarak güncellenmiş ve en son olarak 1997 yılında International Union Against Cancer (UICC) ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM sisteminde revizyon yaparak günümüzde en sık kullanılan sistemi geliştirmişlerdir (63). Bu sistem Tablo 8 ve Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 8: BHT için tümör, nod, metastaz evreleme sistemi, 2002 (UICC/AJCC)

T:	Primer Tümör
Tx	Primer tümörün varlığı kesin olarak değerlendirilememektedir
T ₀	Primer tümör saptanamamıştır
T _{1a}	Böbrekte sınırlı ve en büyük çapı 4 cm olan tümör
T _{1b}	Böbrekte sınırlı ve en küçük çapı 4 cm ancak en büyük çapı 7 cm olan tümör
T ₂	Böbrekte sınırlı ve en büyük çapı 7 cm’den büyük tümör
T ₃	Tümör major venlere veya adrenal beze veya perinefritik dokuya invazedir ancak gerota fasyasını aşmamıştır.
T _{3a}	Tümör adrenal beze veya perinefritik dokuya invazedir ancak gerota fasyasını aşmamıştır
T _{3b}	Tümör renal vene ya da diyafram altında vena kavaya yayılım göstermiştir
T _{3c}	Tümör gross olarak diyafram üstünde vena kavaya yayılım göstermiştir
T ₄	Tümör gerota fasyasını aşmıştır
N:	Rejyonel lenf nodları
Nx	Rejyonel lenf nodlarının varlığı kesin olarak

	değerlendirilememektedir
N ₀	Klinik değerlendirme ile belirgin lenf nodu saptanamamıştır
N ₁	Tek reyonel lenf nodu metastazı
N ₂	Birden çok reyonel lenf nodu metastazı mevcut
M	Uzak metastaz
M _x	Uzak metastaz varlığı kesin olarak değerlendirilememiştir
M ₀	Uzak metastaz yok
M ₁	Uzak metastaz var

Tablo 9: TNM Evre Gruplandırması

Evre 1	T1, N0, M0
Evre 2	T2, N0, M0
Evre 3	T1, N1, M0
	T2, N1, M0
	T3a, N0, M0
	T3a, N1, M0
	T3b, N0, M0
	T3b, N1, M0
	T3c, N0, M0
	T3c, N1, M0
Evre 4	T4, N0, M0
	T4, N1, M0
	Herhangi bir T, N2, M0
	Herhangi bir T, Herhangi bir N, M1

2.6. Böbrek tümörlerinin doğal seyri

Hastalığın her evresinde yapılabilen radikal nefrektomi nedeniyle böbrek tümörlerinin doğal seyri ile ilgili bilgiler sınırlı kalmıştır. Chawla ve arkadaşlarının 1–12 cm’lik tümörü bulunan 49 hastanın 36 aylık izlemlerinde ortalama boyutu 2,97 cm olan 61 tümörün yıllık ortalama büyüme hızını 0,20 cm/yıl olarak bulmuşlardır (64). Aynı çalışmada tanı anındaki tümör çapının tümör büyüme hızı için anlamlı bir

gösterge olmadığı saptanmıştır. Literatür verileri küçük çaplı tümörlerin benign olma olasılıklarının daha yüksek olduğunu göstermiştir (65). Metastaz riski için eşik değer olarak 3 cm sınırını öneren araştırmacılar varsa da literatürde 3 cm sınırını sorgulayan yayınlar mevcuttur. VHL olguları içerisinde 52 hastada 3 cm'den küçük çaplı metastatik hastalık ve 3 cm'den büyük tümörler içerisinde ise %25 metastaz bildirilmiştir. Bu sebeple metastaz açısından kesin bir eşik değer vermek mümkün görünmemektedir (66). Tümörün davranışının tanı anındaki tümör çapı ile kestirmenin mümkün olmaması nedeniyle sadece cerrahi tedaviyi tolere edemeyecek, ek hastalıkları nedeniyle cerrahi veya sistemik tedavi uygulanamayacak hastalar dışında izlem uygulanmamalıdır. Tümörün davranışını öngörme adına tümör belirleyiciler ve prognostik faktörler değerlendirilebilir.

2.7. Tümör belirleyicileri

Tümör belirleyiciler tümör dokusundan, kanda dolaşan tümör hücrelerinden, lenf nodlarından, kemik iliğinden ve diğer vücut sıvılarından (asit, idrar, dışkı vb) elde edilebilir. Tanı, evreleme, metastatik hastalık taraması, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi ve tarama amaçlı kullanılabilirler. BHT'de tümör belirleyicileri kökenleri ve fonksiyonlarına göre tablo 10'da görüldüğü gibi sınıflandırılabilir.

Tablo: 10 Tümör Belirleyicileri

1-	Biyomoleküler tümör belirteçleri
2-	Hücre siklusuna dayalı tümör belirteçleri
3-	İmmünojen özelliğe sahip tümör belirteçleri
4-	Apopitoza dayalı tümör belirteçleri
5-	Enzimatik tümör belirteçleri
6-	Cluster Designating (CD) tabanlı tümör belirteçleri
7-	Proteinöz yapıdaki tümör belirteçleri
8-	Adezyon molekülleri
9-	Malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilen hücre spesifik proteinler
10-	Karyometrik tümör belirteçleri
11-	Sitoloji ve DNA'ya dayalı tümör belirteçleri

2.7.1. Biyomoleküler tümör belirteçleri

2.7.1.1. Ferritin

Vücuttaki demirin depo formudur. Kırkalı tarafından yapılan bir çalışmada ferritin düzeyinin renal vende periferal kana göre böbrek tümör hücrelerinde normal hücrelere göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (67). Ancak mevcut bilgiler ışığında ferritin henüz böbrek kanseri için çok güvenilir bir belirteç olarak görülmemektedir.

2.7.1.2. Nükleer matriks protein-22 (NMP-22)

Mesane kanserli hastaların idrarlarında takip amaçlı kullanılan bir proteindir. Yapılan bir çalışmada BHT hastalarının idrarında NMP-22 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmış ve nefrektomiden 10 gün sonra anlamlı olarak düştüğü gözlenmiştir (68).

2.7.1.3. Eritrosit sedimentasyon hızı

Şeffaf hücreli karsinom olgularının %50'lik kısmında yükselirken papiller hücreli karsinom olgularının %30'luk kısmında yükselmektedir. Ancak bu parametre diğer organların tümörlerinde ve enfeksiyon durumlarında da yükseldiği için böbrek tümörlerinde güvenilir bulunmamıştır (69).

2.7.1.4. Neopterin

Aktive monosit ve makrofajlardan sentezlenir. BHT'de immünoterapiye yanıtı değerlendirmede kullanılabilir (70).

2.7.1.5. *Adiposit farklılaşması ile ilgili protein*

Şeffaf hücreli BHT hücre sitoplazmasında yüksek düzeyde saptanmıştır. Böbrek kanseri alt gruplarının ayırımında ve prognozun tayininde faydalıdır (71).

2.7.2. **Hücre siklusuna dayalı tümör belirteçleri**

2.7.2.1. *Ki-67 (Proliferatif hücre nükleer antijeni)*

Lenf nodu tutulumu olmayan BHT’de agresifliğin göstergesi olabileceği düşünülmüş ancak yeterli kanıtlar elde edilememiştir (72).

2.7.2.2. *p53*

Tümör süpresör genidir. Hücre apoptozunun düzenlenmesinde rol oynar. Genin mutasyonu sonucunda p21 proteini üretilmez ve hücre bölünmesini engelleme mekanizması çalışmaz. Böbrek kanserlerinin özellikle papiller tipinde p53 aşırı ekspresyonu saptanmıştır (73).

2.7.2.3. *p21*

Siklin bağımlı kinazların inhibitörüdür. Yapılan bir çalışmada p21’in p53’ten daha potent bir tümör supresör geni olduğu gösterilmiştir (74).

2.7.2.4. *Siklin A ve siklin D1*

Siklinler, hücre siklusunun farklı ve özel noktalarında geçişi kontrol eden bağımlı kinazların alt üniteleridir. Böbrek kanserinin tüm evrelerinde siklin A güçlü ve bağımsız bir prognostik faktör olarak saptanmasına karşın Siklin D1’in anlamlı prognostik değeri bulunamamıştır (75).

2.7.3. İmmünojen özelliğe sahip tümör belirteçleri

2.7.3.1. Tümörle ilişkili tripsin inhibitörü

Yapılan bir çalışmada BHT olgularında düzeyi yüksek bulunmuştur ve CEA, CA15-3, CA125, CA19,9 ve ferritinden daha duyarlı bir test olarak saptanmıştır. Ancak sadece hasta izleminde kullanılabilecek bir belirteçtir (76).

2.7.3.2. Doku polipeptid spesifik antijen

Tümör yükünden çok çoğalma oranını yansıtır. BHT’de duyarlılığı %60’dır (77).

2.7.3.3. Diferansiyasyon antijenleri

Normal ve kanserli hücrelerden sentezlenir. Şeffaf hücreli kanserlerde de birçok çeşidi tanımlanmıştır (78).

2.7.3.4. Tümör spesifik paylaşılan antijen

RAGE1, bu konuda bulunan ilk gendir ancak 57 BHT’lü hastanın sadece 1’inde saptanması nedeniyle klinik kullanımı kısıtlıdır (78).

2.7.3.5. Anormal eksprese edilen antijenler

Şeffaf hücreli böbrek kanserinde G250 antijeni %80 üzerindeki tümörden eksprese edilmektedir ve normal böbrek dokusunda bulunmamaktadır. Bu antijen spesifik immünoterapi için ümit vaat etmektedir (78).

2.7.4. Apoptoza dayalı tümör belirteçleri

2.7.4.1. Apoptotik indeks

Tümör gelişimi artmış hücre proliferasyonuna ve azalmış hücre ölümüne bağlıdır (79).

2.7.4.2. Bcl-2

Apoptoza cevap vermede rol oynayan bir protein ailesidir. Bu proteinin aşırı ekspresyonu apoptoz inhibisyonuna neden olur ve hücre yaşamı uzar (80).

2.7.4.3. F7-26

Dokuda nekrozun TUNEL tekniği ile saptanmasını engelleyerek apoptozun tanınmasında spesifik rol oynar (81).

2.7.5. Enzimatik tümör belirteçleri

2.7.5.1. Gama-enolaz

Böbrek hücreli tümörde evreleme ve tedavi izleminde kullanılabileceği belirtilmiştir. BHT olgularında kontrol hastalarına göre daha yüksek bulunmuştur. Şeffaf hücreli tipte granüler tipten ve ileri evrede düşük derecelerden daha yüksektir (82).

2.7.5.2. Inducible nitrik oksit (iNOS)

Böbrek hücreli tümör olgularında tümörün hipoksik adaptasyonu yanında, venleri invaze ederek tümör trombüsü oluşturabilme yeteneği ile ilişkili bir molekül olarak düşünülmektedir. Tümör trombüsünde iNOS pozitif olan olgularda, iNOS negatif olanlara göre daha kötü prognoz izlenmiştir (83).

2.7.5.3. Timidilat sentaz

Böbrek hücreli tümörün malign potansiyelini gösterebileceği ve yüksek timidilat sentaz aktivitesi olan BHT olgularında 5-FU tedavisinden fayda sağlanabileceği ileri sürülmüştür (84).

2.7.5.4. Piruvat kinaz tip M2

İleri evre böbrek kanserlerinde palyatif tedavilerin başarısını kontrol etmede faydalı olup olmadığı netlik kazanmamıştır (85).

2.7.6. Cluster designating tabanlı (CD) tümör belirteçleri

2.7.6.1. CD10

Nötral metallopeptidaz aktivitesine sahip bir hücre yüzey enzimidir. Böbrek kanserlerinin histolojik alt tipini ortaya koymada yardımcıdır (86).

2.7.6.2. CD154

Tümör hücreleri tarafından eksprese edilir, patofizyolojik yönü henüz bilinmemektedir (87).

2.7.6.3. CD44

Adezyon molekül ailesidir. Böbrek tümörlerinin farklı histolojik tiplerinde CD44 molekülünün farklı ekspresyonu bildirilmiştir (88).

2.7.6.4. CD95 (APO-1/Fas)

Apoptozun anahtar düzenleyicisidir. CD95 ile aktarılan apoptoza direnç insanlarda böbrek kanserinin önemli bir özelliğidir ve sitotoksik ilaçların bu tümör üzerindeki etkisizliğine katkıda bulunabilmektedir (89).

2.7.6.5. CD70

Tümör nekroz faktör ailesinin bir üyesidir. Yapılan bir çalışmada şeffaf hücreli böbrek kanserinin diğer böbrek kanseri tiplerinden ayrımında spesifik bir belirteç olarak görülmektedir (90).

2.7.7. Proteinöz yapıdaki tümör belirteçleri

2.7.7.1. Eritropoietin

Renal korteksten üretilen bir glikoproteindir. Tümör belirteci olarak duyarlılığı çok düşük olmasına karşın prognostik bilgiler sağlar. Tümörün evresi ve derecesi ile korelasyon gösterir (91).

2.7.7.2. Glikoprotein tümör belirteçleri

CA 125 ve CA15-3'ün BHT evrelemesinde kullanılabileceği ve CA 125'in prognostik değeri olabileceği belirtilmiştir (92).

2.7.7.3. Fibrinojen

Pıhtılaşmada önemli rolü olan bu protein karaciğerde sentezlenir. Paraneoplastik sendromun bir parçası olarak böbrek kanserinde disfibrinojenemi meydana gelmektedir ve tümör progresyonunda duyarlı bir plazma tümör belirtecidir (93).

2.7.7.4. Hücresel fibronektin

Hücre yapışmasının ve tümör yayılımının inhibisyonunda rol oynar. Radikal cerrahi sonrası hastaların takibinde rekürrensi ve tedaviye cevabı saptamada faydalı olabileceği belirtilmiştir (94).

2.7.7.5. Vinkulin

Aktine dayalı mikroflamanların plazma membranına yapışmasında rol oynayan büyük bir ökaryotik proteindir. Yapılan bir çalışmada kromofob hücreli ve toplayıcı kanal kökenli kanserlerin tamamında pozitiflik saptanırken sarkomatoid ve papiller olanların bir kısmında pozitiflik saptanırken, şeffaf hücreli olanların ise hiç birisinde pozitiflik saptanmamıştır (95).

2.7.7.6. Ag-NOR proteinleri

Böbrek hücreli tümörler üzerinde prognostik değeri olduğu ve sağkalım üzerinde bağımsız olarak ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (96).

2.7.7.7. C-reaktif protein (CRP)

Akut faz reaktanı bir proteindir. Metastatik hastalığı olan kişilerde prognostik öneme sahiptir, düşük CRP düzeylerine sahip hastaların yaşam süreleri uzun bulunmuştur (97).

2.7.8. Adezyon molekülleri

Hücre adezyon molekülleri hücreleri bir arada tutma fonksiyonu olan moleküller grubudur. Malignite sürecinde hücreler arası bağlantılar azalmakta ve hücreler kolaylıkla ayrılabilir. (98).

2.7.8.1. E-Kaderin

Epitelyum bütünlüğü için en önemli moleküldür. Böbrek kanserlerinin köken aldığı proksimal epitelyum hücrelerinde sentezlenmediği için çoğu böbrek kanseri hücrelerince sentezlenmez. E-kaderinin prognostik faydası tartışmalıdır ve ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (98).

2.7.8.2. P-selektin

Aktive olmuş trombosit ve endotel hücrelerinin yüzeyinde eksprese olan bir lökosit adezyon reseptörüdür. Böbrekte tek bir neoplastik lezyon varlığında p-selektin ekspresyonu yaygın neoplastik değişimin olduğu durumlardan daha az oranda saptanmıştır (99).

2.7.8.3. Kaderin-6

Hücre-hücre arası kalsiyum bağımlı adezyon molekülüdür. Fonksiyonundaki bir bozukluk tümör progresyonu ile ilişkili olsa da böbrek kanseri ile ilişkisi net olarak değerlendirilememiştir (100).

2.7.9. Malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilen hücre spesifik proteinler

2.7.9.1. Tu M2-PK

Piruvat kinazın izoformudur. Lokalize şeffaf hücreli böbrek hücreli tümörde cerrahi sonrasında ortalama 11 hafta içerisinde normal sınırlara düştüğü, metastatik hastalarda ise düşmediği gösterilmiştir (101).

2.7.9.2. MUC1

Böbrek kanserli hastaların küratif cerrahi sonrası yaşam süresi ve hastalıksız geçirdikleri süre ile koreledir (102).

2.7.9.3. Prolifere Olan Hücre Nükleer Antijeni

Yapılan bir çalışmada prognostik bir belirteç olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir (103).

2.7.10. Karyometrik tümör belirteçleri

Klasik patolojik derecelendirme sistemleri yetersiz kaldığında nükleer morfometrik analizler başarılı bir şekilde hastanın durumu hakkında sonuç verebilmektedir. Maksimum nükleer çap ve optik dansite, nükleer yuvarlaklık faktörü, elongasyon faktörü, nükleer profil alanı ve nükleer profil perimetresi karyometrik analiz olarak değerlendirilmektedir. Bu parametreler prognozu göstermede faydalı olmaktadır (104).

2.7.11. Sitoloji ve DNA'ya bağlı tümör belirteçleri

2.7.11.1. Karbonik anhidraz IX

Karbonik anhidraz IX (CA IX), G250 veya MN olarak da isimlendirilir ve tümör hücrelerindeki hipoksi esnasında hücresel pH'nin düzenlenmesinde görev alır. CA IX, BHT'lerde normal dokuya göre daha fazla eksprese edilmektedir ve bu ekspresyon daha iyi prognozun göstergesidir (173). Ekspresyonu yüksek olan olguların, interleukin-2 tedavisine de daha iyi cevap verdiği gözlenmiştir (174). Bu bulgular, CA IX ekspresyonu düşük olan papiller ve kromofob BHK olgularının interleukin-2 tedavisine cevaplarının zayıf olmasını da açıklamaktadır. CA IX, normal böbrekte eksprese edilmemektedir. Tümörlerde CA IX ekspresyonu, HIF-1 α aracılığıyla hipoksi tarafından yönetilmektedir. VHL tümör supresor geninde fonksiyon kaybı da HIF-1 α artışına ve CA IX ekspresyonuna neden olmaktadır (175). Hipoksi aracılı bu yolda VEGF, PTEN gibi moleküler proteinler de görev almaktadır. CA IX ve VHL'nin hipoksi aracılı yoldaki ilişkisi nedeni ile CA IX ekspresyonu daha da önem kazanmaktadır. 321 berrak hücreli BHT'nin

değerlendirildiği bir çalışmada CA IX ekspresyonu, olguların %94'ünde saptanmış, zayıf boyanmanın kötü prognostik gösterge olduğu gözlenmiştir (176). CA IX ve Ki-67 ile yapılan bir başka çalışmada, her iki moleküler belirleyici kullanılarak olgular 3 farklı prognostik gruba ayrılabilmiş, hem CA IX, hem de Ki-67 ekspresyonu bağımsız prognostik bilgi sağlamıştır (177).

2.7.11.2. Kromozom 3'ün kısa kolunun kaybı

Bu kayıp VHL gen inaktivasyonu ve klasik böbrek kanserinin gelişimi ile ilgilidir. VHL tümör supresör geninin 3p25-25 bölgesinde yüksek oranda heterozigosite kaybı gözlenmektedir (78).

2.7.11.3. PTEN

Hücre siklus düzenleyicisidir. Profilerasyon inhibisyonu ile BHT'de etkili olabileceği düşünülmektedir. İleri evre BHT olgularında PTEN düzeyi azalmıştır (106).

2.7.11.4. Multi drug rezistans genleri (MDR)

MDR-1 gibi MDR proteinlerinin (p-glikoprotein) ekspresyonunu ayrıca da ileri evre BHT'ün refrakter yapısına katkıda bulunurlar. Bu protein ATP bağımlı efluks pompası gibi çalışır. İlaçlara olan direnç ise bu genin ve sonuçta p-glikoproteininin aşırı ekspresyonu ile görülür. Sonuçta hücre içinde daha az ilaç konsantrasyonu oluşur. Bu gen tümörün agresifliğinin göstergesidir (98).

2.7.11.5. Kromozomal aberasyonlar

Kromozomal anomaliler malign hücrelerde sıklıkla görülür. Papiller tip böbrek hücreli tümörlerde ise Xp kromozom kaybı daha kısa yaşam süresi ile korele bulunmuştur (107).

2.7.11.6. VHL tümör supresör geni

VHL hastalığı olanların yaklaşık %40'ında böbrek kanseri gelişmektedir.

2.7.11.7. Proto-onkogen AxI

Programlanmış hücre ölümünde rol oynar. Böbrek kanseri ve normal böbrek dokusunda farklı olarak eksprese edilir (108).

2.7.11.8. Kromozom 14q heterozigosite kaybı

Papiller olmayan böbrek kanseri olgularında muhtemel klinik sonucu saptamada yardımcıdır (109).

2.7.11.9. TAP geni

Böbrek kanserindeki immün toleranstaki muhtemel değişimin mutasyona uğramış TAP-1 gen transferi olduğu saptanmıştır (110).

2.7.11.10. p16 Tümör Supresör Geni

Böbrek kanseri oluşumunda da p16 mutasyon ve delesyonlarının önemi diğer kanserlerde olduğu gibi gösterilmiştir (111).

2.8. Prognostik faktörler

Prognostik faktörler hastalık progresyonunu belirlemekte kullanılan belirteçlerdir. Bu faktörleri kullanarak özellikle metastatik böbrek tümörlerinde uygulanacak tedavilerden hastanın fayda görüp göremeyeceği öngörülebilme ve erken dönemde gerekli tedavi yöntemlerinde bulunulabilmektedir.

2.8.1. Tümör ile ilişkili prognostik faktörler

2.8.1.1. Tümör evresi

Böbrek hücreli tümörlerde prognoz ile ilgili en önemli faktörlerdendir (112). Yapılan bir çalışmada böbrek hücreli tümör hastalarının 5 yıllık yaşam beklentileri tümör boyutu 5 cm'nin altında olanlarda %84, 5 cm ile 10 cm arasında olan hastalar için %50, 10 cm'den büyük tümörü olan hastalar için ise %0 bulunmuştur (113). TNM sınıflaması ile 2002 yılında belirlenen 4 cm sınırı ile gün geçtikçe daha sık rastlantısal saptanan <4 cm böbrek tümörlerinin elektif nefron koruyucu cerrahi için uygunluk sınırını belirtmektedir (114).

2.8.1.2. Venöz tutulum

Böbrek hücreli tümör tanısı yeni konulmuş olgularda venöz sistem invazyonu %4–9 arasındadır (115, 116). Yapılan bir çalışmada 3 yıllık kansere özgü sağ kalım trombüsü olmayan hastalarda %89, renal ven tutulumu olanlarda %76, diyafram altı vena kava trombüsü olanlarda %63 ve diyafram üstü vena kava trombüsü olan hastalarda %23 olarak saptanmıştır (116). Böbreğe sınırlı tümörlerde renal sinüs venlerine yayılım metastatik hastalığa ilerleme riskini göstermektedir (117).

2.8.1.3. Lenf nodu tutulumu

Ortalama lenf nodu metastazı riski böbrek hücreli tümörlerde genel olarak %20, 5 yıllık sağ kalım riski ise %11-35'dir. Lenf nodu tutulumu riski ise primer tümörün evresi ve boyutu, renal ven tutulumu ve metastaz durumuna bağlıdır (118–120). Lenf nodu tutulumu olan hastalarda metastaz olasılığı 3–4 kat daha yüksektir (118–119). Böbrek hücreli tümörü olan ve lenf nodu tutulumu olan hastalar sadece metastatik hastalığı olanlara göre daha kötü 5 yıllık sağ kalım oranına sahiptir (%15' e karşı %23) (118).

2.8.1.4. Adrenal bez tutulumu

Böbrek hücreli tümörü olan hastaların tanı anında böbrek üstü bezi tutulumu olma olasılığı çok düşüktür (121). Yapılan bir çalışmada böbrek üstü bezi tutulumu olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %42 olarak belirtilmiştir (122). Adrenal bez tutulumu ile yüksek tümör derecesi, lenf nodu tutulumu ve metastatik hastalık arasında ilişki gözlenmişse de, adrenal tutulumunun tek başına bağımsız bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (123).

2.8.1.5. Metastaz

Metastazı olan hastalarda prognozu etkileyen faktörler olarak; performans durumu (Karnofsky skalası ya da ECOG), metastazların yeri ve sayısı, metastaz oluşumuna kadar geçen süre, kilo kaybı, birinci basamak kemoterapi, anemi, hiperkalsemi ve trombositoz sıralanabilir (124,125). Sistemik metastaz varlığında 1 yıllık sağ kalım %50'den az, 5 yıllık sağ kalım %5–30, 10 yıllık sağ kalımın ise %0–5 olduğu gösterilmiştir (126). Rezeke edilebilecek metastaz varlığında cerrahi en iyi sonucu vermektedir.

2.8.1.6. Tümör derecesi

Nükleer grade ve histolojik alt tipler göz önünde bulundurularak yapılır. En sık Fuhrman sistemi kullanılmakta olup Tsui ve arkadaşları yaptıkları çalışmada derece 1 için 5 yıllık kansere özgü sağ kalımı %89, derece 2 ve 3 için %65, derece 4 için %46 olarak bulmuşlardır (127).

2.8.1.7 Histolojik tipler

Histolojik tiplerin prognoza etkileri ile ilgili çeşitli görüşler olmakla birlikte; Tip II papiller böbrek hücreli tümörlerin bağımsız kötü prognoz göstergesi olduğu, kromofob tip böbrek hücreli tümörlerin en iyi prognoza sahip olduğu, toplayıcı kanal

böbrek hücreli tümörlerin ise en kötü prognozlu tip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (128–130)

2.8.1.8. Sarkomatoid elemanların olması

Böbrek hücreli tümörlerin %5’inde gözlenen ve yüksek derece yanında ‘spindle cell’ varlığı ile karakterize bir gruptur. Böbrek hücreli tümörün tipinden bağımsız olarak kötü prognoz göstergesidir (131,132).

2.8.1.9. Nükleer morfolometri

Çekirdek çapı, çekirdek çevresi, çekirdek düzenlilik faktörü, çekirdek elongasyon faktörü dikkate alınarak belirlenir ve Fuhrman derecelemesine göre daha objektif olduğu kabul edilmektedir (133, 134).

2.8.1.10. Histolojik tümör nekrozu

Yapılan çalışmalarda histolojik nekroz olgularında böbrek hücreli tümöre bağlı ölümlerin 3 kat fazla olduğu ve lokalize hastalıkta bağımsız kötü prognoz kriteri olduğu ancak metastatik hastalıkta önemi olmadığı belirtilmiştir (135,136).

2.8.1.11. Toplayıcı sistem invazyonu

Böbrek hücreli tümörlerde toplayıcı sistem invazyonunun özellikle T1 ve T2 evre tümörler için kötü prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (137,138).

2.8.1.12. Tümör proliferasyon belirteçleri

AgNor, PCNA, Ki67 bu grupta değerlendirilebilecek faktörlerdir.(112,139).

2.8.2. Hasta ile ilişkili faktörler

Böbrek hücreli tümörü bulunan hastalarda tanı anında semptom bulunması sağ kalım süresini kısaltmaktadır (140,141).

2.8.3. Tedavi ile ilişkili faktörler

Metastatik böbrek hücreli tümörlü hastalarda yapılan radikal nefrektominin hastaların performans durumunda artış sağladığı ve ortalama sağ kalımı %50 arttırdığı gösterilmiştir (142,143). Ayrıca radikal nefrektomi sonrası spontan gerileme gösteren nadir vakalar da mevcuttur (144).

2.9. Tedavi

2.9.1. Organa sınırlı böbrek tümörlerinde tedavi

2.9.1.1. Açık Radikal Nefrektomi

Günümüzde radikal nefrektomi böbrek tümörlerinin tedavisinde altın standart tedavi şeklidir (145). Radikal nefrektomi, önce renal arter ve venin ligasyonunu takiben Gerota fasiyası ve içerisindeki oluşumlar ile birlikte ipsilateral adrenal bez ve diyafragma krusundan aortik bifurkasyona kadar bölgesel lenf nodlarının çıkarılması anlamına gelir. Girişim böbrekteki kitlenin lokalizasyonu veya büyüklüğüne göre transabdominal, torakoabdominal veya flank insizyon ile gerçekleştirilebilir. Radikal nefrektomi sonrası kansere özgü sağkalım hastalığın evresi ile ilişkilidir ve kansere özgü sağkalım 5. yılda pT1a tümörlerde % 97 ve pT1b tümörlerde % 87 oranındadır (146). Ameliyat öncesi görüntüleme ve evreleme çalışmalarında (BT, MRG) adrenal beze yayılım ile ilgili bulgu saptanmayan hastalarda radikal nefrektomi ile beraber rutin adrenalektominin gerekli olmadığına dair kanıtlar mevcuttur. Buna istisna teşkil eden hasta grupları adrenal beze direk yayılım riski olan büyük üst kutup tümörleri ve adrenal beze metastaz riski olan 7 cm'den büyük tümörleri olan hastalardır (147). Genişletilmiş lenfadenektominin hastanın uzun dönem sağkalımına etkisi olmadığı

gözleendiğinden lenfadenektominin sadece evreleme amacıyla perihiler dokuda sınırlandırılması önerilmektedir. Radyolojik olarak saptanan veya palpe edilen lenf nodu bulunan olgularda lenfadenektomi yapılması önerilmektedir (148,149).

2.9.1.2. Açık nefron koruyucu cerrahi

Nefron koruyucu cerrahi (NKC), tümörün çıkartılması ve olabilecek en geniş böbrek parankiminin bırakılmasını esas alan bir cerrahidir. Küçük boyutlu renal kitlelerin saptanma sıklığının giderek artması, böbreğin radyolojik görüntülenmesinde meydana gelen gelişmeler, cerrahi tekniğin ve böbrekte meydana gelebilecek iskemik hasarın önlenmesi amacıyla kullanılan yöntemlerin gelişmesi, renal replasman tedavisini de içeren ameliyat sonrası iyi bir bakım ve uzun süreli kansersiz sağkalıma ait veriler NKC'nin kullanımının yaygınlaşmasına neden olmuştur. Organa lokalize tümörlerde parsiyel nefrektomi sonrası kansere özgü sağkalım 5. yılda % 88.2, 10.yılda ise % 73 oranında bildirilmiştir. Evre pT1a tümörlerde ise bu oranlar daha yüksek (sırası ile % 98 ve % 92) bulunmuştur (150). Nefron koruyucu cerrahi endikasyonları tablo 9'da gösterilmiştir (151).

Tablo 9. Nefron Koruyucu Cerrahi Endikasyonları

1- Kesin Endikasyonlar
a) Soliter böbrekteki tümörler
b) Bilateral tümörler
2- Rölatif Endikasyonlar
a) Karşı böbrekte hastalık olması
♦ Nefrolitiazis
♦ Geçirilmiş rekürren piyelonefrit
♦ Vezikoüreteral reflü
♦ Üreteropelvik bileşke darlığı
♦ Hafif-orta dereceli böbrek yetmezliği
b) Böbrek yetmezliğine yol açabilen hastalık varlığı
♦ Hipertansiyon
♦ Diabetes Mellitus
c) Multifokal hastalık ya da ailesel sendromlar
3- Elektif Endikasyonlar
a) 4 cm'den küçük boyutlu renal kitleler
b) Genç, sağlıklı bireyler
c) Periferik yerleşimli tümörler

2.9.1.3. Laparoskopik radikal nefrektomi

Böbrek hücreli tümör'de laparoskopik radikal nefrektomi, ilk uygulanmasından bugüne kadar geçen sürede tüm dünyada uygulanan bir yöntem haline gelmiştir. Retroperitoneal veya transperitoneal laparoskopik nefrektomi, açık cerrahide uygulanan kabul edilmiş onkolojik prensipleri aynı şekilde sağlamalıdır. Bu prensipler tümör manipülasyonu öncesi böbrek damarlarının erken kontrolü, Gerota fasyası dışından geniş mobilizasyon, spesimenin travmatize edilmeden ve bütünlüğü bozulmadan tek parça halinde çıkarılmasından oluşur. Deneyimli laparoskopik ürolojik cerrahlarca açık nefrektominin yukarıda sıralanan prensiplerine bağlı kalınarak uygulanan laparoskopik nefrektomi günümüzde T1–2 BHK hastalarının tedavisinde standart tedavi sayılabilir (147). Uzun süreli onkolojik sonuçları açık

cerrahi yöntemler ile benzer düzeydedir. Laparoskopik radikal nefrektomi yapılanlarda kansere özgü sağkalımın 10.yılda % 92 olduğu bildirilmiştir (152).

2.9.1.4. Laparoskopik Nefron Koruyucu Cerrahi

Laparoskopik nefron koruyucu cerrahi iyi seçilmiş hasta gruplarında açık nefron koruyucu cerrahiye alternatif olabilecek bir tedavi şeklidir (153,154). Renal ven trombüsü olmayan, multifokalite riski taşımayan ve santral yerleşimli olmayan tümörlerde laparoskopik nefron koruyucu cerrahi uygulama alanı bulabilmektedir. Laparoskopik parsiyel nefrektominin onkolojik sonuçları açık cerrahi yöntemdekiler ile benzer düzeydedir ve laparoskopik parsiyel nefrektomi yapılanlarda 3. yılda kansere özgü sağkalım % 100 oranındadır (155). Laparoskopik yaklaşımın dezavantajları açık cerrahiye oranla sıcak iskemik süresinin daha uzun olması ve intraoperatif ve postoperatif komplikasyon oranlarının daha yüksek olmasıdır (156, 157).

2.9.1.5. Minimal İnvaziv Tedaviler

Perkütan radyofrekans ablasyon, kriyoablasyon, mikrodalga ablasyon, lazer ablasyon ve high-intensity focused ultrasound gibi görüntüleme eşliğinde perkütan ve minimal girişimsel teknikler BHT'lerin cerrahi tedavisinde alternatif yöntemler olarak ortaya çıkmıştır. Halen araştırma aşamasında bulunan tedavi yöntemleridir. Minimal invaziv tedaviler için en uygun adaylar parsiyel nefrektomi için yüksek risk taşıyan önemli komorbid faktörlere sahip ileri yaşlardaki hastalardır (158) Bunun yanı sıra çok sayıda ve bilateral renal kitlelerin bulunduğu herediter böbrek tümörlüleri ve parsiyel nefrektomi sonrası lokal rekürrens gelişenler için de düşünülebilir (159). Açık veya laparoskopik cerrahi veya perkütan yolla uygulanabilmektedir. Uygulama öncesi histolojik kanıt için renal kitleden biyopsi önerilmektedir. Cerrahi eksizyona göre daha yüksek lokal rekürrens riski olduğu için tedavi sonrası uzun süreli yakın radyolojik takip yapılmalıdır ve rekürrensten şüphe edildiğinde biyopsi tekrarlanmalıdır. Termal ablasyon sonrası rekürrens oranları cerrahi eksizyon yapılanlara göre daha yüksektir. Kriyoablasyon sonrası rekürrens

oranı % 7.4 ve radyofrekans ablasyon sonrası % 25 gibi oldukça yüksek orandadır (160).

2.9.2. Lokal ileri evre böbrek tümörlerinde tedavi

Böbrek hücreli tümörlerin damarlanmalarının fazla olması nedeniyle venöz sisteme invazyon yetenekleri de fazladır. Renal ven ve vena kavada tümör trombüsü ile karşılaşma oranı %4 ile %10 arasında değişmektedir (161). Vena kava tutulumu klinik olarak; alt extremitede ödem, kollabe olmayan varikozel, dilate yüzeysel abdominal venler, proteinüri, pulmoner emboli, sağ atrial kitle ya da o taraf böbreğin fonksiyonsuz olması ile kendini gösterir. Preoperatif rutin metastaz taramasının dışında tümör trombüsünün ven içerisinde ne kadar ilerlediğini göstermek adına kullanılabilecek en iyi görüntüleme yöntemi bugün için MRG'dir (1). Trombektomi cerrahisi günümüzde sıklıkla tercih edilen ve metastazın bulunmadığı böbrek tümörlerinde prognoza etkili olduğu gösterilmiş tedavi şeklidir (162).

Lokal invazyon durumlarında ise invaze organ ile birlikte tümörlü böbreğin çıkarılması ilk seçenek olmalıdır. Karaciğer invazyonlarında parsiyel hepatektomi nadiren faydalıdır (1).

Böbrek hücreli tümörlerde lokal rekürrens nadiren görülen bir durumdur. Hastalığın evresi ile ilişkili olmakla birlikte çeşitli kaynaklarda sıklık %2 ile %4 arasında değişmektedir (163, 164). Tedavide ilk seçenek cerrahi olmalıdır.

2.9.3. Metastatik Böbrek Tümörlerinde Tedavi

2.9.3.1. Cerrahi

Metastatik böbrek hücreli tümörlerin nefrektomisinden sonra bazı hastalarda metastazların kendiliğinden kaybolması iddiası sitoredüktif nefrektomiye ilgiyi doğurmuştur (165). Spontan regresyon yapabilmesine rağmen sitoredüktif nefrektominin tek başına bir tedavi alternatifi olmadığı düşünülmektedir (166). Buna karşılık nefrektomisiz yapılacak bir sistemik tedavinin de yanıtı düşüktür. Nefrektominin immünoterapi ile beraber uygulanmasına karşılık tek başına

immünoterapi uygulamasının karşılaştırıldığı iki randomize çalışmanın meta-analizinde tümör nefrektomisi uygulanan olgularda daha iyi uzun dönem sağ kalım bulunmuştur (167).

Metastatik BHT’de soliter uzak organ metastazı %1,6–3,2 sıklıkta görülür (1). Eş zamanlı metastatik yayılım olan hastalarda, hastalığın rezeksiyona uygun ve hastanın performans statüsünün iyi olması durumunda metastatektomi uygulanmalıdır. Primer hastalıkla farklı zamanlı metastazlar için ameliyat olan hastalarda klinik prognoz daha kötüdür. İmmünoterapiye cevap vermiş rezidüel ve rezeksiyona uygun metastatik lezyonlarda ve/veya sınırlı (tek lezyon) sayıda farklı zamanlı metastazlarda prognozu iyileştirmek amacıyla metastatektomi uygulanmalıdır (147).

2.9.3.2. Radyoterapi

Semptomatik kemik metastazlarının tedavisinde ve steroidlerle düzeltilmeyen şiddetli nörolojik bozukluklara yol açan beyin metastazlarının tedavisinde yararlı olabilmektedir (168).

2.9.3.3. Kemoterapi

RHK hastalarının yaklaşık üçte biri tanı esnasında metastatik hastalığa sahiptir. Standart sitotoksik ilaçlar RHK’ da etkisizdir. En iyi kemoterapi cevapları floksüridin ve 5-florourasil ile elde edilen cevaplar %15’ler civarında kalmıştır (172).

2.9.3.4. İmmünoterapi

İmmünoterapi baskılanmış immün sistemin canlandırılması veya duyarlılaştırılmış hücrelerin konakçıya geri verilmesi şeklinde uygulanabilmektedir. Sitokinlerin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İntraselüler ve interselüler sinyal mekanizmasını başlatarak kanser hücrelerini indirekt olarak etki ettikleri düşünülmektedir. Bu grupta en sık kullanılan ajanlardan olan interferon-alfa (İFN-alfa) ile iyi performans statüsü, ilk tanı anından sonra 1 yıldan uzun progresyonsuz sağ kalım ve tercihen sadece akciğer metastazı olan hastalar faydalanmaktadır. İFN-

alfa ile %6–15 cevap oranı, %25 tümör ilerlemesi riskinde azalma ve plasebo ile karşılaştırıldığında sadece 3–5 aylık sağ kalım avantajı elde edilebilmiştir (169,170). Yan etkileri İNF-alfa'dan daha fazla olan interlökin-2 (İL-2) ise hastalarda uzun dönem yanıt sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda metastatik böbrek hücreli tümör tedavisinde İFN-alfa'ya üstünlüğü gösterilememiştir. Kombinasyon tedavilerinin sağkalımı monoterapi rejimlerine göre arttırdı yapılan çalışmalarda gösterilememiştir (171).

2.9.3.5. Anjiogenez inhibitörü ilaçlar

Son yıllarda moleküler biyoloji alanında gerçekleşen büyük adımlar ile böbrek tümörü tedavisinde de önemli ilerlemeler gerçekleşmiştir. Böbrek hücreli tümörler damarlanması oldukça fazla olan tümörlerdir. Özellikle berrak hücreli histolojiye sahip RHK'lularda VEGF'ye ait mRNA ekspresyonunun vaskülarizasyonla korelasyon gösterdiği bulunmuştur. VEGF ekspresyonu artışının ise sporadik berrak hücreli tümörlerin % 75'inden fazlasında bulunan von Hippel Lindau (VHL) geni mutasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. VHL geni bir tümör süpresör gendir ve normoksik koşullar altında hipoksiyle tetiklenen faktör-1 α (HIF-1 α) ile bağlanarak kompleks oluşturan VHL tümör süpresör proteininin (pVHL) oluşumundan sorumludur. Bu kompleks hücre içinde kısa sürede proteozomlara yıkılır. Hipoksik koşullarda veya pVHL fonksiyonunda defekt veya mutasyon oluştuğunda HIF-1 α birikimi gerçekleşir. Sonuçta da nukleus içinde HIF-1 α translokasyonu ile birçok hipoksi ile tetiklenen gen aktive olarak, VEGF, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), eritropoietin ve transforming growth factor- α (TGF- α) gibi büyüme faktörleri salgılanır. HIF-1 α birikimi ayrıca birçok membran proteinin aktive olmasına yol açar. Bunlardan bir tanesi G250 membran proteini olarak da adlandırılan bir karbonik anhidraz izo-enzimidir (CAIX). Salgılanan VEGF ve PDGF kendilerine ait spesifik reseptörlere bağlanırlar ve bu da hücre içinde tirozin kinaz (TK) reseptörlerinin stimülasyonu ile sonuçlanır. TK reseptörlerinin stimülasyonu da endotelial hücre çoğalması, hücre sağ kalımının artması, anjiyogenezde artış ve tipik hipervasküler berrak hücreli RHK histolojisi ile sonuçlanmaktadır (178–180).

Sorafenib bir oral multikinaz inhibitörüdür ve Raf-1, serin/treonin kinaz, BRAF, VEGFR-2, PDGF, FLT-3 ve cKIT'e karşı aktivitesi vardır. Daha önce sistemik immünoterapi alan hastalarda sorafenibi plaseboyla karşılaştıran bir faz III çalışmada progresyonsuz sağkalımda sorafenib tedavisi lehine 3 aylık sağkalım avantajı bildirilmiştir (181).

Sunitinib bir oksindol tirozin kinaz (TK) inhibitörüdür. Anti tümör ve antiangiyojenetik aktivitesi olan bir küçük molekül olup seçici olarak PDGFR, VEGFR, KIT ve FLT'nin inhibisyonunu hedefler. Sunitinibin mBHK'da ikinci monoterapi ajanı olarak kullanıldığı 2 çok merkezli faz II çalışmada %34–40 kısmi yanıt oranı belirlenmiş ve hastaların %27-29'unda 3 ay veya daha fazla progresyonsuz hastalık bildirilmiştir (182). Sunitinibin birinci basamak monoterapisinin IFN-alfa ile karşılaştırıldığı bir faz III çalışma sonuçları yakın zamanda yayınlanmıştır. Ortanca progresyonsuz sağkalım sunitinib ile tedavi edilen hastalarda 11 ay, IFN-alfa grubunda ise 5 ay ($p<0,000001$) olarak belirlenmesi nedeniyle düşük-orta risk grubu mBHK hastalarında IFN-alfanın sunitinibe göre daha az etkili olduğu kanısına varılmıştır (183).

Temsirolimus rapamisin (mTOR) için özgün inhibitördür. Temsirolimusu IFN-alfa ve bu ikisinin kombine kullanımının ilerlemiş BHT'de birinci basamak tedavi olarak karşılaştırıldığı bir faz III çalışmaya göre temsirolimus monoterapisinin kötü risk grubu hastalarda genel sağ kalımı IFN-alfa monoterapisi ve IFN-alfa temsirolimus kombinasyonuna göre uzattığı gösterilmiştir (184).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi

Bu çalışmaya Şubat 2009-Kasım 2009 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı'nda böbrek tümörü ön tanısıyla ablatif cerrahi uygulanan 40 hasta rasgele seçildi. Aynı dönemde üroloji kliniğinde opere edilen, anamnezinde, fizik muayenesinde, temel hemogram, böbrek fonksiyon testleri, karaciğer fonksiyon testlerinde malignite kuşkusu uyandıracak bulgusu olmayan 38 hasta rasgele kontrol grubu olarak belirlendi. Patoloji sonucu ürotelyal karsinom ve benign gelen hastalar çalışma harici bırakıldı. Hasta grubundan ve kontrol grubundan preoperatif dönemde genetik inceleme amacı ile EDTA'lı tüpe kan alındı ve hasta grubunda -20°C'de patoloji sonuçları kesin olarak belirleninceye kadar muhafaza edildi.

3.2. Klinik değerlendirme

Tüm hastaların klinik protokol numaraları, cinsiyet, yaş, meslek, semptom bulunup bulunmadığı, vücut kitle indeksi, sigara, bağımlılık yaratan madde kullanım öyküsü, ek hastalık öyküsü, özgeçmiş ve soy geçmişte kanser öyküsü, ailede böbrek kanseri öyküsü sorgulanarak kayıt altına alındı. Ayrıca preoperatif dönemde tüm hastalarda posteroanterior akciğer grafisi, üre-kreatinin değerleri, karaciğer fonksiyon testleri ve hemogram tetkikleri yapılarak kayıt altına alındı. Hasta grubuna preop evreleme amacı ile ek olarak tüm abdomen BT, gerekli görülen hastalarda ise tüm abdomen MRG, Toraks BT, PET CT yapıldı.

3.3. Patolojik değerlendirme

Çalışmaya dâhil edilen tüm hastaların böbrek spesmenleri öncelikle mikroskopik olarak primer tümör boyutu ve multifokalite varlığı açısından incelendi. Daha sonra spesmenler 3 mm'lik aralıklarla ince kesitler yapılarak incelendiler. Tümörlerin histolojik sınıflaması Union Internationale Contra le Cancer (UICC) ve American

Joint Committee on Cancer (AJCC)'e göre, tümör nükleer derecelendirmesi ise Fuhrman dereceleme sistemine göre yapıldı. Tüm hastaların evreleri TNM 2002 sistemine, tümör dereceleri Fuhrman dereceleme sistemine ve histolojik tip sınıflandırmaları Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2004 RHK sınıflandırmasına göre güncelleştirildi.

3.4. Genetik değerlendirme

3.4.1. Örneklerin toplanması

Her olgudan, DNA analizi için 2 cc periferik kan örneği EDTA'lı tüplere alındı. EDTA'lı kanlardan DNA izolasyonu yapıldı. Araştırılan gen bölgeleri, PCR(polimeraze chain reaction) yöntemi ile çoğaltıldı. Oluşturulan PCR ürünlerinin saflaştırılma işleminin ardından dizi analizi yöntemi ile ilgili gen dizileri elde edildi. Elde edilen gen dizileri uygun databaseler kullanılarak analiz edildi.

3.4.2. Kandan DNA izolasyonu

Gerekli alet ve kimyasal listesi:

- Magna Pure LC Robotik DNA İzolasyon Cihazı (Roche Diagnostik)
- Örnek Kartuşları
- Reagent Kartuşları
- Eppendorf tüpleri
- Proteinaz K
- Lysis/Binding Buffer
- Wash buffer I
- Wash bufferr II
- Elution buffer
- Magnetic Glass Particles (MGPs) Süspansiyonu
- Otomatik pipetler (1–10 mikrolitre, 10–100 mikrolitre ve 100–1000 mikrolitre)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları
- Saklama Kartuşu

- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Vorteks (Heidolph Reaks Top)
- Santrifüj (Sigma 1–15)
- Steril eldiven

DNA izolasyonları Magna Pre LC Robotik DNA İzolasyon Cihazı yardımıyla protokole uygun olarak toplanan EDTA'lı kanlardan gerçekleştirilmiştir. Sonuçta her örneğe ait 100 mikrolitre DNA elde edilmiştir.

1. 200 µl kan örnek kartuşu içine aktarılır.
2. 300 µl Lysis/Binding Buffer eklenir.
3. Bu çözelti Magna Pure LC Robotik DNA İzolasyon Cihazındaki örnek kartuşu bölgesine yerleştirilir.
4. Kaç adet DNA izolasyonu yapılacağına bağlı olarak diğer süspansiyonlardan ne kadar ekleneceği sistem tarafından belirlenir ve tavsiye edilen miktarda Magnetic Glass Particles (MGPs) Süspansiyonu, Proteinaz K, Elution Buffer, Wash Buffer 1 ve Wash Buffer 2 solüsyonları programda gösterildiği gibi uygun reagent kartuşlarına yüklenerek uygun yerlere yerleştirilir.
5. Örnekler ve kullanılan diğer kimyasallar yerleştirildikten sonra sistemin kullanacağı steril pipet uçları programda belirtilen yerine yerleştirilir.
6. Maksimum 32 adet DNA izolasyonu aynı anda yapılabilir.
7. Program çalıştırılır. Tüm işlemler cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.
8. Elde edilen DNA'lar DNA saklama kutularına konur ve -20° C ' de saklanır.

DNA örneklerinin konsantrasyonları ortalama 25 ng/dl, saflıkları (A260/280 değeri) ortalama 2.2 olarak ölçülmüştür.

3.4.3. DNA Amplifikasyonu

Gerekli alet ve kimyasallar listesi

- Otomatik pipetler (1–10 mikrolitre ve 10–100 mikrolitre)
- Termal cycler (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9600)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları
- 0.5'lik ve 1.5'lik eppendorf tüpleri (Axygen)
- 0.2'lik PCR tüpleri (Axygen)

- Steril kavanozlar
 - Steril eldivenler
 - Buz kalıbı
 - Deiyonize su
 - Taq DNA polimeraz (Fermentas# EP402)
 - MgCl₂
 - 10X PCR Buffer
 - dNTP karışımı (10 mM)
 - 10 mikrolitre dATP (100 mM)
 - 10 mikrolitre dTTP (100 mM)
 - 10 mikrolitre dGTP (100 mM)
 - 10 mikrolitre dCTP (100 mM)
- 60 mikrolitre distile su ile 100 µl'ye tamamlanır
- Primerler:

Tablo 11- VHL geni primerlerinin özellikleri

VHL	Forward Primer	Reverse Primer
Ekzon 1	AGCGCGTTCCATCCTCTAC	GCTTCAGACCGTGCTATCGT
Ekzon 2	GAGGTTTCACCACGTTAGCC	AGCCCAAAGTGCTTTTGAGA
Ekzon 3	CAGAGGCATGAACACCATGA	AAGGAAGGAACCAGTCCTGT

3.4.3.1. Primerlerin sulandırılması

Liyofilize durumdaki primerlere kullanma talimatında belirtilen miktarda su eklenerek, 100 pikomol/mikrolitrelik stok çözeltiler hazırlandı.

PCR işleminde kullanılmak üzere stoktan 10 pikomol/mikrolitrelik konsantrasyonlu 100 mikrolitrelik sulandırılmış primerler hazırlandı.

3.4.3.2. Reaksiyon karışımı

Her bir örnek için hazırlanan total PCR reaksiyon karışımı 25 mikrolitredir. H₂O, 10X buffer, MgCl₂ (25Mm), dNTP, primerler ve Taq Polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi.

VHL geni tüm ekzonları için PCR miks hazırlanışı: (Tüm ekzonlar için aynı miktarlar kullanıldı)

- H₂O: 12.5 mikrolitre
- 10X buffer: 2.5 mikrolitre
- MgCl₂ (25Mm): 2.5 mikrolitre
- dNTP (10 mM) 1 mikrolitre
- primerler:
 - F: 1 mikrolitre
 - R: 1 mikrolitre
- Taq Polimeraz: 0,5 mikrolitre
- DNA: 100 nanogram
- Toplam 25 µl

3.4.3.3. İzlenen PCR programı

Denatürasyon	94 °C	5 dakika	} 35 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	56 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	45 saniye	
Final Uzama	72 °C	5 dakika	
Bekleme	4 °C	∞	

Amplifikasyon ürünleri PCR programı bittikten sonra +4 °C' de saklandı.

3.4.3.4. Agaroz jel elektroforezi

Gerekli alet ve kimyasal listesi:

- Yatay elektroforez
- Güç kaynağı

- Mikrodalga fırın
- Erlenmayer
- Mezürler (50 ml, 100 ml, 500 ml)
- Pipetler (2ml, 1,5 ml, 10 ml)
- Pens ve çeşitli boyutlarda cam şişeler
- Agaroz (Sigma, A5093 Lot 51K01131)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Orange G (Biological Industries Lot 204804)
- DNA markır (Fermentas, O'Range Ruler 100bp DNA Ladder)
- Deiyonize su
- Görüntüleme cihazı
- Hassas tartı
- pH metre

VHL gen için araştırdığımız bölgelerin PCR ürünüde amplifiye olup olmadığının kontrolü için, %2'lik agaroz jelde PCR ürünleri yürütüldü. Elektroforez tabağının içine, PCR koyabileceğimiz kuyucukların oluşması için taraklar yerleştirildi. 100 ml'lik erlen içine, 2 gr agaroz ve 100 ml 0.5XTBE konulup mikrodalga fırında ısıtılarak eritildi. Berrak görünüm sağlanınca, 16 mikrolitre etidyum bromür eklenip karıştırıldı ve hazırlanan tabağa döküldü. Jel donması için beklendi. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken, bir parça parafilm üzerine 5 mikrolitre orange G ve 5 mikrolitre PCR ürünü karıştırılıp, jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için, her jele marker yüklendi. 120 volt akımda yürüdüktan sonra jel görüntüleme sistemi ile incelendi.

3.4.3.5. PCR ürünlerinin 1. saflaştırılma işlemi

Bu işlem PCR sonrası yapılır ve PCR ürünün içerisindeki fazla PCR bileşenlerinden ayrılmasını sağlar. Herhangi bir ticari purifikasyon kiti ile yapılabilir. Purifikasyon için FERMENTAS GENEJET PCR PURIFICATION KIT kullanıldı.

- PCR ürününün üzerine 20 µl.binding buffer eklendi.
- Bu işlem sonrasında PCR ürününün renginin sarıya dönmesi beklenir. Eğer renk sarıya dönmezse 10 µl 3M Sodyum Asetat eklenir.

- PCR ürününün üzerine 20 µl İzopropanol eklendi.
- Pipet ile karıştırıldıktan sonra önceden hazırlanmış filtreleri içerisine yerleştirilmiş receiver tüplere aktarıldı.
- 13.000 rpm de 30 saniye santrifüj edildi..
- Örneğin üzerine 700 µl Wash Buffer eklendi..
- 13.000 rpm de 30 saniye santrifüj edildi.
- Receiver tüplerinin altı boşaltıldı.
- Filtreler tüplere tekrar konuldu ve 13.000 rpm de 1 dakika kuru santrifüj yapıldı.
- Filtreler 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı.
- Üzerine 50 µl Elution Buffer eklendi.
- 13.000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi ve sonrasında filtreler atıldı.

3.4.4. Cycle sequencing

En çok kullanılan yöntem dideoksi metodudur. Buna zincir sonlandırma metodu da denir. DNA 4 deoksiribonukleotid trifosfat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) molekülünün birbirine bağlanmasıyla oluşan dev bir polimerdir. Her yeni nükleotid bir önceki nükleotidin 3' OH ucuna eklenir. Dideoksinukleotid trifosfat (ddNTP) ise 3' OH ucu içermez. Dolayısıyla böyle bir molekül zincir uzamasını durdurur ve zincirin son nükleotidini oluşturur. Dizisi saptanacak DNA tek dizi halinde hazırlanır. Bu kalıp DNA yanına 4 deoksiribonukleotidden de (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) bol miktarda içeren bir karışım; her biri ayrı floresan molekülle işaretlenmiş ve dolayısıyla ayrı renkler veren 4 dideoksiribonukleotid trifosfat (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) içeren bir karışım ve DNA Polimeraz eklenir. Deoksiribonukleotidler bağlandıkça zincir uzamaya devam eder. Rastlantısal olarak dideoksiribonukleotid bağlandığında zincir uzaması durur. Bu yolla farklı boyutlarda birçok DNA parçası elde edilir. Sonraki aşamada karışım, molekülleri boylarına göre ayıran jel elektroforezi ile birbirlerinden ayrılır. Jel üzerindeki değişik floresan renkler veren bantlar izlenerek dizi analizi gerçekleştirilir. Daha sonraki aşama ise analiz edilen dizilerin okunması aşamasıdır. Uzun dizi bilgisi elde edebilmek için, kısa okumaların birbiriyle birleştirilmelerinde bilgisayara gereksinim duyulur.

PCR işlemi sonrasında elde edilen ürünler birinci saflaştırma işlemi sonrasında aşağıdaki maddeler ile karıştırılarak cyle sequencing miksi hazırlanır. Bu işlem bir kit

yardımları ile yapılmaktadır ve bu kit içerisinde sonlandırıcı nükleotitler içermektedir (ABI Prism V3.1 BIG-DYE TERMINATÖR KİT).

Bu aşamada;

- 8 µl Big Dye PCR tüplerine dağıtılır
- Her tüp için 7,5 µl ultra saf su
- 0.5 µl Forward veya Reverse primer kullanılır (Dizide taranacak bölgeye uygun olarak tasarlanabilir)
- 4 µl purifiye PCR ürünü kullanılır
- Total volume 20 µl dir.
- Bu PCR miksi ABI PRİSM 9700 PCR cihazının perkin elmer Big Dye Terminator programı ile başlatılır.

İzlenen PCR programı

Denatürasyon	96 °C	10 saniye	} 25 döngü
Bağlanma	50 °C	5 saniye	
Uzama	60 °C	4 dakika	
Bekleme	4 °C	∞	

3.4.4.1. İkinci saflaştırma işlemi (Zymo DNA Sequencing Clean-Up Kit)

Bu işlem cycle sequencing aşamasından sonra yapılır. Ortaya çıkan PCR ürününün içerisindeki floresan işaretli ddNTP'leri ve diğer PCR bileşenlerini ortamdan uzaklaştırmak amacıyla yapılır. Herhangi bir ticari purifikasyon kiti kullanılabilir. Bu işlem için Zymo Research DNA Sequencing Clean Up Kit kullanıldı.

- PCR cihazından çıkarılan örneklerin üzerine 240 µl Binding buffer eklendi.
- Pipet ile karıştırıldıktan sonra filtreleri içerisine yerleştirilmiş receiver tüplerin içerisine örnekler aktarıldı.
- 13.000 rpmde 30 saniye santrifüj edildi.
- Örneğin üzerine 300 µl Wash buffer eklendi.
- 13.000 rpm de 30 saniye santrifüj edildi.
- Filtreler receiver tüplerden alınarak 1,5 ml eppendorf tüplerine yerleştirildi

- 20 µl Elution buffer eklendi
- 13.000 rpm de 30 saniye santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası filtreler atıldı. Elde edilen ürünler dizi analizi işlemi için cihaza yüklenmeye hazır hale geldi

3.4.5. Örneklerin cihaza yükleme aşaması

ABI 310 için; plate hazırlandı ve her örnekten 10 mikrolitre plate aktarıldı ve 5 dakika denaturasyon sonrası plate buzda 2 dakika bekletildi

Cihazda belirli yönergeler izlenerek örnekler yürütüldü. GeneMapper yazılım programı kullanılarak her örnek için analiz yapıldı. Chromas Programı kullanılarak, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> adresine girilip normal dizi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

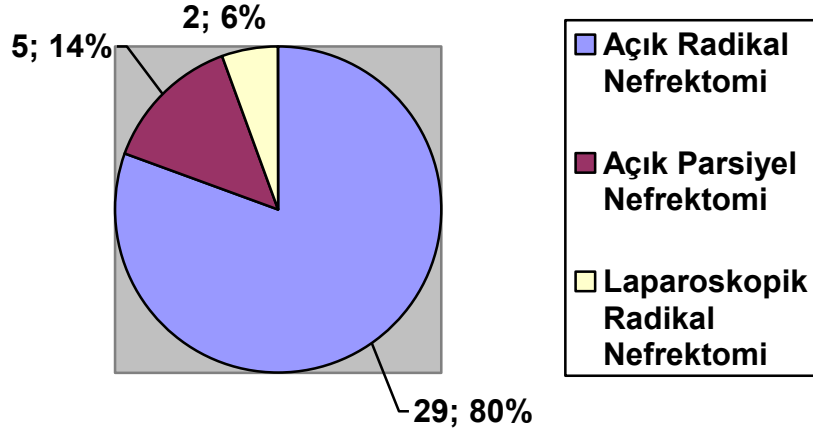
Çalışmaya böbrek tümörü ön tanısı ile dâhil edilen 40 hastanın 20'si erkek 20'si kadın idi. Bu hastalardan kadınların 3'ünde, erkeklerin ise 1'inde patoloji sonucu böbrek hücreli tümör dışı patoloji (1 hasta eozinofilik hücreli multipl renal neoplazm, 1 hasta onkositom, 1 hasta ürotelyal karsinom invaziv yüksek dereceli, 1 hasta anjiomiyolipoma) gelmesi nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubunda ise toplam hasta sayısı 37, erkek sayısı 21, kadın sayısı ise 16 olarak saptandı. Hasta grubunda yaş ortalaması 59, kontrol grubunda 61 olarak belirlendi. Ortalama vücut kitle indeksi hasta grubunda 26,318, kontrol grubunda ise 27,51 olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubunun üre-kreatinin, karaciğer fonksiyon testleri ve başlıca hemogram değerleri ortalaması tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo: 12. Çalışmaya alınan hastaların biyokimyasal değerleri

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu
Üre	42,3	41
Kreatinin	1,03	1,12
ALT	23,5	20
AST	23,3	21,6
WBC	8611	7306
HG	12,7	13,3
HCT	39,1	40,7
PLT	266388	273513

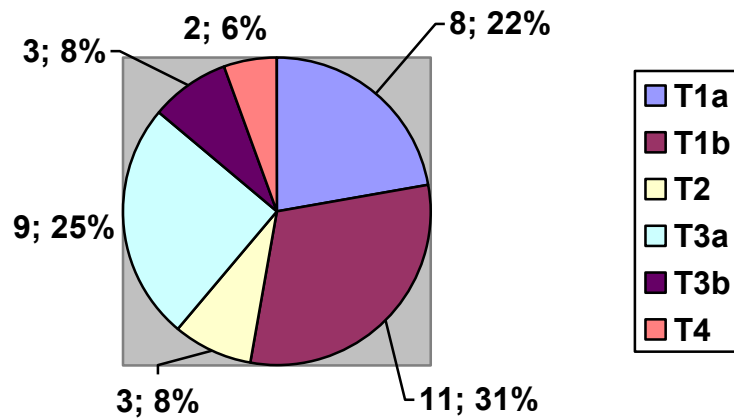
Çalışmaya dâhil edilen hastaların 24'ünde tümörün sol tarafta, 12'sinde ise sağ tarafta olduğu görüldü. Hastaların 29'una açık radikal nefrektomi, 5'ine açık parsiyel nefrektomi, 2'sine ise laparoskopik radikal nefrektomi yapılmıştır. Hastalara yapılan cerrahi tedaviler grafik 1'de gösterilmiştir.

Grafik 1. Hasta grubuna yapılan cerrahi tedaviler

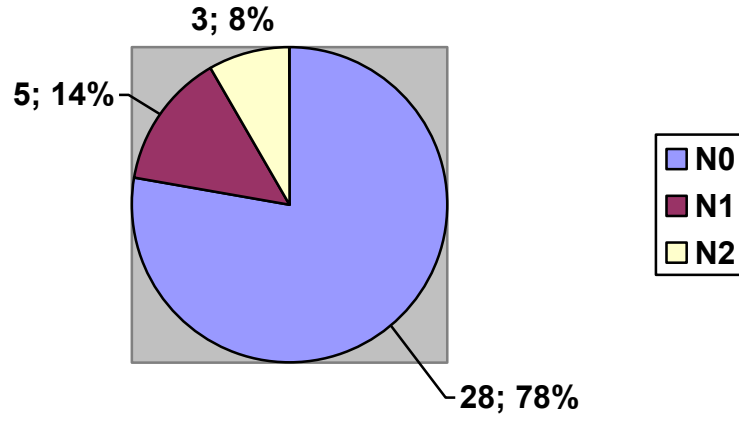


Tümörlerin 2002 TNM evrelemesine göre dağılımı incelendiğinde sırasıyla 8 (%22) hastada T1a, 11 (%31) hastada T1b, 3 (%8) hastada T2, 9 (%25) hastada T3a, 3 (%8) hastada T3b, 2 (%6) hastada ise T4 olarak saptandı. Evre T3c olarak değerlendirilen hasta yoktu. Hastaların 28'i (%78) N0, 5'i (%14) N1, 3'ü (%8) ise N2 olarak değerlendirilirken 5 (%14) hasta M1 olarak tespit edilmiştir (Grafik2–3–4).

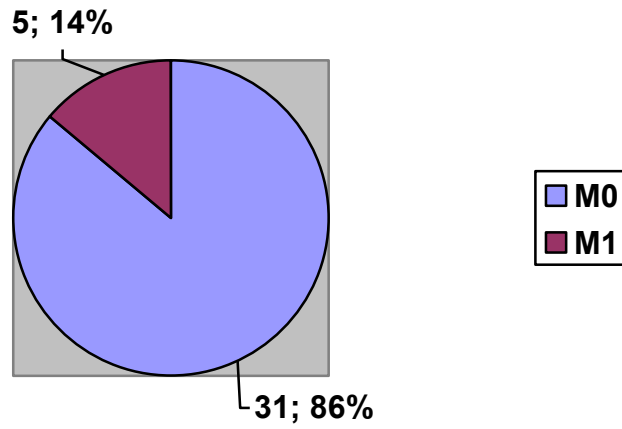
Grafik 2. Tümörün T Evresi



Grafik 3. Tümörün N Evresi

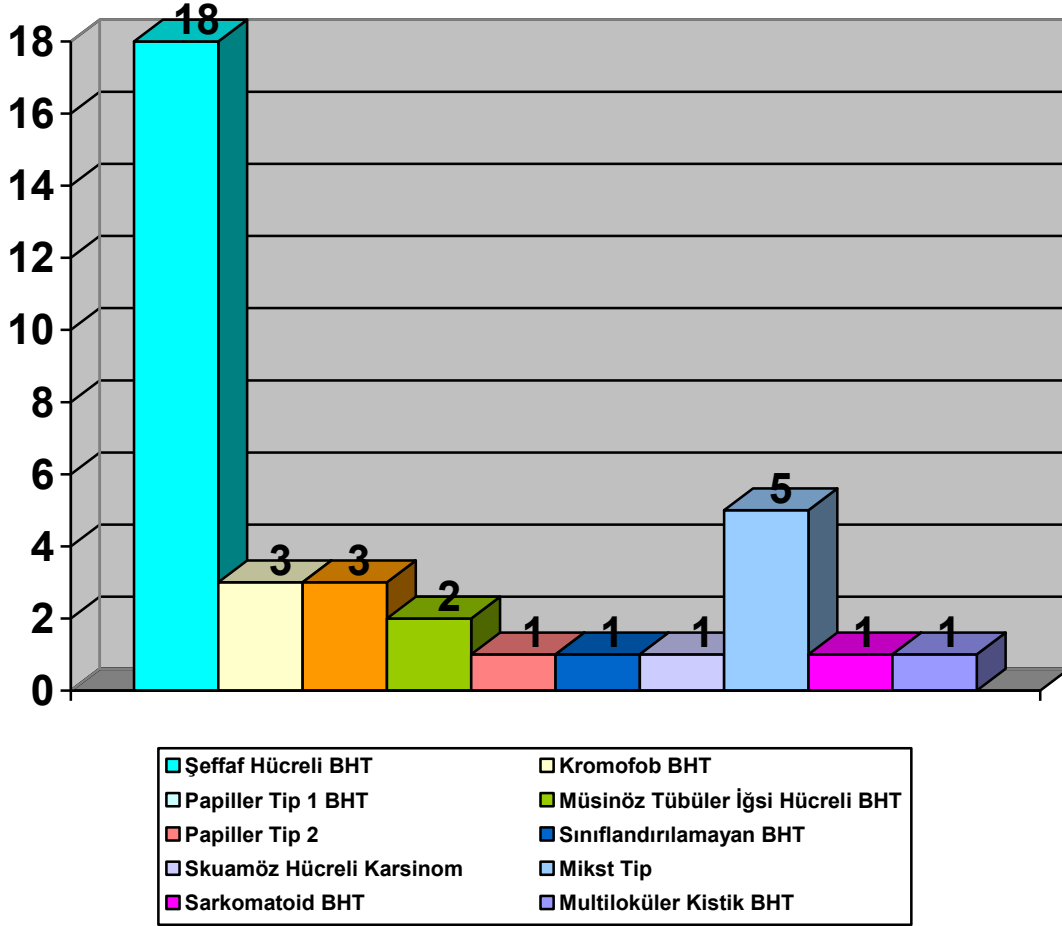


Grafik 4. Tümörün M Evresi



Tüm böbrek spesmenleri histolojik olarak UICC ve AJCC sınıflandırma sistemi ile incelendiğinde 18 (%50) hastada şeffaf hücreli BHT, 3 (%8,3) hastada kromofob hücreli BHT, 3 (%8,3) papiller tip 1 BHT, 2 (%5,5) müsinöz tübüler içsi hücreli BHT, 1 (%2,7) hastada papiller tip 2 BHT, 1 (%2,7) hastada sınıflandırılmayan BHT, 1 (%2,7) hastada skuamöz hücreli karsinom, 1 (%2,7) hastada sarkomatoid BHT, 1 (%2,7) hastada multiloküler kistik BHT ve 5 (%13,8) hastada mikst tip BHT saptanmıştır (Grafik 5).

Grafik 5. Tümör spesmenlerinin histolojik incelemesi



Hastaların Fuhrman derecelendirmesine göre yapılan değerlendirmede, 1 (%4,5) hastada derece 1, 8 (%36,3) hastada derece 2, 7 (%31,8) hastada derece 3, 6 (%27,2) hastada derece 4 olarak tespit edilmiştir.

Spesmenler multifokalite açısından incelendiğinde 3 (%8,3) hastada 1'den fazla tümör odağı olduğu saptanmıştır. Tümörler psödokapsül varlığı açısından incelendiğinde ise 16 (%44,4) hastada psödokapsül saptanmıştır.

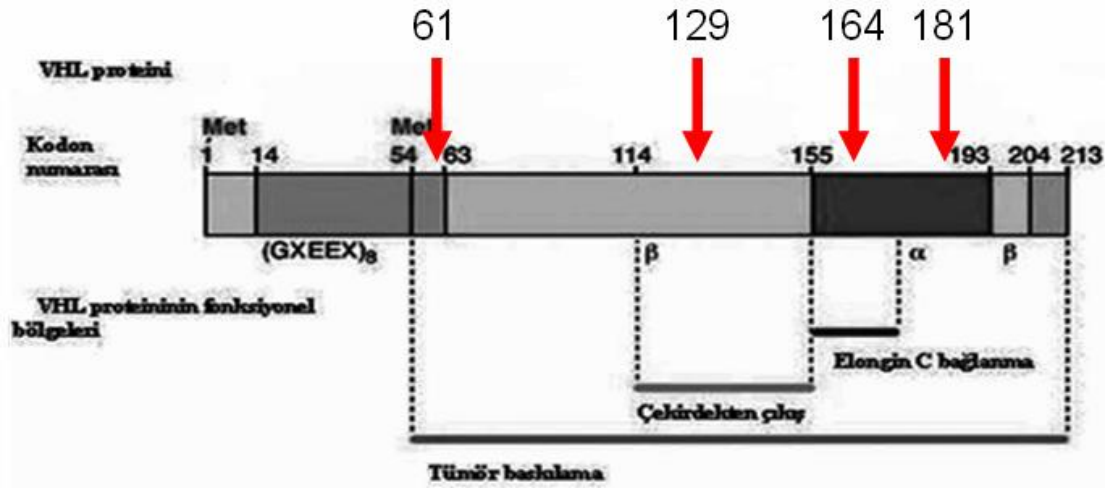
Spesmenlerin cerrahi sınır tümör devamlılığı açısından incelenmesi ile 4 (%11,1) hastada pozitiflik bulunmuştur. Bu hastalardan biri T1a hastaya yapılan parsiyel nefrektomi sonucu görülürken, diğer üçü T3a ve üzeri evre hastalardır.

Kontrol grubu hastalar tanı açısından incelendiklerinde 18 (%48,6) hasta ürolitiazis, 11 (29,7) hasta benign prostat hiperplazisi, 3 (%8,1) hasta üretra darlığı, 3 (%8,1) hasta

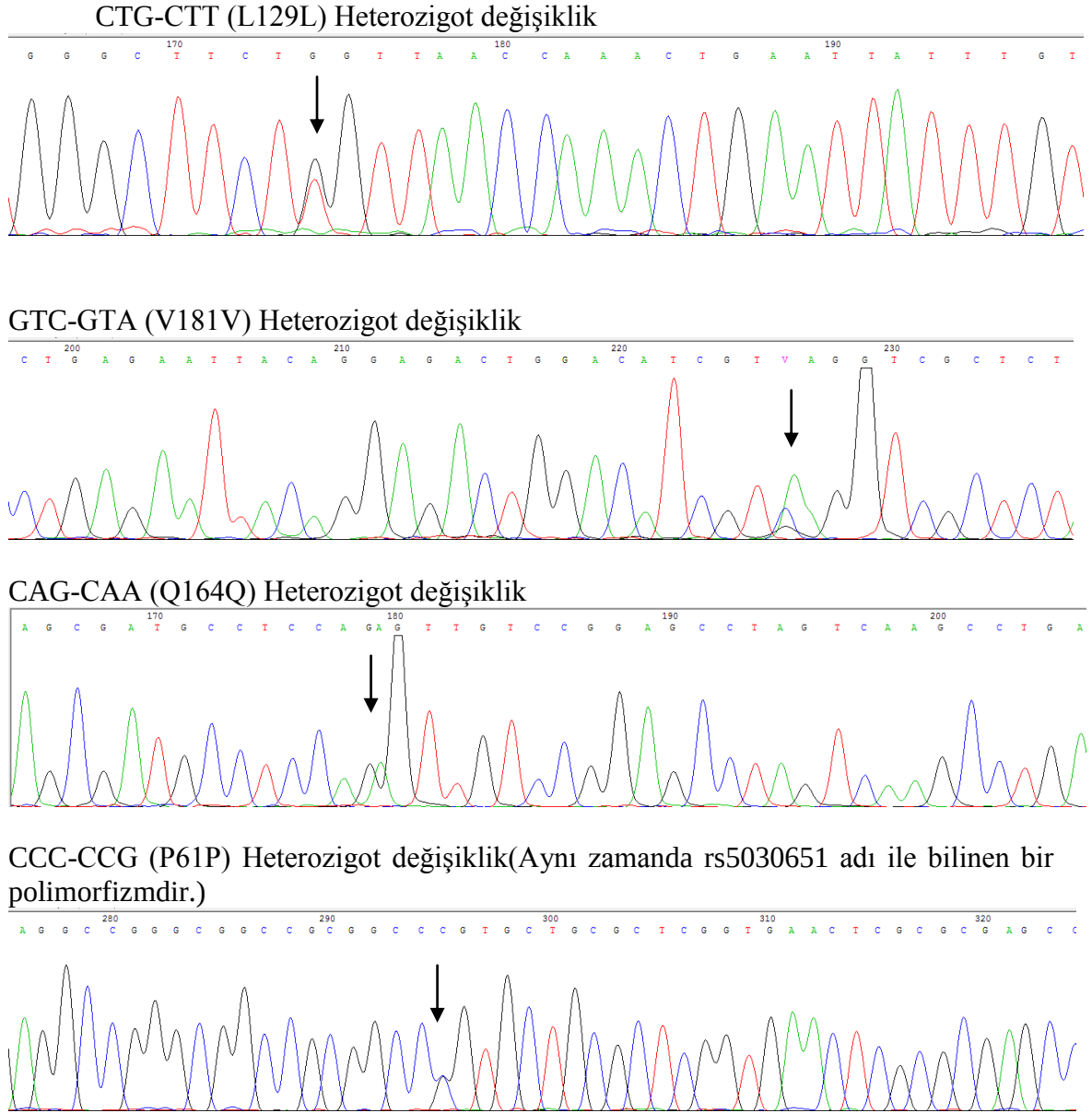
inkontinans, 1 (%2,7) hasta hidronefroz, 1 (%2,7) hasta ise nonfonksiyone böbrek olarak tespit edilmiştir.

Hastaların genetik inceleme sonuçları incelendiğinde ise toplam 6 hastada heterozigot değişiklik (2 hastada 167. kodonda glutamin aminoasidinde değişikliğe yol açmayan Q167Q, ve 181. kodonda valin aminoasidinde değişikliğe yol açmayan V181V birleşik heterozigotluğu; 2 hastada 61. kodonda prolin aminoasidinde değişikliğe yol açmayan P61P heterozigotluğu; 1 hastada 129. kodonda lösin aminoasidinde değişikliğe yol açmayan L129L heterozigotluğu; 1 hastada 61. kodonda prolin aminoasidinde değişikliğe yol açmayan P61P heterozigotluğu) görülmüştür (Şekil 4). Bu değişikliklerin hiç birisi aminoasit değişikliğine neden olmamıştır. Bunlardan bir tanesi (P61P heterozigot değişiklik) daha önceden rs5030651 polimorfizmi olarak tanımlanmakla birlikte diğerleri hakkında polimorfizm veya mutasyon olup olmadıkları konusunda henüz bir veri bulunmamaktadır (Grafik 6). Heterozigot değişiklik saptanan hastaların detaylı bilgileri ise tablo 13’de verilmiştir.

Şekil 4: Heterozigot değişiklik görülen alanların VHL proteini üzerinde fonksiyonel alanlar ile birlikte gösterimi



Şekil 5: Örnek Görüntüler



Tablo: 13. Heterozigot değişiklik saptanan hastalar.

	V9	V12	V15	V18	V19	V35
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Kadın	Erkek	Erkek	Kadın
Yaş	69	48	73	69	78	61
Meslek	Memur	Memur	Ev hanımı	Memur	Memur	Ev hanımı
BMI	24,6	17,5	27,8	29,6	27	29,5
Heterozigot değişiklik	P61P Ekzon 1	Q164Q V181V Ekzon 3	Q164Q V181V Ekzon 3	V181V Ekzon 3	P61P Ekzon 1	L129L Ekzon 2
Sigara	+	+	-	-	-	-
Ailede kanser öyküsü	-	-	-	-	-	-
Tümör tarafı	Sol	Sol	Sağ	Sağ	Sol	Sağ
T Evresi	1b	3a	1b	1b	3b	2
N Evresi	0	1	0	0	0	0
M Evresi	0	1	0	0	0	0
Psödokapsül	+	+	+	+	-	-
Cerrahi sınır	-	-	-	-	-	-
Multifokalite	-	-	-	-	-	-
Histoloji	Şeffaf hücreli BHT	Şeffaf hücreli BHT	Şeffaf hücreli BHT	Şeffaf hücreli BHT	Şeffaf hücreli BHT, Sarkomatooid içerik	Müsinöz tübüler iğsi hücreli karsinom
Fuhrman	3	3	2	3	4	2

5. TARTIŞMA

Von Hippel-Lindau geninin 1990'lı yılların başlarında tanımlanmasının ardından metastatik böbrek tümörü tedavisinde ortaya çıkan gelişmeler dikkat çekicidir. Özellikle son 10 yılda HIF yolağının tanımlanması ile hedefe yönelik tedavilerin ortaya çıkması ve hasta yaşam sürelerine olan katkıları metastatik böbrek tümörü tedavisinde çığır açmıştır. Ancak tüm bu gelişmelere rağmen metastatik böbrek hücreli tümörü bulunan hastaların çok büyük bir bölümü hayatlarını kaybetmektedir. Bu nedenle VHL geninin fonksiyonlarının, mutasyonlarının ve fenotip ilişkilerinin daha net olarak ortaya konması daha etkili tedavi seçeneklerinin ortaya konmasını sağlayacaktır.

Bu çalışmada sporadik böbrek tümörü tanısı alan hastaların VHL gen mutasyonları ortaya konulmaya çalışılmış ve fenotip genotip ilişkisi kurulması amaçlanmıştır. Bu konuda bugüne kadar yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Gnarr ve arkadaşları 98 hastanın 56'sında (%57) VHL mutasyonu saptamışlardır (185). Benzer çalışmalarda Shuin ve arkadaşları 39 hastanın 22'sinde (%56) (186), Foster ve arkadaşları 56 hastanın 30'unda (%46) (187), Brauch ve arkadaşları 151 hastanın 68'inde (%45) (188), Hamano ve arkadaşları 59 hastanın 25'inde (%42,4) (189), Schraml ve arkadaşları 113 hastanın 38'inde (%34) (190) ve Gimenez ve arkadaşları 96 hastanın 21'inde (%21,9) mutasyon saptamışlardır (191). Bu çalışmalarda genetik incelemeler tümör spesmenlerinde yapılmıştır. Bizim çalışmamızda hastaların hiç birisinde daha önceden belirlenmiş mutasyonların saptanmaması, sadece heterozigot değişiklikler bulunması hasta sayısının kısıtlı olmasından veya tümör dokusu yerine hasta kan örneklerinden inceleme yapmış olmamızdan kaynaklanabilir.

SSCP (single-strand conformation polymorphism) gibi basit ve kolay tekniklerin düşük duyarlılığı bazı çalışmalarda mutasyonların belirlenmesinde yetersizlik nedeni olarak bildirilmiştir (194). Ancak bizim çalışmamızda güvenilirlik oranı %98'in üzerinde olan dizin analizi kullanılmış olması bu olasılığı dışlamaktadır.

VHL gen mutasyonunun %17,9 olarak saptandığı bir başka çalışmada VHL gen mutasyonu görülmeden ortaya çıkan böbrek tümörlerinde mutasyonların bir kısmının

diğer tümör süpresör alanlardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (192). VHL ekspresyonunda değişikliğe neden olmayan, VHL lokusu komşuluğunda ve kromozom 3 kısa kolunun farklı yerlerinde heterozigosite kaybı ile kendini gösteren bu alanlarda tümör süpresör genler olabilir ve VHL geni ile beraber böbrek tümörü karsinogenezinden sorumlu olabileceği belirtilmiştir. Literatürde sporadik BHT hastalarında VHL promotor bölgesinde görülen hipermetilasyon oranı %11–19 olarak belirtilmiştir (193). Çalışmamızda hastalarda mutasyon saptanmamasına rağmen tümör oluşması VHL geni dışında diğer tümör süpresör genlerdeki değişikliklere, VHL genindeki promotor bölgesindeki mutasyonlara veya VHL geninin metilasyon paternini değiştiren durumlara bağlı olabilir.

Yapılan çalışmalarda bu güne kadar tümör boyutu, nükleer derece veya evre (pT, pN, pM) gibi patolojik parametreler ve klinik bulgular ile VHL gen değişiklikleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak bazı otörler VHL gen değişiklikleri ile evre pT3 arasında ilişki olabileceğini belirtmişlerdir (188). Promotor bölgenin mutasyonlarının daha küçük tümör ve daha düşük nükleer grade, ekzon 3 anomalilerinin ise daha büyük tümör, daha yüksek nükleer grade, daha ileri evre ve daha agresif tümör ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (194). Bizim çalışmamızda da her ne kadar hasta sayısı az olsa da heterozigot değişiklikler ile diğer parametreler arasında ilişki saptanmamıştır.

6. SONUÇ

Literatürde ülkemizde sporadik böbrek tümörlü hastalarda VHL gen mutasyonlarının veya polimorfizmlerinin araştırıldığı herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızda hastaların hiç birisinde VHL mutasyonunun saptanmamış olması Türklerin genetik yapısındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Yurtdışı kaynaklı çalışmalar ile kıyaslandığında hasta sayısının az olması da yine hiç VHL mutasyonu saptanmamasına neden olarak gösterilebilir. Gelecekte sağlıklı Türk popülasyonunda VHL gen polimorfizmlerinin saptanmasında ve tümör dokusu çalışmaları ile birleştirilerek mutasyonların tanımlanmasında öncülük edecek bir çalışma olarak düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Novick AC, Campbell SC: Renal Tumors; In: Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA (eds). Campbell's Urology, eighth edition, Vol.4, 2672-2731, 2002
2. Grawitz P: Die sogenannten lipome der niere. Virchows Arch, 93:39, 1883.
3. Oberling C, Riviere M, Haguenau F: Ultrastructure of the clear cells in renal carcinomas and its importance for the demonstration of their renal origin. Nature, 186:402-3, 1960.
4. Laucks SP Jr, McLachlan MS: Aging and simple cysts of the kidney. Br J Radiol, 54(637):12-4, 1981
5. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z: 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. Eur Urol, 49(5):798-805, 2006
6. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds.): World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. IARC Pres:Lyon 2004
7. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ: Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin, 59(4):225-49, 2009
8. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P: Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin, 55(2):74-108, 2005
9. Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P: Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. Int J Cancer, 114(1): 101-8, 2005
10. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Tjønneland A, Halkjaer J, Overvad K, Klipstein-Grobusch K, Linseisen J, Becker N, Trichopoulou A, Benetou V, Trichopoulos D, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Monninkhof E, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Büchner FL, Ljungberg B, Hallmans G, Berglund G, Gonzalez CA, Dorronsoro M, Gurrea AB, Navarro C, Martinez C, Quirós JR, Roddam A, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Kaaks R, Norat T, Slimani N, Riboli E: Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer, 118(3):728-38, 2006
11. Menezes RJ, Tomlinson G, Kreiger N: Physical activity and risk of renal cell carcinoma. Int J Cancer, 107(4): 642-6, 2003

12. Grossman E, Messerli FH, Boyko V, Goldbourt U: Is there an association between hypertension and cancer mortality?. *Am J Med*, 112(6):479-86, 2002
13. Hu J, Mao Y, White K, et al: Diet and vitamin or mineral supplements and risk of renal cell carcinoma in Canada. *Cancer Causes Control*, 14:705-14, 2003
14. Rubagotti A, Martorana G, Boccardo FM: Epidemiology of kidney cancer. *Eur Urol*, 50(Suppl5):558-65, 2006
15. Ishikawa I, Saito Y, Asaka M, et al: 20 year follow-up of acquired renal cystic disease. *Clin Nephrol*.59: 153-9, 2003
16. Parker As, Cerhan JR, Lynch CF, et al: History of urinary tract infection and risk of renal cell carcinoma. *Am J Epidemiol*. 159:42-8, 2004
17. Kirkali Z, Obek C: Clinical Aspects of renal cell carcinoma. *EAU Update series*. 1:189-96, 2003
18. Srigley JR, Eble JN: Collecting duct carcinoma of kidney. *Semin Diagn Pathol*. 15:54-67, 1998
19. Mohr DN, Offord KP, Owen RA, et al: Asymptomatic microhematuria and urologic disease. A population based study. *JAMA*, 256(2): 224-9, 1986
20. Estalilla OC, Koo CH, Brynes RK, Medeiros LJ: Oncocytoid renal cell carcinoma after neuroblastoma: a report of four cases of a distinct clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol*. 23(7):772-80, 1999
21. Bosniak MA, Birnbaum BA, Krinsky GA, Waisman J: Small renal parenchymal neoplasms: further observations on growth. *Radiology*, 197(3):589-97, 1995
22. Linehan WM, Walther MM, Zbar B: The genetic basis of cancer of kidney. *J Urol*, 170: 2163-72, 2003
23. Walther MM, Lubensky IA, Venzon D, Zbar B, Linehan WM: Prevalence of microscopic lesions in grossly normal renal parenchyma from patients with von Hippel-Lindau disease, sporadic renal cell carcinoma and no renal disease: clinical implications. *J Urol*, 154(6):2010-4, 1995
24. Tory K, Brauch H, Linehan M, Barba D, Oldfield E, Filling-Katz M, Seizinger B, Nakamura Y, White R, Marshall FF, et al: Specific genetic change in tumors associated with von Hippel-Lindau disease. *J Natl Cancer Inst*, 81(14):1097-101, 1989

25. Stolle C, Glenn G, Zbar B, Humphrey JS, Choyke P, Walther M, Pack S, Hurley K, Andrey C, Klausner R, Linehan WM: Improved detection of germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Hum Mutat*, 12(6):417-23, 1998
26. Chen F, Kishida T, Yao M, Hustad T, Glavac D, Dean M, Gnarr JR, Orcutt ML, Duh FM, Glenn G, et al: Germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene: correlations with phenotype. *Hum Mutat*, 5(1):66-75, 1995
27. Maranchie JK, Afonso A, Albert PS, Kalyandrug S, Phillips JL, Zhou S, Peterson J, Ghadimi BM, Hurley K, Riss J, Vasselli JR, Ried T, Zbar B, Choyke P, Walther MM, Klausner RD, Linehan WM: Solid renal tumor severity in von Hippel Lindau disease is related to germline deletion length and location. *Hum Mutat*, 23(1):40-6, 2004
28. Gnarr JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, Wei MH, Li H, et al: Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Gen*, 7(1):85-90, 1994
29. Kaelin WG, Iliopoulos O, Lonergan KM, Ohh M: Functions of the von Hippel-Lindau tumour suppressor protein. *J Intern Med*, 243(6):535-9, 1998
30. Maher ER: Von Hippel-Lindau disease. *Curr Mol Med*, 4:833-42, 2004
31. Pavlovich CP, Schmidt LS, Phillips J: The genetic basis of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*, 30(3):437-54, 2003
32. Maranchie JK, Linehan WM: Genetic disorders and renal cell carcinoma. *Urol Clin N Am*, 30: 133-141, 2003
33. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, Wykoff CC, Pugh CW, Maher ER, Ratcliffe PJ: The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*, 399(6733):271-5, 1999
34. Kondo K, Kaelin WG Jr: The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Exp Cell Res*, 264:117-125, 2001
35. Bindra RS, Vasselli JR, Stearman R, Linehan WM, Klausner RD: VHL-mediated hypoxia regulation of cyclin D1 in renal carcinoma cells. *Cancer Res*, 62(11):3014-9, 2002

36. Pioli PA, Rigby WF: The von Hippel-Lindau protein interacts with heteronuclear ribonucleoprotein a2 and regulates its expression. *J Biol Chem*, 276(43):40346-52, 2001
37. Zbar B, Kaelin W, Maher E, et al: Third international meeting on von Hippel-Lindau disease. *Cancer Res*, 59:2251-2253, 1999
38. Iliopoulos O, Kibel A, Gray S, Kaelin WG Jr: Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product. *Nat Med*. 1(8), 822-6, 1995
39. Richards FM, Schofield PN, Fleming S, Maher ER: Expression of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene during human embryogenesis. *Hum Mol Genet*, 5(5):639-44, 1996
40. Richards FM, Crossey PA, Phipps ME, Foster K, Latif F, Evans G, Sampson J, Lerman MI, Zbar B, Affara NA, et al: Detailed mapping of germline deletions of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene. *Hum Mol Genet*, 3(4):595-8, 1994
41. Richard S; French VHL Study Group: von Hippel-Lindau disease: recent advances and therapeutic perspectives. *Expert Rev Anticancer Ther*, 3:215-33, 2003
42. Joerger M, Koeberle D, Neumann HP, Gillessen S: Von Hippel-Lindau disease--a rare disease important to recognize. *Onkologie*, 28(3):159-63, 2005
43. Podolski J, Byrski T, Zajaczek S, Druck T, Zimonjic DB, Popescu NC, Kata G, Borowka A, Gronwald J, Lubinski J, Huebner K: Characterization of a familial RCC-associated t(2;3)(q33;q21) chromosome translocation. *J Hum Genet*, 46(12):685-93, 2001
44. Woodward ER, Clifford SC, Astuti D, Affara NA, Maher ER: Familial clear cell renal cell carcinoma (FCRC): clinical features and mutation analysis of the VHL, MET, and CUL2 candidate genes. *J Med Genet*, 37(5): 348-53, 2000
45. Schmidt L, Junker K, Weirich G, Glenn G, Choyke P, Lubensky I, Zhuang Z, Jeffers M, Vande Woude G, Neumann H, Walther M, Linehan WM, Zbar B: Two North American families with hereditary papillary renal carcinoma and identical novel mutations in the MET proto-oncogene. *Cancer Res*, 58(8): 1719-22, 1998
46. Launonen V, Vierimaa O, Kiuru M, Isola J, Roth S, Pukkala E, Sistonen P, Herva R, Aaltonen LA: Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(6), 3387-92, 2001

47. Tomlinson IP, Alam NA, Rowan AJ, Barclay E, Jaeger EE, Kelsell D, Leigh I, Gorman P, Lamlum H, Rahman S, Roylance RR, Olpin S, Bevan S, Barker K, Hearle N, Houlston RS, Kiuru M, Lehtonen R, Karhu A, Vilkki S, Laiho P, Eklund C, Vierimaa O, Aittomäki K, Hietala M, Sistonen P, Paetau A, Salovaara R, Herva R, Launonen V, Aaltonen LA; Multiple Leiomyoma Consortium: Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet*, 30(4): 406-10, 2002
48. Zbar B, Alvord WG, Glenn G, Turner M, Pavlovich CP, Schmidt L, Walther M, Choyke P, Weirich G, Hewitt SM, Duray P, Gabril F, Greenberg C, Merino MJ, Toro J, Linehan WM: Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11(4):393-400 2002
49. Pavlovich CP, Walther MM, Eyler RA, et al: Renal Tumours in the Birt-Hogg-Dube syndrome. *Am J Surg Pathol* 26: 1542-52, 2002
50. Nickerson ML, Warren MB, Toro JR, Matrosova V, Glenn G, Turner ML, Duray P, Merino M, Choyke P, Pavlovich CP, Sharma N, Walther M, Munroe D, Hill R, Maher E, Greenberg C, Lerman MI, Linehan WM, Zbar B, Schmidt LS: Mutations in a novel gene lead to kidney tumors, lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Cell*, 2(2):157-64, 2002
51. Choyke PL, Glenn GM, Walther MM, et al: Hereditary renal cancers. *Radiology*, 226:33-46, 2003
52. Weirich G, Glenn G, Junker K, Merino M, Störkel S, Lubensky I, Choyke P, Pack S, Amin M, Walther MM, Linehan WM, Zbar B: Familial renal oncocytoma: clinicopathological study of 5 families. *J Urol*, 160(2):335-340 1998
53. Davidson AJ, Hayes WS, Hartman DS, McCarthy WF, Davis CJ Jr: Renal oncocytoma and carcinoma: failure of differentiation with CT. *Radiology*. 1993 Mar;186(3):693-6.
54. Seizinger BR, Smith DI, Filling-Katz MR, Neumann H, Green JS, Choyke PL, Anderson KM, Freiman RN, Klauck SM, Whaley J, et al: Genetic flanking markers refine diagnostic criteria and provide insights into the genetics of Von Hippel Lindau disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 88(7):2864-8, 1991

55. Jayson M, Sanders H: Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology*, 51(2):203-5, 1998
56. Kessler O, Mukamel E, Hadar H, Gillon G, Konechezky M, Servadio C: Effect of improved diagnosis of renal cell carcinoma on the course of the disease. *J Surg Oncol*, 57(3): 201-4, 1994
57. Bechtold RE, Zagoria RJ: Imaging approach to staging of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*, 24 (3):507-22, 1997
58. Choyke PL: Detection and staging of renal cancer. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, 5:29-47, 1997
59. Lim DJ, Carter MF: Computerized tomography in the preoperative staging for pulmonary metastases in patients with renal cell carcinoma. *J Urol*, 150 (4): 1112-4, 1993
60. Herts BR, Baker ME: The current role of percutaneous biopsy in the evaluation of renal masses. *Semin Urol Oncol*. 13(4): 254-61, 1995
61. Hopper KD, Yakes WF: The posterior intercostal approach for percutaneous renal procedures: risk of puncturing the lung, spleen, and liver as determined by CT. *AJR Am J Roentgonol*, 154(1):115-7, 1990
62. Vassiliades VG, Bernardino ME: Percutaneous renal and adrenal biopsies. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 14(1): 50-4, 1991
63. Guinan P, Sobin LH, Algaba F, Badellino F, Kameyama S, MacLennan G, Novick A: TNM staging of renal cell carcinoma: Workgroup No. 3. Union International Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*, 80(5): 992-3, 1997
64. Chawla SN, Crispen PL, Hanlon AL, Greenberg RE, Chen DY, Uzzo RG: The natural history of observed enhancing renal masses: meta-analysis and review of the world literature. *J Urol*, 175(2):425-31, 2006
65. Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H: Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol*, 170(6 Pt 1): 2217-20, 2003
66. Walther MM, Choyke PL, Glenn G, Lyne JC, Rayford W, Venzon D, Linehan WM: Renal cancer in families with hereditary renal cancer: prospective analysis of a

- tumor size threshold for renal parenchymal sparing surgery. *J Urol*, 161(5): 1475-9, 1999
67. Kirkali Z, Esen AA, Kirkali G, et al: Ferritin: a tumor marker expressed by renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 28(2): 131-4, 1995
 68. Kikuchi H. Tumor markers of urinary tract carcinoma. *Rinsho Byori*, 52: 371-380, 2004
 69. Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Weaver AL, Blute ML: Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 27(5): 612-24, 2003
 70. Fumagalli L, Lissoni P, Di Felice G, Meregalli S, Valsuani G, Mengo S, Rovelli F: Pretreatment serum markers and lymphocyte response to interleukin-2 therapy. *Br J Cancer*, 80(3-4): 407-11, 1999
 71. Yao M, Tabuchi H, Nagashima Y, Baba M, Nakaigawa N, Ishiguro H, Hamada K, Inayama Y, Kishida T, Hattori K, Yamada-Okabe H, Kubota Y: Gene expression analysis of renal carcinoma: adipose differentiation-related protein as a potential diagnostic and prognostic biomarker for clear-cell renal carcinoma. *J Pathol*, 205(3): 377-87, 2005
 72. Hofmockel G, Tsatalpas P, Müller H, Dämmrich J, Poot M, Maurer-Schultze B, Müller-Hermelink HK, Frohmüller HG, Bassukas ID: Significance of conventional and new prognostic factors for locally confined renal cell carcinoma. *Cancer*, 76(2): 296-306, 1995
 73. Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Langner C: Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue. *Urology*, 63(4): 651-5, 2004
 74. Kralj M, Pavelić J: p21WAF1/CIP1 is more effective than p53 in growth suppression of mouse renal carcinoma cell line Renca in vitro and in vivo. *J Cancer Res Clin Oncol*, 129(8): 463-71, 2003
 75. Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M, Eskelinen M, Syrjänen K, Kosma VM: Expression of cyclins A and D and p21(waf1/cip1) proteins in renal cell cancer and their relation to clinicopathological variables and patient survival. *Br J Cancer*, 80(12): 2001-7, 1999

76. Meria P, Toubert ME, Cussenot O, Bassi S, Janssen T, Desgrandchamps F, Cortesse A, Schlageter MH, Teillac P, Le Duc A: Tumour-associated trypsin inhibitor and renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 27(3): 223-6, 1995
77. Chang CH, Wu HC, Yen RF, Kao A, Lin CC, Lee CC: Tissue polypeptide specific antigen (TPS) as a tumor marker in renal cell carcinoma. *Anticancer Research*, 22: 2949-2950, 2002
78. Mulders P, Blaumer I, Oosterwijk E: Tumor antigens and markers in renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*, 30: 455-65, 2003
79. Chapman RS, Chresta CM, Herberg AA, Beere HM, Heer S, Whetton AD, Hickman JA, Dive C: Further characterisation of the in situ terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) assay for the flow cytometric analysis of apoptosis in drug resistant and drug sensitive leukaemic cells. *Cytometry*, 20(3): 245-56, 1995
80. Itoi T, Yamana K, Bilim V, Takahashi K, Tomita F: Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer*, 90(1): 200-5, 2004
81. Frankfurt OS, Krishan A: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the specific detection of apoptotic cells and its application to rapid drug screening. *J Immunol Methods*, 253(1-2): 133-44, 2001
82. Takashi M, Haimoto H, Tanaka J, Murase T, Kato K: Evaluation of gamma-enolase as a tumor marker for renal cell carcinoma. *J Urol*, 141(4): 830-4, 1989
83. Hara N, Bilim V, Kasahara T, Obara K, Saito K, Takahashi K, Tomita Y: Inducible nitric oxide, synthase in renal cell carcinoma: expression in tumor thrombi and induction under hypoxic conditions. *Anticancer Res*, 23(6C): 4641-9, 2003
84. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Kawauchi A, Nakao M, Miki T: The significance of thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor activity in renal cell carcinoma. *Cancer*, 98(4): 730-6, 2003
85. Hegle A, Varga Z, Kosche B et al: Pyruvate Kinase type tumor M2 in urological malignancies, *Urol Int*, 70:55-8, 2003
86. Langer C, Ratschek P, Rehak P, et al: CD10 is a diagnostic and prognostic marker in renal malignancies. *Histopathology*, 45: 460-7, 2004

87. Bussolati B, Russo S, Deambrosis I, Cantaluppi V, Volpe A, Ferrando U, Camussi G. Expression of CD154 on renal cell carcinomas and effect on cell proliferation, motility and platelet-activating factor synthesis. *Int J Cancer*, 100(6): 654-61, 2002
88. Heider KH, Ratschek M, Zatloukal K, Adolf GR: Expression of CD44 isoforms in human renal cell carcinomas. *Virchows Arch*, 428(4-5), 267-73, 1996
89. Gerharz CD, Ramp U, Déjosez M, Mahotka C, Czarnotta B, Bretschneider U, Lorenz I, Müller M, Krammer PH, Gabbert HE: Resistance to CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis in human renal cell carcinomas: an important factor for evasion from negative growth control. *Lab Invest*, 79(12): 1521-34, 1999
90. Junker K, Hindermann W, von Eggeling F, Diegmann J, Haessler K, Schubert J: CD70: a new tumor specific biomarker for renal cell carcinoma. *J Urol*, 173(6): 2150-3, 2005
91. Westenfelder C, Baranowski RL: Erythropoietin stimulates proliferation of human renal carcinoma cells. *Kidney Int*, 58(2): 647-57, 2000
92. Meria P, Toubert ME, Cussenot O, Bassi S, Janssen T, Desgrandchamps F, Cortesse A, Schlageter MH, Teillac P, Le Duc A: Tumour-associated trypsin inhibitor and renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 27(3): 223-6, 1995
93. Dawson NA, Barr CF, Alving BM: Acquired dysfibrinogenemia. Paraneoplastic syndrome in renal cell carcinoma. *Ac J Med*, 78(4): 682-6, 1985
94. Hegele A, Heidenreich A, Kropf J, von Knobloch R, Varga Z, Hofmann R, Olbert P: Plasma levels of cellular fibronectin in patients with localized and metastatic renal cell carcinoma. *Tumour Biol*, 25(3): 111-6, 2004
95. Méjean A, Oudard S, Thiounn N: Prognostic factors of renal cell carcinoma. *J Urol*, 169(3), 821-7, 2003
96. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM: Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol*, 32(6):590-5, 2001
97. Casamassima A, Picciariello M, Quaranta M, Berardino R, Ranieri C, Paradiso A, Lorusso V, Guida M: C-reactive protein: a biomarker of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with subcutaneous interleukin-2 based immunotherapy. *J Urol*, 174(6): 2422-3, 2005

98. Kashyap MK, Kumar A, Emelianenko N, Kashyap A, Kaushik R, Huang R, Khullar M, Sharma SK, Singh SK, Bhargave AK, Upadhyaya SK: Biochemical and molecular markers in renal cell carcinoma: an update and future prospects. *Biomarkers*, 10(4): 258-94, 2005
99. Mantur M, Kemoni H, Pietruczuk M, Wasiluk A: Does renal carcinoma affect the expression of P-selectin on platelets? *Neoplasma*, 49(4): 243
100. Paul R, Ewing CM, Robinson JC, Marshall FF, Johnson KR, Wheelock MJ, Isaacs WB: Cadherin-6, a cell adhesion molecule specifically expressed in the proximal renal tubule and renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 57(13): 2741-8, 1997
101. Wechsel HW, Petri E, Bichler KH, Feil G: Marker for renal cell carcinoma (RCC): the dimeric form of pyruvate kinase type M2 (Tu M2-PK). *Anticancer Res*, 19(4A): 2583-90, 1999
102. Kraus S, Abel PD, Nachtmann C, Linsenmann HJ, Weidner W, Stamp GW, Chaudhary KS, Mitchell SE, Franke FE, Lalani el-N: MUC1 mucin and trefoil factor 1 protein expression in renal cell carcinoma: correlation with prognosis. *Hum Pathol*, 33(1): 60-7, 2002
103. Morell-Quadreny L, Clar-Blanch F, Fenollosa-Enterna B, Perez-Bacete M, Martinez-Lorente A, Llombart-Bosch A: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a prognostic factor in renal cell carcinoma. *Anticancer Res*, 18(1B): 677-82, 1998
104. van der Poel HG, Mulders PF, Oosterhof GO, Schaafsma HE, Hendriks JC, Schalken JA, Debruyne FM: Prognostic value of karyometric and clinical characteristics in renal cell carcinoma. Quantitative assessment of tumor heterogeneity. *Cancer*, 72(9): 2667-74, 1993
105. Murakami Y, Kanda K, Tsuji M, Kanayama H, Kagawa S: MN/CA9 gene expression as a potential biomarker in renal cell carcinoma. *BJU Int*, 83(7): 743-7, 1999
106. Lee CT, Genega EM, Hutchinson B, Fearn PA, Kattan MW, Russo P, Reuter VE: Conventional (clear cell) renal carcinoma metastases have greater bcl-2 expression than high-risk primary tumors. *Urol Oncol*, 21(3): 179-84, 2003
107. Jiang F, Richter J, Schraml P, et al: Genetic differences between histological subtypes. Chromosomal imbalances in papillary renal cell carcinoma. *Am J Pathol*, 153: 1467-73, 1998

108. Chung BI, Malkowicz SB, Nguyen TB, Libertino JA, McGarvey TW: Expression of the proto-oncogene Axl in renal cell carcinoma. *DNA Cell Biol*, 22(8): 533-40, 2003
109. Herbers J, Schullerus D, Müller H, Kenck C, Chudek J, Weimer J, Bugert P, Kovacs G: Significance of chromosome arm 14q loss in nonpapillary renal cell carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 19(1): 29-35, 1997
110. Kallfelz M, Jung D, Hilmes C, Knuth A, Jaeger E, Huber C, Seliger B: Induction of immunogenicity of a human renal-cell carcinoma cell line by TAP1-gene transfer. *Int J Cancer*, 81(1): 125-33, 1999
111. Sanz-Casla MT, Maestro ML, del Barco V, Zanna I, Moreno J, Vidaurreta M, Almansa I, Fernández C, Blanco J, Maestro C, Resel L: Loss of heterozygosity and methylation of p16 in renal cell carcinoma. *Urol Res*, 31(3): 159-62, 2003
112. Méjean A, Oudard S, Thiounn N: Prognostic factors of renal cell carcinoma. *J Urol*, 169(3): 821-7, 2003
113. Giuliani L, Giberti C, Martorana G, Rovida S: Radical extensive surgery for renal cell carcinoma: long-term results and prognostic factors. *J Urol*, 143(3): 468-73, 1990
114. Ficarra V, Prayer-Galetti T, Novella G, Bratti E, Maffei N, Dal Bianco M, Artibani W, Pagano F: Incidental detection beyond pathological factors as prognostic predictor of renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 43(6): 663-9, 2003
115. Moinzadeh A, Libertino JA: Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same? *J Urol*, 171(2 Pt 1): 598-601, 2004
116. Kim HL, Zisman A, Han KR, Figlin RA, Belldegrun AS: Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different? *J Urol*, 171(2 Pt 1): 588-91, 2004
117. Bonsib SM, Gibson D, Mhoon M, Greene GF: Renal sinus involvement in renal cell carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 24(3): 451-8, 2000
118. Pantuck AJ, Zisman A, Dorey F, Chao DH, Han KR, Said J, Gitlitz BJ, Figlin RA, Belldegrun AS: Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes: role of lymph node dissection. *J Urol*, 169(6): 2076-83, 2003

119. Pantuck AJ, Zisman A, Dorey F, Chao DH, Han KR, Said J, Gitlitz B, Belldegrun AS, Figlin RA: Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes. Impact on survival and benefits of immunotherapy. *Cancer*, 97(12): 2995-3002, 2003
120. Vasselli JR, Yang JC, Linehan WM, White DE, Rosenberg SA, Walther MM: Lack of retroperitoneal lymphadenopathy predicts survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol*, 166(1): 68-72, 2001
121. Kletscher BA, Qian J, Bostwick DG, Blute ML, Zincke H: Prospective analysis of the incidence of ipsilateral adrenal metastasis in localized renal cell carcinoma. *J Urol*, 155(6): 1844-6, 1996
122. Tsui KH, Shvarts O, Barbaric Z, Figlin R, de Kernion JB, Belldegrun A: Is adrenalectomy a necessary component of radical nephrectomy? UCLA experience with 511 radical nephrectomies. *J Urol*, 163(2): 437-41, 2000
123. Han KR, Bui MH, Pantuck AJ, Freitas DG, Leibovich BC, Dorey FJ, Zisman A, Janzen NK, Mukoyama H, Figlin RA, Belldegrun AS: TNM T3a renal cell carcinoma: adrenal gland involvement is not the same as renal fat invasion. *J Urol*, 169(3): 899-903, 2003
124. Elson PJ, Witte RS, Trump DL: Prognostic factors for survival in patients with recurrent or metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 48(24 Pt 1): 7310-3, 1988
125. Fosså SD, Kramar A, Droz JP: Prognostic factors and survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with chemotherapy or interferon-alpha. *Eur J Cancer*, 30A(9): 1310-4, 1994
126. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J: Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 17(8): 2530-40, 1999
127. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C: Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 6(7): 655-63, 1982
128. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM: Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol*, 32(6): 590-5, 2001
129. Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ: Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM

- staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer*, 89(3): 604-14, 2000
130. Chao D, Zisman A, Pantuck AJ, Gitlitz BJ, Freedland SJ, Said JW, Figlin RA, Belldegrun AS: Collecting duct renal cell carcinoma: clinical study of a rare tumor. *J Urol*, 167(1): 71-4, 2002
131. Cangiano T, Liao J, Naitoh J, Dorey F, Figlin R, Belldegrun A: Sarcomatoid renal cell carcinoma: biologic behavior, prognosis, and response to combined surgical resection and immunotherapy. *J Clin Oncol*, 17(2): 523-8, 1999
132. Goldstein NS: The current state of renal cell carcinoma grading. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*, 80(5): 977-80, 1997
133. Monge JM, Val-Bernal JF, Buelta L, García-Castrillo L, Asensio L: Selective nuclear morphometry as a prognostic factor of survival in renal cell carcinoma. *Histol Histopathol*, 14(1): 119-23, 1999
134. Nativ O, Sabo E, Bejar J, Halachmi S, Moskovitz B, Miselevich I: A comparison between histological grade and nuclear morphometry for predicting the clinical outcome of localized renal cell carcinoma. *Br J Urol*, 78(1): 33-8, 1996
135. Amin MB, Amin MB, Tamboli P, Javidan J, Stricker H, de-Peralta Venturina M, Deshpande A, Menon M: Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol*, 26(3): 281-91, 2002
136. Lam JS, Shvarts O, Said JW, Pantuck AJ, Seligson DB, Aldridge ME, Bui MH, Liu X, Horvath S, Figlin RA, Belldegrun AS: Clinicopathologic and molecular correlations of necrosis in the primary tumor of patients with renal cell carcinoma. *Cancer*, 103(12): 2517-25, 2005
137. Uzzo RG, Cherullo EE, Myles J, Novick AC: Renal cell carcinoma invading the urinary collecting system: implications for staging. *J Urol*, 167(6): 2392-6, 2002
138. Palapattu GS, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Figlin RA, Belldegrun AS: Collecting system invasion in renal cell carcinoma: impact on prognosis and future staging strategies. *J Urol*, 170(3): 768-72, 2003
139. Delahunt B, Bethwaite PB, Nacey JN, Ribas JL: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression as a prognostic indicator for renal cell carcinoma:

- comparison with tumour grade, mitotic index, and silver-staining nucleolar organizer region numbers. *J Pathol*, 170(4):471-7, 1993
140. Bretheau D, Lechevallier E, Eghazarian C, Grisoni V, Coulange C: Prognostic significance of incidental renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 27(4): 319-23, 1995
 141. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin R, de Kernion JB, Beldegrun A: Renal cell carcinoma: prognostic significance of incidentally detected tumors. *J Urol*, 163(2): 426-30, 2000
 142. Mickisch GH, Garin A, van Poppel H, de Prijck L, Sylvester R; European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Genitourinary Group: Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: a randomised trial. *Lancet*, 358(9286): 966-70, 2001
 143. Flanigan RC, Yonover PM: The role of radical nephrectomy in metastatic renal cell carcinoma. *Semin Urol Oncol*, 19(2): 98-102, 2001
 144. Wyczółkowski M, Klima W, Bieda W, Walas K: Spontaneous regression of hepatic metastases after nephrectomy and metastasectomy of renal cell carcinoma. *Urol Int*, 66(2): 119-20, 2001
 145. Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol*, 101:297-301, 1969
 146. Frank I, Blute ML, Leibovich BC, Cheville JC, Lohse CM, Zincke H: Independent validation of the 2002 American Joint Committee on cancer primary tumor classification for renal cell carcinoma using a large, single institution cohort. *J Urol*, 173(6): 1889-92, 2005
 147. B. Ljungberg, D.C. Hanbury, M.A. Kuczyk, A.S. Merseburger, P.F.A. Mulders, J-J. Patard, I.C. Sinescu: EAU Guidelines on Renal Cell Carcinoma, 2010
 148. Terrone C, Guercio S, De Luca S, Poggio M, Castelli E, Scoffone C, Tarabuzzi R, Scarpa RM, Fontana D, Rocca Rossetti S: The number of lymph nodes examined and staging accuracy in renal cell carcinoma. *BJU Int*, 91(1): 37-40, 2003
 149. Blute ML, Leibovich BC, Cheville JC, Lohse CM, Zincke H: A protocol for performing extended lymph node dissection using primary tumor pathological features for patients treated with radical nephrectomy for clear cell renal cell carcinoma. *J Urol*, 172(2): 465-9, 2004

150. Fergany AF, Hafez KS, Novick AC: Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. *J Urol*, 163(2): 442-5, 2000
151. Uzzo RG, Novick AC: Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. *J Urol*, 166(1): 6-18, 2001
152. Berger A, Brandina R, Atalla MA, Herati AS, Kamoi K, Aron M, Haber GP, Stein RJ, Desai MM, Kavoussi LR, Gill IS: Laparoscopic radical nephrectomy for renal cell carcinoma: oncological outcomes at 10 years or more. *J Urol*, 182(5): 2172-6, 2009
153. Desai MM, Strzempkowski B, Matin SF, Steinberg AP, Ng C, Meraney AM, Kaouk JH, Gill IS: Prospective randomized comparison of transperitoneal versus retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy. *J Urol*, 173(1): 38-41, 2005
154. Link RE, Bhayani SB, Allaf ME, Varkarakis I, Inagaki T, Rogers C, Su LM, Jarrett TW, Kavoussi LR: Exploring the learning curve, pathological outcomes and perioperative morbidity of laparoscopic partial nephrectomy performed for renal mass. *J Urol*, 173(5): 1690-4, 2005
155. Moinzadeh A, Gill IS, Finelli A, Kaouk J, Desai M: Laparoscopic partial nephrectomy: 3-year followup. *J Urol* 175(2): 459-62, 2006
156. Rassweiler J, Tsivian A, Kumar AV, Lymberakis C, Schulze M, Seeman O, Frede T: Oncological safety of laparoscopic surgery for urological malignancy: experience with more than 1,000 operations. *J Urol*, 169(6): 2072-5, 2003
157. Wille AH, Tüllmann M, Roigas J, Loening SA, Deger S: Laparoscopic partial nephrectomy in renal cell cancer--results and reproducibility by different surgeons in a high volume laparoscopic center. *Eur Urol*, 49(2): 337-42, 2006
158. Campbell SC, Novick AC, Belldegrun A, Blute ML, Chow GK, Derweesh IH, Faraday MM, Kaouk JH, Leveillee RJ, Matin SF, Russo P, Uzzo RG; Practice Guidelines Committee of the American Urological Association: Guideline for management of the clinical T1 renal mass. *J Urol*, 182(4): 1271-9, 2009
159. Matin SF, Ahrar K, Wood CG, Daniels M, Jonasch E: Patterns of intervention for renal lesions in von Hippel-Lindau disease. *BJU Int*, 102(8): 940-5, 2008

160. Nguyen CT, Lane BR, Kaouk JH, Hegarty N, Gill IS, Novick AC, Campbell SC: Surgical salvage of renal cell carcinoma recurrence after thermal ablative therapy. *J Urol*, 180(1): 104-9, 2008
161. Marshall FF, Dietrick DD, Baumgartner WA, Reitz BA: Surgical management of renal cell carcinoma with intracaval neoplastic extension above the hepatic veins. *J Urol*, 139(6): 1166-72, 1988
162. Wagner B, Patard JJ, Méjean A, Bensalah K, Verhoest G, Zigeuner R, Ficarra V, Tostain J, Mulders P, Chautard D, Descotes JL, de la Taille A, Salomon L, Prayer-Galetti T, Cindolo L, Valéri A, Meyer N, Jacqmin D, Lang H: Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 55(2): 452-9, 2009
163. Dimarco DS, Lohse CM, Zincke H, Cheville JC, Blute ML: Long-term survival of patients with unilateral sporadic multifocal renal cell carcinoma according to histologic subtype compared with patients with solitary tumors after radical nephrectomy. *Urology*, 64(3): 462-7, 2004
164. Stephenson AJ, Chetner MP, Rourke K, Gleave ME, Signaevsky M, Palmer B, Kuan J, Brock GB, Tanguay S: Guidelines for the surveillance of localized renal cell carcinoma based on the patterns of relapse after nephrectomy. *J Urol*, 172(1): 58-62, 2004
165. Freed SZ, Halperin JP, Gordon M. Idiopathic regression of metastases from renal cell carcinoma. *J Urol*, 118(4), 538-42, 1977
166. Walther MM, Lyne JC, Libutti SK, Linehan WM: Laparoscopic cytoreductive nephrectomy as preparation for administration of systemic interleukin-2 in the treatment of metastatic renal cell carcinoma: a pilot study. *Urology*, 53(3): 496-501, 1999
167. Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, Van Poppel H, Crawford ED: Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. *J Urol*, 171(3): 1071-6, 2004
168. Andrews DW, Scott CB, Sperduto PW, Flanders AE, Gaspar LE, Schell MC, Werner-Wasik M, Demas W, Ryu J, Bahary JP, Souhami L, Rotman M, Mehta MP, Curran WJ Jr: Whole brain radiation therapy with or without stereotactic

- radiosurgery boost for patients with one to three brain metastases: phase III results of the RTOG 9508 randomised trial. *Lancet*, 363(9422): 1665-72, 2004
169. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M: Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 20(1): 289-96, 2002
 170. Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T: Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 25(1): CD001425, 2005
 171. Negrier S, Escudier B, Lasset C, Douillard JY, Savary J, Chevreau C, Ravaud A, Mercatello A, Peny J, Mousseau M, Philip T, Tursz T: Recombinant human interleukin-2, recombinant human interferon alfa-2a, or both in metastatic renal-cell carcinoma. Groupe Français d'Immunothérapie. *N Eng J Med*, 338(18): 1272-9, 1998
 172. Stadler WM, Huo D, George C, Yang X, Ryan CW, Karrison T, Zimmerman TM, Vogelzang NJ: Prognostic factors for survival with gemcitabine plus 5-fluorouracil based regimens for metastatic renal cancer. *J Urol*, 170(4 Pt 1): 1141-5, 2003
 173. Murakami Y, Kanda K, Tsuji M, Kanayama H, Kagawa S: MN/CA9 gene expression as a potential biomarker in renal cell carcinoma. *BJU Int*, 83(7): 742-7, 1999
 174. Atkins M, Regan M, McDermott D, Mier J, Stanbridge E, Youmans A, Febbo P, Upton M, Lechpammer M, Signoretti S: Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res*, 11(10): 3714-21, 2005
 175. Leppert JT, Lam JS, Pantuck AJ, Figlin RA, Belldegrun AS: Carbonic anhydrase IX and the future of molecular markers in renal cell carcinoma. *BJU Int*, 96(3): 281-5, 2005
 176. Bui MH, Seligson D, Han KR, Pantuck AJ, Dorey FJ, Huang Y, Horvath S, Leibovich BC, Chopra S, Liao SY, Stanbridge E, Lerman MI, Palotie A, Figlin RA, Belldegrun AS: Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res*, 9(2): 802-11, 2003

177. Bui MH, Visapaa H, Seligson D, Kim H, Han KR, Huang Y, Horvath S, Stanbridge EJ, Palotie A, Figlin RA, Belldegrun AS: Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol*, 171(6 Pt 1): 2461-6, 2004
178. Patel PH, Chadalavada RS, Chaganti RS, Motzer RJ: Targeting von Hippel-Lindau pathway in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 12(24): 7215-20, 2006
179. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Steinberg SM, Chen HX, Rosenberg SA: A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Eng J Med*, 349(5): 427-34, 2003
180. Patard JJ, Rioux-Leclercq N, Fergelot P: Understanding the importance of smart drugs in renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 49(4): 633-43, 2006
181. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM; TARGET Study Group: Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Eng J Med*, 356(2): 125-34, 2007
182. Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG, Hudes GR, Wilding G, Figlin RA, Ginsberg MS, Kim ST, Baum CM, DePrimo SE, Li JZ, Bello CL, Theuer CP, George DJ, Rini BI: Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 24(1): 16-24, 2006
183. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum CM, Figlin RA: Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Eng J Med*. 356(2): 115-24, 2007
184. Hudes Gi Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin Ri, Kapoor A, et al: A Phase 3, randomized 3-arm study of temsirolimus (TEMSR) or interferon-alpha (IFN) or the combination of TEMSR + IFN in the treatment of first-line, poor-risk patients with advanced renal cell carcinoma. 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings. *J Clin Oncol*, 24(186): LBA4, 2006

185. Gnarr JR, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Gen*;7: 85–90. 1994
186. Shuin T, et al. Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas. *Cancer Res*;54: 2852–5. 1994
187. Foster K, et al. Somatic mutations of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma. *Hum Mol Genet*;3: 2169– 73. 1994
188. Brauch H, et al. VHL alterations in human clear cell renal cell carcinoma: Association with advanced tumor stage and a novel hot spot mutation. *Cancer Res*;60: 1942–8. 2000
189. Hamano K, et al. Biallelic inactivation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in sporadic renal cell carcinoma. *J Urol*;167:713–7. 2002
190. Schraml P, et al. VHL mutations and their correlation with tumor cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol*; 196:186–93. 2002
191. Giménez-Bachs JM, Salinas-Sánchez AS, Sánchez-Sánchez F, Lorenzo-Romero JG, Donate-Moreno MJ, Pastor-Navarro H, García-Olmo DC, Escribano-Martínez J, Virseda-Rodríguez JA. Determination of vhl gene mutations in sporadic renal cell carcinoma. *Eur Urol* ;49(6):1051-7. 2006
192. Tsutsumi H, Miyamoto C, Furuichi Y, Yoshiike M, Nozawa S, Iwamoto T. VHL tumor suppressor gene: its mutation and protein level in renal cell carcinoma. *Oncol Rep*; 10:1357–61. 2003
193. Martí'nez A, et al. Role of chromosome 3p12–p21 tumour suppressor genes in clear cell renal cell carcinoma: analysis of VHL dependent and VHL independent pathways of tumorigenesis. *J Clin PatholMol Pathol*;53:137–44. 2000
194. Barnabas N, Amin MB, Pindolia K, Nanavati R, Amin MB, Worsham MJ. Mutations in the von Hippel-Lindau (VHL) gene refine differential diagnostic criteria in renal cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2002;80:52–60.