



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1 (PAI-1) VE mikroRNA 143/145'
İN RENAL HÜCRELİ KANSER (RHK) PATOLOJİSİNDE VE KLİNİK
EVRELEMESİNDEKİ ÖNEMİ**

Dr. MUHAMMED SULUKAYA
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2016



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1 (PAI-1) VE mikroRNA 143/145'
İN RENAL HÜCRELİ KANSER (RHK) PATOLOJİSİNDE VE KLİNİK
EVRELEMESİNDEKİ ÖNEMİ**

Dr. MUHAMMED SULUKAYA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Yard. Doç. Dr. YİLÖREN TANIDIR

İSTANBUL 2016

İÇİNDEKİLER

<u>Konu Başlığı</u>	<u>Sayfa</u>
Önsöz	i
Beyan	ii
Özet	iii
İngilizce Özet	vi
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ix
1. Giriş	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1 Renal Hücreli Kanserin Epidemiyolojisi	3
2.2 Renal Hücreli Kanseri Etiyolojisi	4
2.3 Renal Hücreli Kanseri Patolojisi	5
2.3.1 Konvansiyonel (Berrak hücreli) RHK	7
2.3.2 Papiller tip RHK	7
2.3.3 Kromofob tip RHK	7
2.3.4 Toplayıcı kanal (Bellini collecting duct) karsinomu	8
2.3.5 Renal Medüller Karsinom	8
2.4 Renal Hücreli Kanserin Sınıflandırılması	9
2.5 Renal Hücreli Kanseri'de Prognostik Faktörler	10
2.5.1 Anatomik Faktörler	10
2.5.2 Histolojik Faktörler	12
2.5.3 Klinik Faktörler	12
2.5.4 Moleküler Faktörler	12
2.5.5 Normogramlar ve prognostik sistemler	13
2.6 Çalışmanın Hedefi Olan Renal Hücreli Kanseri İle Prognostik İlişkisi Araştırılan Belirleyiciler	13
2.6.1 MikroRNA	13
2.6.1.1 MikroRNA yapısı ve biyogenezi	13
2.6.1.2 Onkogenik ve Tümör Baskılayıcı özellikleri olan mikroRNA çeşitleri	15
2.6.2 Plazminojen aktivatör inhibitörü-1	15
2.6.2.1 Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 üretimi ve sekresyonu	17
2.6.2.2 Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 fizikokimyasal özellikleri	18
2.6.2.3 Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 mekanizması	18
2.7 Renal Hücreli Kanseri Tedavisi	19
3. Gereç ve Yöntem	20
3.1 Parafin Doku ve Taze Doku Kesitlerinden RNA Eldesi	21
3.2 miRNA Ekspresyonu için cDNA Sentezlenmesi	21
3.3 hsa-miR-143-3p, hsa-miR-145-5p ve U6 snRNA Ekspresyonunun Eş Zamanlı Kantitatif PZR ile	21

	İncelenmesi	
3.4	mRNA Ekspresyonu için cDNA Sentezlenmesi	21
3.5	PAI1/SERPINE mRNA ve GAPDH mRNA Ekspresyonunun Eş Zamanlı Kantitatif PZR ile İncelenmesi	22
3.6	İstatistiksel Yöntemler	23
4.	Bulgular	25
5.	Tartışma	34
6.	Sonuç	
7.	Kaynaklar	39
8.	Ekler	
8.1	Ek1: Etik Kurul Onayı	x
8.2	Ek2: Özgeçmiş	xi



ÖNSÖZ

Tecrübeleri ile bizlere ışık tutan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ferruh Şimşek'e ve her biri çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. N. Levent Türkeri, Prof. Dr. Tufan Tarcan, Prof. Dr. Cem Akbal, Prof. Dr. H. Kamil Çam, Prof. Dr. A. Rahmi Onur, Doç. Dr. Cevdet Kaya, Uzm. Dr. Çağrı Akın Şekerci'ye,

Tezimi oluştururken danışmanlık yapan yardımlarını hiç eksik etmeyen azmi ile örnek aldığım değerli danışman hocam Yard. Doç. Dr. Yılören Tanıdır'a ve Yard. Doç. Dr. İlker Tinay'a,

Zorlu asistanlık sürecinde beraber koşturduğum, isimlerini kalbime yazdığım değerli arkadaşlarıma,

Tez çalışmamın bulgularının laboratuvar analizi ve değerlendirilmesi için büyük emek veren ve beraber çalışmaktan büyük onur duyduğum Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'ndan Yard. Doç. Dr. Can Erzik ve Dr. İrem Peker'e,

Ve de en zor zamanlarımda her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Muhammed Sulukaya

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dr. Muhammed Sulukaya

Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) ve mikroRNA 143/145' in Renal Hücreli Kanseri (RHK) Patolojisinde ve Klinik Evrelemesindeki Önemi

Öğrencinin Adı: Dr. Muhammed Sulukaya
Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Yılören Tanıdır
Anabilim Dalı: Üroloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç:

Güncel literatürde Ürokinaz Plazminojen Aktivasyon Sisteminin (UPAS) bir üyesi olan PAI-1'in (Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1) RHK(renal hücreli kanser) patogenezi ile ilişkisi araştırılmış ve tanı aldıktan sonra prognozun belirlenmesi, progresyon, erken relaps, metastaz varlığı ve sağkalım üzerine PAI-1'in etkili olduğu gösterilmiştir. RHK patolojik alt grupları ile PAI-1 ilişkisini değerlendiren henüz bir çalışma olmayıp yapılan araştırmalar daha çok RHK'nın berrak hücreli alt tipi ile ilgilidir. Yine onkogen olarak kabul edilen PAI-1 ile mikroRNA 143/145 ilişkisi mesane kanserinde literatürde bir araştırmada ortaya konulmuş olup mesane kanserinin tüm evrelerinde mikroRNA 143/145 kümelerinin baskılandığı ve buna karşın PAI-1 ekspresyonunun arttığı izlenmiş olup, yüksek PAI-1 ekspresyonu ile düşük mikroRNA 143/145 seviyelerinin kasa invaze olmayan mesane kanserinde düşük prognoz ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu konuda RHK ile ilgili yapılmış çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada RHK hastalarından elde edilen dokularda, PAI-1 ile mikroRNA-143/145 düzeylerini belirleyerek ve bu sonuçların RHK patolojik alt grupları, hastalığın evresi ve derecesi ve hastalığa özgü ve genel sağkalım verileri ile ilişkisinin araştırılması hedeflendi.

Gereç ve Yöntem:

Kasım 2013 - Nisan 2016 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'nde böbrek kitlesi nedeniyle opere edilen ve kitlelerinden alınan örnekleri saklanan 104 hasta çalışmaya

alındı. Hasta Bilgi Yönetim Sistemi kayıtları taranarak hastaların yaş, cinsiyet, taraf, patolojik tümör boyutu, patolojik değerlendirmede elde edilen hücre tipi, Fuhrman derecesi, evresi, cerrahi sınır pozitifliği, sağ kalım süresi, varsa ölüm nedeni ve takip süreleri bilgileri çıkarıldı. Dondurularak ve parafine gömülerek saklanmış tümör dokularından ve sağlıklı böbrek dokularından ribonükleik asit (RNA) izolasyonu yapıldı, izole edilen RNA örnekleri -80 derece sıcaklıkta saklandı. Gen ekspresyon düzeyinin deneysel olarak belirleneceği gün RNA örneklerinden ters transkripsiyon reaksiyonu ile komplementer DNA (cDNA) sentezlendi. Sentezleme işleminin hemen ardından cDNA örnekleri içinde ekspresyon düzeyleri incelenecek PAI-1, mikroRNA 143 ve mikroRNA145'in cDNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Tümör dokularındaki ve sağlıklı böbrek dokularındaki reaksiyon sonuçları oranlanarak karşılaştırıldı. Her iki dokudaki olası farklılıklar ve benzerlikler tespit edildi. Elde edilen veriler istatistiksel anlamlılık açısından yorumlandı.

Bulgular:

Çalışmaya dahil edilen toplam 37 hastanın verileri incelendi. Elde edilen veriler değerlendirilirken değişici epitel hücreli kanser patolojisi saptanan hasta çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalar arasında kadın/erkek oranı benign olanlar için 3/2, RHK olanlar için 8/23 olarak tespit edildi ($p = 0,154$). Benign patolojisi olan hastalar ile RHK patolojisi olan hastalar arasında PAI-1 ($p = 0,681$), mikroRNA-143 ($p = 0,255$) ve mikroRNA-145 ($p = 0,707$) düzeyleri arasında T testi kullanılarak yapılan analizlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya konulamadı. Araştırmamıza alınan berrak hücreli RHK'lı hastalar ile papiller tip RHK'lı hastalar için PAI-1, mikroRNA-143 ve mikroRNA-145 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p değerleri sırasıyla 0,626; 0,906; 0,133 olarak saptandı). Benzer şekilde Fuhrman Derecesi 2 ile 3 birbiri ile, tümör evreleri (1-3) ve metastaz varlığı çalışılan biyobelirteçler açısından kıyaslandığında sadece Evre 1-2 arasında mikroRNA-145 açısından istatistiksel anlamlı bir fark gösterilebildi ($p = 0,044$). Bununla birlikte aynı hastanın sağlıklı dokusu

ve tümör dokusundaki ekspresyon düzeyleri değerlendirildiğinde mikroRNA-145 için istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tümör dokusunda daha az eksprese olduğu görüldü ($p = 0,024$).

Sonuç:

Renal hücreli kanser ile PAI-1, mikroRNA 143- 145 gibi üç biyobelirtecini ilişkisini ve prognoztik önemi araştıran çalışmamız konu ile ilgili kısıtlı sayıdaki araştırmalardan biridir. Bu pilot çalışma üç biyobelirteç ile RHK arasındaki ilişki net olarak ortaya konamadı. Mevcut çalışma uzun takip süresi olan, progresyonun ve hastalığa bağlı mortalitenin de olduğu daha geniş bir RHK hasta kohortu ile prospektif olarak değerlendirilmesinin gerekliliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: RHK, PAI-1, mikroRNA-143, mikroRNA-145

The Significance of the Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) and microRNA 143/145 at the Pathology and the Clinical Stage of RCC

Student's Name: Dr. Muhammed Sulukaya

Supervisor: Assistant Professor Dr. Yilören Tanıdır

Department: Urology

ABSTRACT:

Aim :

The relationship between PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1), which is a member of UPAS (urokinase plasminogen activation system) and the pathogenesis of RCC (renal cell carcinoma) has been researched extensively and that PAI-1 is effective in determining prognosis after diagnosis, survival time, and probability of metastasis or early relapse has been demonstrated. While most studies have focused on the clear cell subtype of RCC, the relationship between the pathological subtypes of RCC and PAI-1 has not been researched. That PAI-1 is related to microRNA-143/145, which similarly is an oncogene, was illustrated in a study regarding bladder cancer. According to the findings of this study, while microRNA-143/145 sets are suppressed, PAI-1 expression is increased at all stages of bladder cancer and elevated PAI-1 expression in combination with low microRNA-143/145 levels correlates with poor prognosis in non-muscle invasive bladder cancer. Presently, there is no study with regard to the relationship between PAI-1 and microRNA-143/145 levels and RCC. The aim of this study is to determine PAI-1 and microRNA-143/145 levels in tissue samples derived from RCC patients and to investigate their relationship with pathological subtypes of RCC, disease stage and grade, and overall survival.

Materials and Methods:

One hundred four patients that were operated on for renal masses at the Marmara University, Pendik Training and Research Hospital between November 2013 – April 2016 and from which tumor specimens were collected were included in the current study. The hospital's Patient

Information Management System records were later screened and the patients' age, gender, laterality, pathological tumor size, cell type obtained from pathologic evaluation, Fuhrman grade, disease stage, surgical border positivity, survival time, cause of death and follow-up time information were noted. Ribonucleic acid (RNA) isolation was performed from frozen and paraffin embedded tumor tissues and healthy kidney tissues and isolated RNA samples were stored at -80 degrees. On the day when gene expression level was experimentally determined, complementary DNA (cDNA) was synthesized by reverse transcription reaction in RNA samples. The cDNA sequences of PAI-1, microRNA 143 and microRNA 145 were amplified by polymerase chain reaction to examine the expression levels in the cDNA samples immediately after the expression process. Reaction results in tumor tissues and healthy kidney tissues were compared proportionally. Possible differences and similarities in both tissues were determined. The obtained data were interpreted in terms of statistical significance.

Results:

A total of 37 patients included in the study were examined. When the obtained data were evaluated, the patient who was diagnosed with transitional epithelial carcinoma was excluded from the study. Among the patients included in the study, the ratio of female to male was 3/2 for patients with benign pathology and 8/23 for patients with RCC ($p = 0,154$). There was no statistically significant relationship between PAI-1($p= 0,681$), microRNA-143 ($p=0,255$) and microRNA-145 ($p=0,707$) levels in patients with benign pathology and patients with RCC according to the T-test. There was no statistically significant difference between PAI-1, microRNA-143 and microRNA-145 expression levels for patients with clear cell RCC and papillary type RCC (p values are 0,626; 0,906; 0,133). Similarly, when compared with Fuhrman's Grades 2 and 3, tumor stages (1-3) and presence of metastasis in terms of biomarkers studied, only a statistically significant difference between Stage 1 and 2 could be shown in the microRNA-145 ($p=0,044$). However, when the expression levels of the healthy tissue and

tumor tissue of the same patient were evaluated, it was seen that the microRNA-145 was less exaggerated in the tumor area in a statistically significant manner ($p = 0,024$).

Conclusions:

Our study is one of a limited number of studies investigating the prognostic value of PAI-1, microRNA 143 and 145 at RCC and association of renal cell carcinoma with these biomarkers. This pilot study did not clarify the relationship between three biomarkers and RHK. This study demonstrated the need for a prospective evaluation of a larger RCC patient cohort, which includes prolonged follow-up, disease progression and disease-related mortality.

Key words: RCC, PAI-1, mikroRNA-143, mikroRNA-145

SİMGELER VE KISALTMALAR

RHK: Renal Hücreli Kanser

PAI-1: Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1

UPAS: Ürokinaz Plazminojen Aktivasyon Sistemi

RNA : Ribonükleik Asit

cDNA : Komplementer DNA

uPA: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü

tPA: Doku Plazminojen Aktivatörü

uPA-R: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü Reseptörü

TİM: Tümör İlişkili Makrofaj

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

USG : Ultrasonografi

MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme

BT : Bilgisayarlı Tomografi

VHL: Von Hippel- Lindau

VKİ : Vena Kava İnfior

RISC : RNA-uyartılı susturma kompleksi

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

1. GİRİŞ

Renal Hücreli Kanser (RHK), yetişkin kanserlerinin % 2'sini oluşturmakta ve malign renal tümörlerin yaklaşık % 80-85'inden sorumlu tutulmaktadır [1, 2]. Erkeklerde kadınlardan (2/1) daha sık olmakta birlikte, en sık 5. ve 7. dekatlar arasında görülmektedir [1].

Etyolojide değişik faktörler rol almakla birlikte kesin bir neden henüz gösterilememiştir. Tütün ürünlerinin tüketimi, obezite, mesleki faktörler (asbest, kadmiyum, petrol ürünleri) ve son dönem böbrek yetmezliği, hastalığın gelişmesindeki etken faktörler olarak bildirilmektedir [3-7].

Ürokinaz Plazminojen Aktivasyon Sisteminin (UPAS) kanser oluşumunun fizyolojik ve patolojik yollarında anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir [8-11]. Bu sistem ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA), uPA reseptörü (uPA-R) ve PAI-1(plazminojen aktivator inhibitör-1) içermekte olup kanser progresyonunun birçok aşamasını (anjyogenez, hücre büyümesi, hücre adhezyonu ve migrasyonu, kemotaksis) tetikleyen hücre içi sinyal yollarını etkiler [11-13]. UPAS üyelerinin yüksek oranda ekspresyonunun klinik ve patolojik parametreler ile ilişkili olduğu ve mide, kolon, rektum, özefagus, endometriyum, ovaryum kanseri gibi bazı kanser tiplerinde hastalık prognozunu etkilediği görülmüştür [14-16].

UPAS'ın RHK patogenezi ile ilişkisi araştırılmış ve RHK öntanısı nedeniyle radikal rezeksiyon uygulanmış hastaların operasyon öncesi plazmalarında PAI-1 seviyesi yüksek tespit edilmiştir. Bu hastalarda PAI-1 ile metastaz ilişkisi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [17]. Yine RHK öntanısı nedeni ile transperitoneal nefrektomi yapılan hastalarda u-PA, u-PA-R ve PAI-1 erken nüks için güçlü ve bağımsız prognostik faktörler olarak gösterilmiştir [18, 19]. Başka bir çalışmada bu sistem üyelerinden PAI-1'in RHK 'li olgularda TİM (Tümör İlişkili Makrofaj) yoluyla tümör progresyonunda ve sağkalım üzerinde önemli bir düzenleyici rolü bulunduğu sonucu çıkmıştır [20]. Bu sebeple bir onkojen olarak kabul edilen bu sistem üyelerinin regülasyonu gelecekte kansere tanısal ve terapötik yaklaşımlar açısından büyük önem arz etmektedir.

MikroRNA'lar gen ekspresyonunu, mRNA stabilitesi ve translasyonu düzeyinde regüle eden ve kodlama işlevi olmayan, 19-22 baz uzunluğunda küçük RNA molekülleridir [21]. Yapılan çalışmalar sonucunda günümüzde toplam 2578 olgun mikroRNA tespit edilmiştir ve insan genomunda protein kodlayan genlerin % 60'ından fazlasını regüle ettikleri tahmin edilmektedir [22]. Bazı mikroRNA'ların yüksek düzeyde ekspresyonunun tümör baskılayıcı genleri bastırarak onkojen etki gösterdikleri, buna karşın düşük düzeyde eksprese olan bazı mikroRNA'ların ise tümör baskılayıcı etki göstererek onkojenlerin negatif regülasyonlarını sağladıkları bildirilmiştir [23]. Kansere hücrelerinde tümör baskılayıcı veya onkojenik mikroRNA'ların anormal düzeylerde ekspresyonunun hücre içindeki normal düzenleyici mekanizmaları bozduğuna inanılmaktadır. Birçok insan kanser hücresinde en sık baskılanan mikroRNA tiplerinin mikroRNA 143 ve 145 olduğu bildirilmiştir [24, 25]. Hem mikroRNA-143 hem de mikroRNA-145'in kromozom 5q32 üzerinde ve birbirine yakın lokalizasyonlarda oldukları ve küme oluşturdıkları bilinmektedir [26]. Yapılan araştırmalar, küme oluşturan bu mikroRNA'ların farklı birçok onkojeni hedef alan tümör baskılayıcılar olarak fonksiyon gösterdiklerini öne sürmektedir [24, 25].

Onkojen olarak kabul edilen PAI-1 ile mikroRNA 143/145 ilişkisi mesane kanserinde literatürde bir araştırmada ortaya konulmuş olup mesane kanserinin tüm evrelerinde mikroRNA 143/145 kümelerinin baskılandığı ve buna karşın PAI-1 ekspresyonunun arttığı izlenmiştir. Ayrıca aynı araştırma yüksek düzeyde PAI-1 ekspresyonu ile düşük mikroRNA 143/145 seviyelerinin kasa invaze olmayan mesane kanserinde düşük prognoz ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur [25].

Bu çalışmanın amacı RHK hastalarından elde edilen dokularda, PAI-1 ile mikroRNA 143/145 düzeylerini belirleyerek ve bu sonuçların RHK patolojik alt grupları, hastalığın evresi ve derecesi ve hastalığa özgü ve genel sağkalım verileri ile ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Renal hücreli kanser (RHK), böbreğin tübüler epiteli kaynaklı malignitelerini içerir [16, 17]. 2004 yılında Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ)'nün yaptığı çalışmalarla RHK sınıflaması **Tablo 1**'deki halini almıştır [27].

Malign
1.Berrak hücreli tipte RHK
2.Multiloküler berrak hücreli karsinom
3.Papiller tipte RHK(Tip 1 ve Tip 2)
4.Kromofob tipte RHK
5.Bellini'nin toplayıcı kanal karsinomu
6.Renal medüller karsinom
7.Xp11 translokasyon karsinomu
8.Nöroblastom ile ilişkili karsinom
9.İgci hücreli ve müsinöz tübüler karsinom
10.Sınıflandırılmayan RHK
Benign
1.Papiller adenom
2.Onkositom

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre böbreğin epitelyal tümörlerinin sınıflandırılması

2.1. Renal Hücreli Kanser Epidemiyolojisi

Renal Hücreli Karsinom, erişkin kanserlerinin % 2'sini oluşturmakta ve malign renal tümörlerin yaklaşık % 80-85'inden sorumlu tutulmaktadır [1, 2]. Erkeklerde kadınlardan (2/1) daha sık olmakta birlikte, en sık 5. ve 7. dekatlar arasında görülmektedir [2]. Amerika'da yapılan istatistiklere göre senede 30.000 vaka yeni tanı almaktadır ve tanı alanların 12.000'i hastalıktan dolayı kaybedilmektedir. . Türkiye'de yapılmış en geniş epidemiyolojik araştırma 1993-1994 senelerinde İzmir'de yapılmıştır. Bu çalışma RHK için senelik kanser hızını erkeklerde 2,6 kadınlarda 1,3; erkek/kadın oranını ise 2 olarak

göstermiştir [28]. Avrupa genelinde RHK için senelik kanser hızı erkeklerde 13,8 kadınlarda 6,3 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca her sene 20.000 yeni vakanın RHK tanısı aldığı epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. RHK insidansı gerek Avrupa çapında gerekse dünya çapında senelik %2 artma gösterse de bu tüm Avrupa ülkeleri için doğru değildir. İsveç’de ve Danimarka’da RHK insidansı son 20 yıldır azalma göstermektedir [29]. Bu maligniteye tüm etnik gruplarda ve coğrafik bölgelerde rastlanabileceği insanların etnik kökenlerinden bağımsız olduğu gösterilmiştir [30]. Çocuk yaş grubunda da görülebilen RHK yetişkindekilere benzer davranış göstermektedir [30-33]. Çocuklarda en sık 8-9 yaşlarında gözlenir ve cinsiyet yatkınlığı yoktur. Çocuk yaş grubu böbrek tümörleri arasında RHK çok yüksek bir insidansa sahip değildir (%2,3-6,6) [34-37].

Hastaların RHK tanısı aldığında $\frac{1}{3}$ ’ünde metaztazının olduğu, tedavi sonrası takip sırasında da lokalize hastalığı olanların $\frac{1}{2}$ ’sinde metastaz geliştiği gösterilmiştir. Metastazlı hastalarda ortalama sağkalım süresi bir yıldır ve beş yıllık sağkalım oranı ise %20’den daha azdır [38]. Tanı sırasında uzak metastazı olan vakaların prognozları çoğunlukla kötüdür. RHK’lı hastalarda en sık metastaz yerleri sırasıyla akciğer (%50-60), karaciğer (%30-40), kemik (%30-40) ve beyindir (%5) [39]. Ultrasonografi(USG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi görüntüleme metotlarının sık kullanımına paralel olarak rastlantısal böbrek tümör tanısı da artmaktadır. Ancak rastlantısal RHK tanısı alan hastaların çoğu küçük boyutlu ve düşük evreli tümörlere sahiptir. Tanısı rastlantısal konulan vakaların oranındaki artma, mortalite oranlarını etkilememiştir ve bu mortalite oranları insidansa paralel seyretmiştir [40-42].

2.2. Renal Hücreli Kanser Etiyolojisi

RHK oluşumunda birçok potansiyel risk faktörü suçlanmaktadır (**Tablo 2**) [43, 44]. Hastalığın moleküler temelleri üzerinde yapılan çalışmalar malign tümörün sporadik ve ailesel şekilleri ile ilişkili yeni supresor genler ve onkojenler tanımlanmasını ve yeni ailesel sendromlar bulunmasını

sağlamıştır [45]. RHK'da 3. kromozomun kısa kolunda DNA hasarı tespit edilmiş olması ve Von Hippel- Lindau (VHL) supresor geninin de burada lokalize olması nedeniyle etiyoloji ile medikal tedaviler açısından yeni ufuklar ortaya çıkmıştır [46]. Papiller tipte RHK kromozom 7 ve 17'de trizomi, kromozom 1, 16 ve seks kromozomlarından Y kromozomunda bozukluklarla ilişkili olarak bulunmuştur [47]. Bu genetik yatkınlıklar nedeniyle RHK etiolojinde moleküler değerlendirmeler gün geçtikçe önemini arttırmaktadır.

· Genetik faktörler
· Böbrek hastalıkları (böbreğin edinsel kistik hastalıkları ve hemodiyaliz hastaları)
· İlaçlar
· Hipertansiyon
· Radyasyon
· Mesleksel faktörler (petrol, demir, çelik, kadmiyum ve asbest maruziyeti)
· Beslenme (et ve etten zengin diyet)
· Obezite
· Organ nakilleri
· 20 paket/yıl üzerinde Sigara
· Sedanter Yaşam
· Üriner Sistem Enfeksiyonu

Tablo 2. RHK'da potansiyel riskler

2.3. Renal Hücreli Kanser Patolojisi

RHK'ların çoğu oval veya yuvarlak şekildedir. Fibröz dokudan ve sıkışmış parankimden oluşan psödokapsülle sarıdır. Sarkomatoid tip haricindekiler gros infiltratif patern göstermezler [48]. Çoğu patoloğa göre, epitel tümörlerinde onkositom haricinde benign-malign ayırımını yapacak güvenilebilecek histolojik veya ultrastrüktürel kriter bulunmamaktadır. Kalsifikasyon %10-20, kistik dejenerasyon ise %10-25 hastada görülmektedir [49]. Venöz tutulum RHK lı hastaların %10'unda izlenir bu hastalarda renal

ven ve VKİ trombüsü görülebilir [49, 50]. Bölgesel lenf nodüllerine lenfatik yolla yayılabilir. Başta akciğer olmak üzere, kemikler, karaciğer, adrenal ve diğer böbreğe hematojen yolla yayılabilir [50]. Çoğu sporadik RHK tek tarafta ve tek odaklıdır. Sporadik RHK'ların %2-4'ünde bilateral tutulum aynı zamanlı veya farklı vakitlerde meydana gelebilir. VHL ve diğer ailesel RHK'larda daha sık rastlanır. %10-20 vakada multisentrik yerleşim görülür. Ailesel kanserlerde ve papiller histolojide daha belirgindir [51, 52]. Bütün RHK'lar, böbreğin tubül epitel hücrelerinden köken almış adenokarsinomlardır. Berrak hücreli RHK'nın çoğunun proksimal tübül hücrelerinden, papiller ve kromofob tipte RHK'ların ise daha distal bölümlerden kaynak aldığı söylenmektedir [53]. Hücre çekirdeğinin şekli, büyüklüğü, belirgin çekirdekçik olup olmamasına bakılarak oluşturulmuş derecelendirme sistemlerinden en fazla bilinen ve tümör evresinden bağımsız bir şekilde prognozu belirleyecek değer taşıyan Fuhrman sınıflandırma sistemidir **(Tablo 3)** [54].

Derece	Çekirdek Boyutu	Çekirdek Sınırları	Çekirdekçik
1	10 mm	Düzgün, yuvarlak	Belirsiz veya yok
2	15 mm	Biraz Düzensiz	Bariz (x400 büyütme)
3	20 mm	Düzensiz	Belirgin
4	>20 mm	Çoğunlukla multilobüler	Yoğun kromatin yumaklar

Tablo 3. RHK'da fuhrman derecelendirme sistemi

2.3.1. Konvansiyonel (Berrak hücreli) RHK

Bütün böbrek tümörlerinin %60-70'ini oluşturan hipervasküler tümörlerdir [55]. Mikroskopik olarak granuler hücreler, berrak hücreler veya her ikisi birlikte mevcuttur. Berrak denilmesinin sebebi, histolojik hazırlık sırasında kullanılan çözücülerin, sitoplazmanın boşalmasına ve böylelikle hücrelerin şeffaf gözükmeye sebep olmasından dolayıdır. %50 olgu solid olup, olguların %75'inde hyalinizasyon veya fokal fibrozis mevcuttur. VHL gen mutasyonları %75 sporadik olguda rastlanır. Berrak hücreli RHK da beş senelik sağkalım oranı %55-60 civarındadır [56].

2.3.2. Papiller tip RHK

%10-15 oranla ikinci sıklıkla rastlanır. Edinsel renal kistik hastalıkta ve son dönem böbrek yetmezliğinde daha fazla görülen tiptir [53]. Papiller tip RHK'ya özgü sitogenetik özellikler 7. ve 17. kromozomlarda trizomiler ve Y kromozomunun kaybıdır. Yaklaşık %40'ı multisentriktir [51, 57]. VHL mutasyonlarının olmaması sebebiyle tümörler genelde hipovaskülerdir. Kendine özgü morfolojik görüntüsü; merkezi fibrovasküler kor ve neoplastik epitel hücreleri ile sarılı papiller frondlardır. Papiller tip RHK'lar çoğunlukla daha lokalize, daha sessiz ve iyi differansiyedirler, bu sebeple prognozları daha iyidir [58, 59]. Son dönemde yayınlanmış bir geniş seride pT1 papiller ve kromofob tip RHK'lar, berrak hücreli RHK'larla mukayese edilmiş sonuçta berrak hücreli RHK'lar diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı biçimde prognozu kötü bulunmuştur [60].

2.3.3. Kromofob tip RHK

Tüm RHK'ların %4-5 'ini temsil edip ilk kez 1985'te Thoenes tanımlamıştır [47]. Kortikal toplayıcı kanallardan köken alır [53]. Merkezi skar düşük evreli, büyük berrak hücreli RHK'larda ve onkositomda görüldüğü gibi rastlanabilir. Elektron mikroskopide karakteristik görüntü multiple 150-300 nm büyüklüğe sahip mukopolisakkarit ihtiva eden mikroveziküllerin görülmesidir. Kromofob tip RHK'nın klinik davranışı ile ilgili yeterince bilgi mevcut değildir. Hastalığın lokalize ve düşük evreli seyretmesi ile ilgili literatür bulunduğu gibi [61] yüksek dereceli ve metastatik seyir gösterdiğini bildiren literatür de mevcuttur [62]. 1983-1993 yılları arasında 166 hastalık bir seride, 49 aylık takip

neticesinde, yedi kromofob hücreli hastadan evre 4 hastalığı bulunan bir hasta haricinde hepsinin hastalıksız yaşadığı gösterilmiştir [63]. Bu sebeple genel düşünce berrak hücreli RHK'dan daha iyi prognoza sahip olduğu şeklindedir. Önemli ikinci özelliği ise morfolojik olarak benign bir tümör olarak bilinen onkositom ile karışabilmesidir.

2.3.4. Toplayıcı kanal (Bellini collecting duct) karsinomu

Renal medulladan köken alıp RHK'ların %1'inden azını oluşturan nadir bir tiptir. Çoğu hasta yüksek dereceli, tanı anında ileri evreli ve klasik tedavilere cevap alınamayan olgulardan oluşur [64]. Medüller karsinom ve toplayıcı kanal karsinomu, ikisi de nadir görülür ve fakat en kötü prognozlu tümörlerdendir [65, 66].

2.3.5. Renal medüller karsinom

Yeni tanımlanmış histolojik bir tiptir, otuzlu yaşlarda, Afrikan Amerikanlarda ve çoğunlukla orak hücreli (sickle cell) anemiyle birlikteliği gösterilmiştir. Kötü seyirli olup kaliks epitelinden köken alır. Tanıda çoğu hasta lokal ileri ya da metastatik hastalıkla başvurur ve kısa zaman içinde hastalığa yenik düşerler [67]. Tümör histolojik olarak ve davranış olarak toplayıcı kanal karsinomuna çok benzer. Sarkomatoid varyantlar tüm histolojik RHK tipleri için bildirilmiştir. Sarkomatoid özellik bir RHK tipi değildir, RHK tiplerinin daha az farklılaşan bölümlerini ifade eder. En çok berrak hücreli tipte ve vakaların %1-5 kadarında sarkomatoid diferansiyasyon görülmektedir [47]. Birçok RHK tipinde farkedilebilen nadir görülür, yüksek dereceli bir patolojidir ve çoğu hastanın yaklaşık yaşam beklentisi bir yıldır [68].

2.4. Renal Hücreli Kanserin Sınıflandırılması

Klinik ve bilimsel sebepli kullanım amacıyla genellikle 2002 TNM sınıflandırmasının kullanımı önerilmektedir (**Tablo 4**) [69]. Güncel TNM sınıflandırmasında değişiklik yapıp yapılmamasının gerekliliği ve bu sınıflandırmanın RHK hastalarında sağkalım öngörüsünde bulunmak amacıyla en uygun yöntem olup olmadığı henüz kanıtlanmamıştır. 2002 senesinde getirilen pT1 alt gruplamasını valide eden bazı yayınlar mevcuttur [70-72] bununla beraber pT3 tümörler için bazı iyileştirmelerin yapılması gerekmektedir. İlk olarak, yalnızca böbrek sinüsü yağlı dokusuna invazyonun böbrek çevresindeki yağlı dokuya invazyon ile aynı prognostik değerde olup olmadığı şimdilik ortaya konmuş değildir [73, 74]. İkinci olarak, birçok yayın böbrek üstü bezi invazyonunun oldukça kötü prognoza sahip bir grup olduğunu ortaya konmuş ve bunların T4 tümörler olarak kabul edilmesi önerilmiştir [75, 76]. Ayrıca venöz invazyon gösteren renal tümörlerin T3b ve T3c olarak sınıflandırmanın uygunluğu netleştirilememiştir. Renal vene invazyondan bağımsız olarak, vena kava invazyonunun prognostik önemini ortaya koyan ek araştırmalara gerek bulunmaktadır [77]. N1-N2 alt sınıflandırmasının da uygun olup olmadığı son zamanlarda sorgulanmıştır [78]. Günümüzde RHK'lı hastalarda yeterli M evrelendirmesinin yapılabilmesi amacıyla toraks ve batin BT kullanılması gerekli yöntemlerdir [79, 80].

T- Primer tümör	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör varlığına dair belirti mevcut değil
T1	Tümör en büyük çapı ≤ 7 cm, böbreğe sınırlı
T1a	Tümör en büyük çapı ≤ 4 cm, böbreğe sınırlı
T1b	Tümör en büyük çapı > 4 cm fakat ≤ 7 cm, böbreğe sınırlı
T2	Tümör en büyük çapı > 7 cm, böbreğe sınırlı
T3	Tümör büyük venler içerisine uzanmış ya da doğrudan böbrek üstü bez veya böbrek çevresi dokulara yayılmış fakat Gerato fasyası dışına çıkmamış
T3a	Tümör doğrudan böbrek üstü bez ya da böbrek çevresi dokulara yayılmış fakat Gerato fasyası dışına çıkmamış ^{&}

T3b	Tümör makroskopik olarak böbrek ven(ler)inin ya da segmental dalların ya da vena kavanın diyafragma altındaki bölümü içerisine uzanmış ⁺
T3c	Tümör makroskopik olarak vena kavanın diyafragma üzerindeki bölümünün içerisine ya da duvarına uzanmış
T4	Tümör doğrudan Gerato fasyası dışına yayılmış
N- Bölgesel lenf nodları	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok
N1	Tek bir bölgesel lenf nodunda metastaz mevcut
N2	Birden çok bölgesel lenf nodunda metastaz mevcut
M- Uzak metastaz	
Mx	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz mevcut
^{&} Renal sinüsü de içerir (peripelvik yağ) ⁺ Segmental (kas dokusu içeren) dalları da içerir Normal koşullarda perirenal lenf adenektomi örnekleme içerisinde 8 ve üzeri lenf nodu bulunması gerekmektedir. Ancak lenfadenektomide bu lenf nodu sayısına ulaşamamışsa dahi incelenen nodlar negatif ise örnek pN0 olarak sınıflandırılır.	

Tablo 4. 2002 TNM sınıflandırma sistemi

2.5. Renal Hücreli Kanser’de Prognostik faktörler

Prognozla ilişkili faktörler anatomik, histolojik, klinik ve moleküler faktörler olmak üzere gruplandırılabilir [81].

2.5.1. Anatomik faktörler

Tümör boyutu, venöz invazyon, böbrek kapsülüne invazyon, böbrek üstü bezi tutulumu ve lenf nodu metastazı ile uzak metastaz olarak sayılabilir. 2002 TNM sınıflandırma sistemi içerisinde bu faktörler gösterilmektedir (**Tablo 4-5**).

Evre gruplandırması	T Evresi	N Evresi	M Evresi
---------------------	----------	----------	----------

Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre III	T3	N0	M0
	T1-3	N1	M0
Evre IV	T4	N0-1	M0
	Herhangi bir T	N2	M0
	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

Tablo 5. TNM evre gruplandırması



2.5.2. Histolojik faktörler

Histolojik alt tip, Fuhrman derecesi, mikrovasküler invazyon, sarkomatoid özelliklerin olması, toplayıcı sisteme invazyon ve tümör nekrozu varlığından oluşmaktadır. Fuhrman nükleer derecesi RHK'da en fazla kullanılan histolojik derecelendirme sistemidir [54]. Bu derecelendirme sisteminde değerlendirirken gözlem subjektif olduğundan gözlemciden gözlemciye farklar bulunsa da bağımsız bir prognostik faktör olup yine de anlam taşır [82]. DSÖ sınıflandırmasına göre [27] histolojik olarak üç temel RHK alt tipi mevcuttur. Bunlar berrak hücreli (konvansiyonel (%80-90), papiller (%10-15) ve kromofob (%4-5) RHK alt tipleridir. Birçok araştırmada kromofob tipte en iyi, berrak hücreli (konvansiyonel) tipte ise en kötü prognozun olduğu kanıtlanmıştır [83, 84]. Şayet RHK alt tipleri tümör evresine göre sınıflandırıldığı taktirde prognostik önemi olmamaktadır [84]. Papiller tip RHK'da prognozları farklı iki alt grup bildirilmiştir [85]. Tip I kromofilik sitoplazmaya sahip düşük dereceli ve prognozu daha iyi tümörlerden meydana gelirken Tip II genellikle eozinofilik sitoplazmalı yüksek dereceli ve metastatik olma olasılığı daha yüksek tümörlerden meydana gelir. RHK alt tip gruplaması genetik ve sitogenetik analizlerle moleküler olarak da kanıtlanmıştır [86-88].

2.5.3. Klinik faktörler

Lokal semptomlar, kaşeksi, anemi ve trombosit sayısı ile hasta performans statüsünü kapsar [89-93].

2.5.4. Moleküler faktörler

Birçok moleküler faktör araştırılmaktadır. Bunlar arasında hipoksiyle indüklenebilen faktör (HIF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), p53, karbonik anhidraz IX (CaIX), Ki 67 (çoğalma), abd CD44 (hücre adhezyonu), PTEN (hücre döngüsü), E-kadherin sayılabilir [86, 88]. Şu ana kadar bu faktörler geniş kullanım alanı bulmamıştır. Berrak hücreli RHK'da klinik prognostik faktörlerden bağımsız bir şekilde sağkalım hakkında bilgi verebilecek 259 gen son zamanlarda gen ekspresyon profili ile ortaya konmuştur. Genetik bilgi bu bulgular ışığında prognoz tayininin daha doğru yapılmasında kullanılabilecektir [94].

2.5.5. Nomogramlar ve prognostik sistemler

Şimdilerde bağımsız prognostik faktörleri birlikte kullanan prognostik sistemler ve nomogramlar gündeme gelmiştir. Bu sistemler ile, TNM evresi veya Fuhrman nükleer derecesinin tek başına kullanımına göre sağkalım öngörüsünde daha doğru sonuçlar verildiği belirtilmektedir [95-98]. Günümüzde klinikte rutin kullanım için önerilmiş prognoza yönelik bilgi sağlayan bütünleştirilmiş sistem veya moleküler belirteç bulunmamaktadır.

2.6. Çalışmanın Hedefi Olan Renal Hücreli Kansere İle Prognoz İlişkisi Araştırılan Belirleyiciler

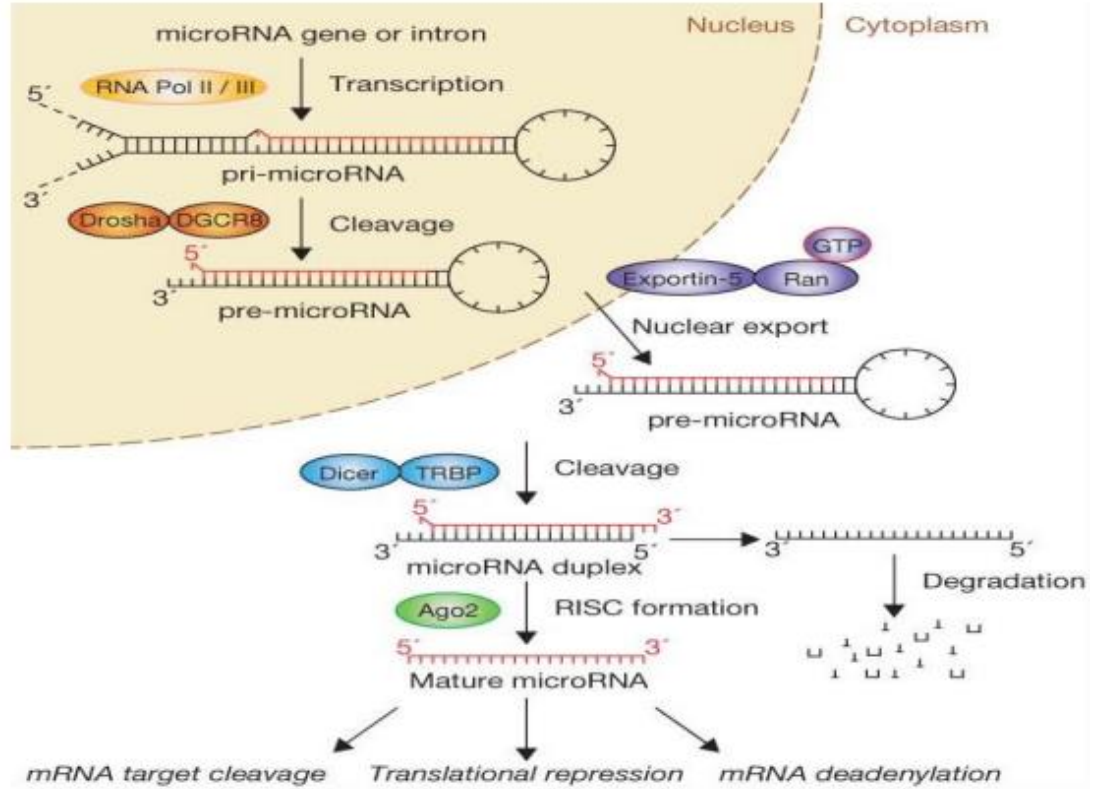
2.6.1. MikroRNA

İnsan genomunun yaklaşık olarak % 65'inin mRNA'ya çevrildiği ve bunun % 2'lik bölümünün proteine dönüştüğü ve transkribe olan RNA'ların da büyük bölümünün protein kodlamayan RNA molekülleri olduğu yapılan araştırmaların birçoğunda gösterilmiştir. Artık RNA'larla ilgili sahip olunan bilgi arttıkça mRNA, rRNA, tRNA moleküllerinin haricinde özellikle biyolojik süreçlerin birçoğunda etkili olduğu bilinen miRNA, piwiRNA ve siRNA gibi moleküllerin önemi artmaktadır [99, 100]. MiRNA'lar, Ambros ve arkadaşları tarafından protein kodlayan genlerde negatif düzenleyici olarak 1993 yılında bulunmuşlardır. *Candida elegans*la yaptıkları araştırmada; lin-4 miRNA mutasyonunun lin-14 gen ekspresyonunu etkilediğini ve gelişimsel süreçte aksaklıklara sebep olduğunu kanıtlamışlardır. Şu an için insan genomunda sayıları bini aşan, protein kodlamayan mikroRNA'lar bulunmuştur ve bu da araştırmacıları yeni miRNA'lar keşfetmeye sürüklemektedir [101]. miRNA'lar metabolizma, gelişme, farklılaşma, sağkalım ve apoptozis gibi birçok biyolojik sürecin kontrolünde görev almaktadır. Ökaryotik hücrelerin normal birçok işlevinde görev alan miRNA'lardaki oluşabilecek kusurlar başlıca kanser olmak üzere birçok hastalığa sebep olabilmektedir [102].

2.6.1.1. MikroRNA yapısı ve biyogenezi

MikroRNAlar, öncelikle DNA'da ilgili miRNA geninden, RNA polimeraz II enzimi ile binlerce baz uzunluğunda primer transkript (pri-miRNA) şeklinde sentezlenirler. Daha sonra birbirlerini takip eden iki aşama ile matür miRNA

sentezi gerçekleşir. İlk aşamada, DNA'dan bilgi aktarımı ile oluşmuş binlerce baz uzunluğundaki primiRNA, reaksiyonlarla 70 nükleotidlik prekürsör miRNA (pre-miRNA) şekline getirilir. İkinci aşamada ise bu 70 nükleotidlik prekürsör, yaklaşık 21-25 nükleotidlik matür miRNA'ya dönüştürülür [103]. Hücre çekirdeği içerisinde RNA Polimeraz II (Pol II) veya III ile oluşturulan primiRNA'lar çift iplikçikli RNA bağlayıcı protein olan "Pasha" kompleksi ve RNaz III endonükleaz enzimi olan "Drosha" tarafından işlenerek pre-miRNA'ya çevrilir [103]. Çekirdek zar proteini "exportin-5" aracılığıyla sitozole geçen pre-miRNA'lar doğrudan RNaz III endonükleaz enzimi "Dicer"a bağlanır. Dicer'in pre-miRNA sap-ilmliğini kesmesiyle, iki tamamlayıcı kısa RNA molekülü oluşur, fakat bunlardan yalnızca biri RNA-uyartılı susturma kompleksine (RISC) katılır [103]. RISC kompleksinin içerisinde bulunan bir RNaz enzimi olan argonaute ile ikisinden 5'ucu daha kararlı olanı (kılavuz iplikçik) seçilerek bu komplekse eklenir. Diğer iplikçik, yolcu iplikçik veya anti-kılavuz olarak isimlendirilir ve RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir [104].

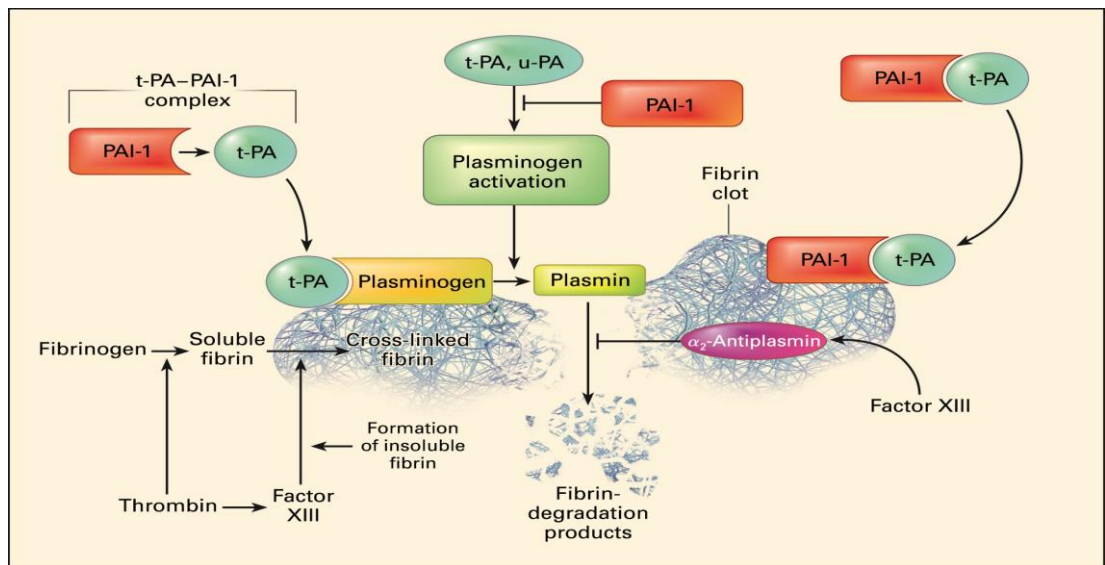


Şekil 1: MikroRNA'nın biyogenezi [21]

2.6.1.2. Onkojenik ve Tümör Baskılayıcı özellikleri olan mikroRNA çeşitleri

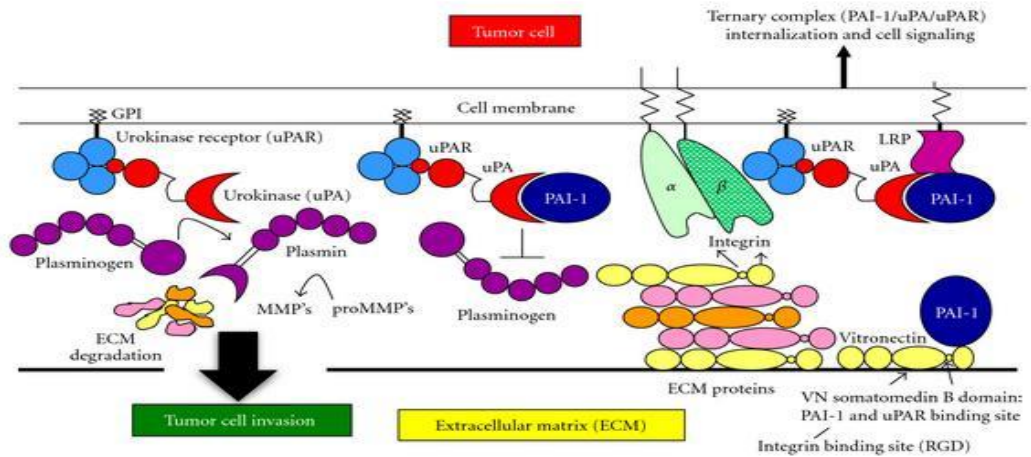
DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevrilmeyen genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mRNA'lara düşük özgüllük ile bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için genlerin ifade edilmesinin kontrolünde önemli rolleri vardır [105]. Bazı miRNA'ların tümör baskılayıcı gen, bazılarının ise onkojen gibi davranması, tümörün progresyonunda, invazyonunda ve metastazında miRNA'ların düzenleyici rollerinin olduğunu kanıtlamaktadır. Kanseri türlerinin birçoğunda ekspresyon düzeylerinin azalmasından dolayı bazı miRNA'ların tümör baskılayıcı oldukları düşünülmüştür. Yapılan fonksiyonel çalışmalarda ekspresyon düzeyi azalan bu miRNA'ların genelde onkojenleri hedef aldıkları gözlenmiştir [105]. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'nın ekspresyonundaki azalmalar onkojen ekspresyonunun artmasına ve bundan dolayı tümör oluşumuna neden olur. Yapılan araştırmalarda, çeşitli kanser türlerinde ekspresyonu artan mikroRNA'ların onkojenik miRNA'lar olduğu varsayılmaktadır. Bunlar 42 "onkomir" olarak isimlendirilir. Bu miRNA'ların aktivitelerinin artmasına ve hedefleri olan tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonlarının azalmasına dolayısıyla da tümör oluşum ve gelişimine neden olabileceği düşünülmektedir.

2.6.2. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1



Şekil 2: Plazminojen aktivatörleri (t-PA ve u-PA) ve PAI-1 ilişkisi ve fibrinolizis [106]

Plazminojen aktivasyon sisteminin bir parçası olan PAI-1 doku plazminojen aktivatör (tPA) ile ürokinazın (uPA) temel inhibitörüdür. Plazminojen aktivatörlerinin ve plazminin fonksiyonları doku yapılanması ve yıkımı, hücre migrasyonu ve fibrinolizidir. Plazmin aktivasyonu pıhtı yıkımında, tümör hücre yayılımında, inflamasyonda, yara iyileşmesinde, trofoblast invazyonunda ve angiogeneze görev alır. PAI-1, çeşitli tümör hücrelerinden salınıp, etkisini fibrinin erimesini inhibe ederek gösteren bir prokoagülandır. PAI-1 neoplastik hücrelerden salınıp plazmin oluşumunu engelleyerek hiperkoagülabileteyi kolaylaştırır. Yine PAI-1, trombositlerde var olan aktive protein C inhibitörü, u-PA ve t-PA inhibisyonu ile fibrinolizi ve protein C antikoagülan yolunu engelleyip protrombotik durumu kolaylaştırır. Böylelikle tümör aracılı koagülasyon kaskadının aktive edilmesi tümör stromasının meydana gelmesine ve hematogen metastaz oluşumuna sebep olur [107]. PAI-1 reaktif peptid zinciri Arg 345-Met 346(ana fizyolojik bölge) olan bir serin proteaz inhibitörüdür. 45-kDa ağırlığında olup insan plazmasında bulunan antijen konsantrasyonu 20 ng/ml dir. Hemostazı düzenlemenin yanı sıra plazminojen veya plazmin aktivasyonuna bağlı çoğu biyolojik olayda görev alır. Farelerle yapılan araştırmalarda, PAI- 1 in yara iyileşmesi, obezite ve insulin rezistansı ile ateroskleroz gibi metabolik hastalıklar, tümör angiogenezi, kemiğin yeniden şekillenmesi, astım, kronik stres, fibroz, romatoid artrit, sepsis, glomerulonefrit gibi olaylarda fonksiyonel rolü olduğu gözlenmiştir. Bu fonksiyonların PAI-1'in vitronektine bağlanmasına mı, hücrel migrasyon veya matriks bağlanmayla etkileşimine mi antiproteolitik aktivitesine mi bağlı olduğu soruları henüz çok net cevaplanamamıştır [108].



Şekil 3: Tümör Hücresinde Plazminojen Aktivasyon Sistemi [109]

2.6.2.1. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 üretimi ve sekresyonu

PAI-1 ilk olarak insanların endotelial hücre kültürlerinde ve daha sonra da trombosit, plazma, fibrosarkom hücreleri ve hepatositlerde elde edilmiştir [110]. Mezangial hücreler fibroblast, vasküler düz kas hücreleri, monosit/makrofajlar veya yağ dokusunun stroma hücreleri tarafından da üretilir. Sağlıklı bireylerde hem antijen düzeylerinde hem de PAI-1 aktivitesinde çok değişken plazma düzeyleri izlenmektedir. PAI-1 aktivitesi 0.5-47 u/mL aralığında değişir (tPA nötralizan ünitesinde, 1 mg aktif PAI-1, 700000ü'ye karşılık gelir). Bireylerin %80'inde değerler 6 u/mL altındadır. PAI-1 antijen düzeyleri 6-85 ng/mL aralığında değişir (geometrik ortalama 24 ng/mL). PAI-1 düzeyleri tromboembolik hastalıklarda çok yükselir. PAI-1'in elde edildiği dokularda, endotelial ve düz kas hücrelerinin ana üretim yeri oldukları görülmüştür. PAI-1'in inaktif formunu barındıran trombositler haricinde, hücrelerde depolanmaz, sentezden sonra hızlı bir şekilde sekrete edilir. PAI-1 salınımı, sirkadiyen ritme sahiptir, en yüksek düzeye sabahları ulaşır, öğleden sonra ve akşam en düşük düzeylerine iner. tPA aktivitesi ise ters bir diurnal varyasyon gösterir [111]. PAI-1 in sentez ve sekresyonu hormonlar, endotoksin, büyüme faktörleri, forbolester ve sitokin gibi birçok agonist ile kontrol edilir [112]. Yine PAI-1 sentezinin genetik regülasyonu ile ilgili araştırmalar mevcuttur.

2.6.2.2. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 fizikokimyasal özellikleri

PAI-1 379 veya 381 aminoasit içeren tek zincirli glikoproteindir. (NH₂ terminal heterojenitesi mevcuttur). Serpin ailesinin bir üyesi olup PAI-1'in üç adet potansiyel glikozilasyon bölgesi vardır, ikisi kullanılır (ASN 209 ve ASN 265, sistein içermez.) [113]. PAI-1 geni 7. Kromozom üzerindedir. Bu gen q21.3-q22 bandında lokalize olup yaklaşık 12.2 kb dir ve dokuz exon içermektedir [114]. PAI-1, vitronektin olarak adlandırılan PAI-1 bağlayıcı proteine bağlanıp stabilize olur [115].

2.6.2.2. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 mekanizması

PAI-1 hızlıca bir ve iki zincirli tPA ve iki zincirli uPA ile reaksiyon girer ancak tek zincirli u-PA ile reaksiyon göstermez [110]. Diğer serpinlere benzer şekilde PAI-1 kompleks oluşumu ile hedef proteinazları inhibe edip, serin rezidüsünün aktif tarafındaki hidroksil grubu ve P1 rezidüsünün karboksil grubu arasında kovalent bağ oluşturur. uPA ve tPA'nın PAI-1 ile hızlı inhibe edilmesi PAI-1'in 350-355 dizisinde ikinci bağlanma bölgeleri arasında reversibl yüksek afiniteye sebep olur. Aynı şekilde PAI-1 fibrine bağlanıp fibrin bağlı PAI-1 tPA aracılı pıhtı yıkımını inhibe edebilir [116]. Vitronektin mevcudiyetinde, PAI-1 iki yüz kat artmış trombin inhibisyonu göstermektedir, böyle olmasında da vitronektinin PAI-1'in reaktif halkasına bağlanmasının etkisi bulunur [117]. Ayrıca vitronektinin yüksek afiniteli bağlanması sebebi ile PAI-1 ekstraselüler matrikste bulunan integrin bağımlı veya uPAR bağımlı hücrelerle yarış yapar [118]. Bu sayede PAI-1 antiproteolitik aktiviteden bağımsız bir şekilde hücre adhezyonu ve/veya migrasyonunda görev alır. PAI-1 uPAR'a bağlanıp, uPA'nın indüklemiş olduğu kemotaksisi inhibe eder, bu şekilde hücre göçü düzenlenmiş olur [119]. Aktif uPA'nın hücre yüzeyinde yer alan uPAR'a bağlanması PAI-1 ile inhibe edilip, inaktif PAI-1-uPA-uPAR kompleksi hızlı bir şekilde düşük molekül ağırlıklı reseptör ilişkili protein ile hücre içine alınır [120, 121]. Böylelikle PAI-1 hücre yüzeyindeki düşük molekül ağırlıklı reseptör ilişkili proteinlerin azaltılmasını başlatmış olur. uPA'nın uPAR'a bağlanması ile hücre içi sinyalleşme uyarılmış olup [122] ve uPAR da yapısal değişiklikler gözlenir [123, 124]. Bunun sonucunda vitronektine afinite artar ve çeşitli integrinlerle etkileşim meydana gelir [122,

125]. PAI-1 hücreleri ekstraselüler matriksten ayırır, bunu da uPAR-vitronektin ve integrin-vitronektin etkileşimini bozarak sağlamış olur [118, 126]. Vitronektin yalnızca PAI-1 e yüksek afinite ve spesifitesi olan adheziv protein değildir ayrıca integrin ve/veya uPAR vasıtasıyla da bağlantı yapabilir. PAI-1 ve uPAR'ın, vitronektinin somatomedin B zincirinin terminal NH2 kısmına yüksek bağlanma afinitesi mevcuttur. Ancak PAI-1'in afinitesi uPAR dan daha fazla olmasından dolayı PAI-1 vitronektine uPAR aracılı adhezyonu inhibe eder. Yine PAI-1 in somatomedin B'ye bağlanması, integrin aracılı bağlanmayı da inhibe eder [127, 128].

2.7. Renal Hücreli Kanserin Tedavisi

Renal hücreli kanserin (RHK) tedavi seçenekleri arasında cerrahi rezeksiyon, immunoterapi, hedefe yönelik moleküler tedavi ve bunların kombinasyonları bulunmaktadır. Lokalize RHK tedavisinde bilinen en etkin tedavi yöntemi, cerrahi rezeksiyondur. Cerrahi rezeksiyon metastatik hastalıkta palyasyon amacıyla da kullanılabilir. Lokalize RHK tedavisinde standart cerrahi işlem olan radikal nefrektomi böbreğin gerota fasyasını, perirenal yağlı dokusunu ile aynı tarafta bulunan böbrek üstü bezini tek parça olarak birlikte çıkarmayı içerir. Aynı tarafın lenf nodu diseksiyonunda bu cerrahi girişime eklenebilir. Erken evredeki RHK'lı hastaların yarısından fazlası kür olurken evre IV hastalığa sahip hastaların prognozları ise oldukça kötüdür. Tümör yayılımının derecesi ve evre ile kür şansı, doğrudan ilişkilidir. Klinik olarak cerrahiye uygun olmayan bireylerde ve yaygın metastatik hastalığı bulunanlarda palyasyon amaçlı radyoterapi kullanımı denenmiştir. Metastatik hastalığı bulunan seçilmiş hastalar immunoterapiye cevap verebilmektedir. Ancak klinik olarak ilerlemiş hastaların birçoğunda yalnızca palyatif tedavi uygulanır. Standart olarak kabul gören hormonal tedavi veya kemoterapi rejimi bulunmazken sistemik tedavi seçenekleri de çok sınırlıdır. Tekli ya da kombine kemoterapiye cevap oranları %15'ten azdır. Bu sebeple farklı biyolojik tedavi yöntemleri ortaya konmuştur. RHK immunolojik bir tümör olup ve spontan gerileyen vakalar bildirilmiştir. İnterleukin-2, interferon, Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) aşısı gibi çeşitli immunomodülatör faktörler üzerinde araştırmalar sürdürülmektedir [129].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada, Kasım 2013 - Nisan 2016 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'nde böbrek kitlesi nedeniyle parsiyel ya da radikal nefrektomi (laparoskopik ya da açık teknik ile) uygulanan ve kitlelerinden alınan örnekleri saklanan 104 hasta çalışmaya alındı. Ameliyat sırasında çıkartılan böbrek dokusu üzerinde patoloji bölümünün yardımıyla çıkartılan tümör dokuları ve sağlıklı böbrek dokuları yeterli olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hasta Bilgi Yönetim Sistemi kayıtları taranarak hastaların yaş, cinsiyet, taraf, patolojik tümör boyutu, patolojik değerlendirmede elde edilen hücre tipi, Fuhrman derecesi, evresi, cerrahi sınır pozitifliği, sağ kalım süresi, varsa ölüm nedeni ve takip süreleri ile ilgili bilgiler elde edildi.. Klinik takipleri eksik olan vakalar telefon ile aranarak kontrole çağırıldı ve eksik bilgiler tamamlandı. Çalışma amacıyla saklanan dokuların bir kısmı uygun hazırlık sonrası MÜTF Üroloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda -80°C'de saklandı. Dokuların bir kısmı saklama koşullarının yetersizliği nedeniyle parafine gömülerek saklandı. Saklanan doku örnekleri için gen ekspresyonu deneyleri Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji ve Tıbbi Biyoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Dondurularak ve parafine gömülerek saklanmış tümör dokularından ve sağlıklı böbrek dokularından ribonükleik asit (RNA) izolasyonu yapıldı, izole edilen RNA örnekleri -80 derece sıcaklıkta saklandı. Gen ekspresyon düzeyinin deneysel olarak belirleneceği gün RNA örneklerinden ters transkripsiyon reaksiyonu ile komplementer DNA (cDNA) sentezlendi. Sentezleme işleminin hemen ardından cDNA örnekleri içinde ekspresyon düzeyleri incelenecek PAI-1, mikroRNA 143 ve mikroRNA145'in cDNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Tümör dokularındaki ve sağlıklı böbrek dokularındaki reaksiyon sonuçları oranlanarak karşılaştırıldı. Her iki dokudaki olası farklılıklar ve benzerlikler tespit edildi. Elde edilen veriler istatistiksel anlamlılık açısından yorumlandı.

3.1. Parafin Doku ve Taze Doku Kesitlerinden RNA Eldesi

RNA izolasyonu miRCURY RNA Isolation Kit - Tissue (Exiqon) ile üretici firma yönergelerine göre 20 mg doku kullanılarak yapıldı.

3.2. miRNA Ekspresyonu için cDNA Sentezlenmesi

cDNA sentezi, RNA stok solüsyonundan 2 µL alınarak, Universal cDNA Synthesis Kit II (Exiqon) içerisinde bulunan kimyasallar ile üretici firma yönergeleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Reaksiyon içeriği 5 µL nükleazsız su, 2 µL 5X reaksiyon tamponu, 1 µL enzim karışımı ve 2 µL RNA kalıbından oluşmaktaydı. Hazırlanan karışım ısısal döngüleyici cihazında 42°C'de 60 dakika, 95°C'de 5 dakika ardından 4°C 'de bekletildi. Elde edilen cDNA örneği miRNA analizlerinde kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

3.3. hsa-miR-143-3p, hsa-miR-145-5p ve U6 snRNA Ekspresyonunun Eş Zamanlı Kantitatif PZR ile İncelenmesi

Reaksiyon ExiLent SYBR® Green master (Exiqon) içerisinde bulunan kimyasallar ve primerler kullanılarak 96 kuyulu Real Time PCR plate'inde gerçekleştirildi. Reaksiyon içeriği 5 µL SYBR Green Master mix, 1 µL PZR primer karışımı ve 4 µL nükleazsız su ile 1:80 dilüe edilmiş cDNA'dan oluşmaktaydı. Bu karışım LightCycler 480 cihazında aşağıda verilen tabloya uygun biçimde amplifiye edildi. Bütün örnekler triplike çalışıldı, U6 snRNA referans (house keeping) mikro RNA olarak kullanıldı ve hsa-miR-143-3p ve hsa-miR-145-5p ekspresyonları U6 snRNA'ya göre normalize edildi.

3.4. mRNA Ekspresyonu için cDNA Sentezlenmesi

Parafin ve taze dokulardan izole edilen total RNA'lardan 2 µL kullanılarak cDNA Synthesis Kit (Exiqon) ile cDNA dönüşümü kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Reaksiyon içeriği 2 µL total RNA, 2 µL cDNA buffer, 1 µL cDNA primer, 1 µL cDNA Enzyme ve 4 µL nükleazsız su'dan oluşmaktaydı. Hazırlanan karışım ısısal döngüleyici cihazında 25°C'de 10 dakika, 50°C'de 15 dakika, 85°C'de 5 dakika ardından 4°C 'de bekletildi. Elde edilen cDNA örneği RNA analizlerinde kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

3.5. PAI1/SERPINE mRNA ve GAPDH mRNA Ekspresyonunun Eş Zamanlı Kantitatif PZR ile İncelenmesi

Reaksiyon SYBR Green master (Exiqon) içerisinde bulunan kimyasallar ve primerler kullanılarak 96 kuyulu Real Time PCR plate'inde gerçekleştirildi. Reaksiyon içeriği 5 µL SYBR® Green PCR master mix, 1 µL ExiLERATE LNA qPCR primer mix karışımı ve 4 µL nükleazsız su ile 1:30 dilüe edilmiş cDNA'dan oluşmaktaydı. Bu karışım LightCycler 480 cihazında aşağıda verilen tabloya uygun biçimde amplifiye edildi. Tüm reaksiyonlar triplikle çalışıldı, GAPDH referans (house keeping) gen olarak kullanıldı. Kantitasyon ve analiz LightCycler 480 s kullanılarak yapıldı. **Tablo 6**'da kantitasyon ve analiz için yapılan işlem basamakları özetlendi.

İşlem Basamakları	Ayarlar, Light Cycler 480 s Cihazı
Polimeraz Aktivasyonu/ Denatürasyonu	95 °C, 10 dk.
Amplifikasyon	45 amplifikasyon siklusu 95 °C, 10 sn. 60 °C, 1 dk. Optik okuyucu
Erime Eğrisi Analizi	Evet

Tablo 6. Light Cycler 480 cihazı ile uygulanan işlem basamakları

Eş zamanlı kantitatif PZR reaksiyonu ile kantitasyon yapılmasına yönelik çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Çalışmamızda, sıklıkla kullanılmakta olan göreceli kantitasyon yöntemi seçildi. Bu yöntemde delta delta Ct adı verilmektedir. Bu doğrultuda belirli şartlar altında ekspresyonu değişmeyen, her doku ya da hücrede bazal düzeyde ve hücreler arası varyasyon göstermeden eksprese edilen bir "house keeping" gen ekspresyonunun hedef gen ekspresyonu ile kıyaslaması yapıldı. Hedef DNA molekülü ve standart olarak kullanılan DNA molekülün aynı verimlilik ile amplifiye olduğu kabul ederek aşağıdaki formülasyona dayalı kantitasyon yapıldı. Formülde geçen oran; hedef gen ekspresyonunun kontrole oranı, E; verimlilik, ΔC_p ise Ct değerleri farkını ifade etmektedir. Hedef gen ve kontrol geninin PZR verimlilikleri birbirine ve 2'ye eşit kabul edildiğinde yeni formülasyon aşağıdaki gibi olacaktır. Kantitasyonda $\Delta\Delta C_t$ metodu kullanılmıştır. Burada primer ve problardan alınan ışımanın sınır değeri aştığı noktaya Ct ya da Cp

değeri adı verilmektedir. Eş zamanlı PZR reaksiyonu DNA bağlayan boyaların kullanımı ile amplifikasyonun eş zamanlı olarak takibine olanak sağlar. SYBR Green bu amaçla sıklıkla kullanılan boyalardan biridir. Çift iplikli DNA molekülüne bağlanarak floresan ışıma verir. Primerin bağlanmasını takiben gerçekleştirilen uzama aşamasında, hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle DNA'ya bağlanan Syber Green miktarı artmakta ve buna bağlı olarak yayılan floresans miktarında artış gözlenmektedir (Heid ve ark., 1996; Grove ve ark., 1999; Kubista ve ark., 2006). SYBR Green boyasından alınan ışımanın sınır değeri aştığı noktaya Ct ya da Cp değeri adı verilmektedir. Bu noktada DNA amplifiye olmuş ve DNA'ya bağlanan boyanın verdiği ışıma sınır değeri aşmıştır. Işımanın sınır değeri aştığı anda amplifikasyondan emin olunur ancak doğru amplikonun takibinin yapıldığının belirlenebilmesi için erime eğrisinin incelenmesi gerekmektedir, SYBR Green belirli bir DNA moleküle bağlanan spesifik bir boya değil, tüm çift iplikli DNA moleküllerine bağlanan bir boyadır.

Çift iplikli bir DNA molekülünün erime sıcaklığı yani molekülün %50'sinin denatüre olabilmesi için gerekli sıcaklık değeri molekülün uzunluğuna ve baz içeriğine bağlıdır. Dolayısıyla belli bir primer kullanılarak amplifiye edilmiş dizilerin belirli bir erime sıcaklığı olacaktır. Eş zamanlı PZR ile amplifiye edilen DNA moleküllerinin erime sıcaklıkları cihaz tarafından görüntülenebilmektedir. Bütün amplikonlar için benzer ısı aralığında pik alınması PZR reaksiyonunun özgünlüğünün ispatıdır. Aynı sıcaklık değerine pik veren örneklerde hedef dizi amplifiye olmuştur, elde edilen sinyal bir kontaminasyon ya da özgün olmayan bağlanmanın sonucu değildir.

$\text{Oran} = \frac{(E_{\text{hedef}})^{\Delta CP_{\text{hedef}}(\text{kontrol-örnek})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta CP_{\text{ref}}(\text{kontrol-örnek})}}$	$\text{Oran} = 2^{-\Delta\Delta CP}$
---	--------------------------------------

3.6. İstatistiksel Yöntemler

Tüm istatistiksel işlemler IBM SPSS Statistics 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL,

USA)programı ile yapıldı. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren devamlı değişkenler ortalama ve standart sapma ile gösterildi. Normal dağılım göstermeyen devamlı değişkenler ise ortanca minimum ve maksimum değerleri ile gösterildi. Kategorik değerler ki-kare testi ile kıyaslandı. Normal dağılım gösteren iki farklı bağımsız grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark T-testi ile, ikiden fazla bağımsız grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark ise ANOVA testi ile analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen iki farklı bağımsız grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark Mann Whitney U testi ile ikiden fazla bağımsız grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark ise Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. Normal dağılım gösteren iki bağımlı grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark paired sample T-testi ile analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen iki farklı bağımlı grubun değişkenleri arasındaki istatistiksel fark Wilcoxon Signed Ranks testi ile analiz edildi. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

İzolasyon ve Konsantrasyon Sonuçları

Böbrek kitlesi nedeniyle nefrektomi veya nefron koruyucu cerrahi uygulanmış olan 104 hastanın tümör dokusundan ve sağlıklı böbrek dokusundan elde edilmiş örnekleri FFPE bloğu (n=51) ve -80 derecede taze doku örneği (n=53) olarak saklandı. Mevcut dokular Marmara Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı' nın katkılarıyla moleküler değerlendirmeden geçirildi. Moleküler değerlendirme için her örnekten RNA izole edilip, konsantrasyon ve saflık deneyleri için ihtiyaç duyulan 50 ng' lık RNA seviyesine ulaşılması hedeflendi. Moleküler değerlendirmeler PAI-1, mikroRNA-143ve mikroRNA-145 ekspresyonları üzerinden yapıldı. Tüm örnekler içerisinde hem tümör dokusunda hem de normal dokuda yeterli seviyeye ulaşılabilen hastaların örnekleri değerlendirmeye alındı. Değerlendirmenin gerçekleştirildiği hastalarda ölçümlerin yapılabildiği PAI-1, mikroRNA-143 ve mikroRNA-145 ile doku saklama yöntemi dağılımları **tablo 7'** de verildi.

	Parafin Gömülü Doku Kullanılan Hastalar (n)	Taze Doku Kullanılan Hastalar (n)	Toplam (n)
PAI-1	1	22	23
mikroRNA-143	8	27	35
mikroRNA-145	8	29	37

Tablo 7. Çalışılan parametrelerin (PAI-1, mikroRNA-143 ve mikroRNA-145) doku saklama yöntemine göre dağılımları

Örneklerin PAI-1, mikroRNA-143 ve mikroRNA-145 ekspresyonları laboratuvar ortamında ölçüldükten sonra ölçümleri gerçekleştirilen tüm hastaların patoloji sonuçları ve histolojik evrelemelerine göre dağılımı sırasıyla **tablo 8 ve 9'** da verildi.

Malignite Tipi	PAI-1	mikroRNA-143	mikroRNA-145
-----------------------	--------------	---------------------	---------------------

	Çalışılan Hasta (n)	Çalışılan Hasta (n)	Çalışılan Hasta (n)
Berrak hücreli RHK	14	22	23
Papiller tip RHK	5	6	6
Kromofob tip RHK	0	1	2
Onkositom	1	2	2
Anjiomyolipom	3	3	3
Üroepitelyal Tümör	0	1	1
Toplam	23	35	37

Tablo 8. PAI-1, mikroRNA 143 ve mikroRNA 145 ekspresyon düzeyi çalışılan hastaların patolojik alt tiplere göre dağılımı

Fuhrman Derecesi	PAI-1 Çalışılan Hasta (n)	mikroRNA-143 Çalışılan Hasta (n)	mikroRNA-145 Çalışılan Hasta (n)
1	0	1	1
2	12	19	20
3	5	6	6
4	0	0	0
Toplam	17	26	27

Tablo 9. PAI-1, mikroRNA 143 ve mikroRNA 145 ekspresyon düzeyi çalışılan hastaların Fuhrman derecesine göre dağılımı

Elde edilen veriler değerlendirilirken değişici epitel hücreli kanser patolojisi saptanan hasta çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar arasında kadın/erkek oranı benign olanlar için 3/2, RHK olanlar için 8/23 olarak tespit edildi ($p = 0,154$). Hastaların operasyon zamanındaki yaşları, tümör boyutları ve takip süreleri **tablo 10'** da verildi.

	Benign patolojisi olan hastalar (n=5)	RHK patolojisi olan hastalar (n=31)	p değeri

	(Ortalama $\pm$ SS)	(Ortalama $\pm$ SS)	
Tanı anındaki yaş (yıl)	57,8 $\pm$ 3,2*	61,9 $\pm$ 2,2*	0,316
Tümör boyutu (mm)	53,8 $\pm$ 4,1*	76,3 $\pm$ 6,6 ⁺	0,191
Takip süresi (yıl)	1,1 $\pm$ 0,6*	0,8 $\pm$ 0,1*	0,268

Tablo 10. Hastaların operasyon sırasındaki yaşları, tümör boyutları ve takip sürelerinin patolojisinin benign veya RHK olmasına göre dağılımı (+ Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma; T testi ve Mann Whitney U Testi kullanılarak analizler yapıldı.)

Hastaların parafine gömülü ya da taze olarak saklanmış normal böbrek dokularında ve tümör dokularında mikroRNA-143, mikroRNA-145 ve U6 amplifikasyonu yapılmış, Ct değerleri cihaz tarafından hesaplandı. MikroRNA ekspresyon sonuçları ekspresyonu sabit olduğu bilinen U6 ekspresyon sonuçları ile normalize edildi. Patolojisi renal hücreli kanser olarak raporlanan hastaların sağlıklı böbrek dokuları ile tümör dokularında tespit edilen normalize edilmiş mikroRNA-143 (n=29), mikroRNA-145 (n=31) sonuçları **tablo 11'** de verildi.

	Sağlıklı Böbrek Dokusu Ortanca (Min-Maks)	Tümör Dokusu Ortanca (Min-Maks)	P değeri
mikroRNA-143 Δ Ct	0,47 (-12 – 3,68) ⁺	-0,45 (-8,05 – 2,89) [*]	0,482
mikroRNA-145 Δ Ct	3,35 (-9,05 – 7,44) ⁺	-0,11 (-4,99 – 2,81) [*]	0,024

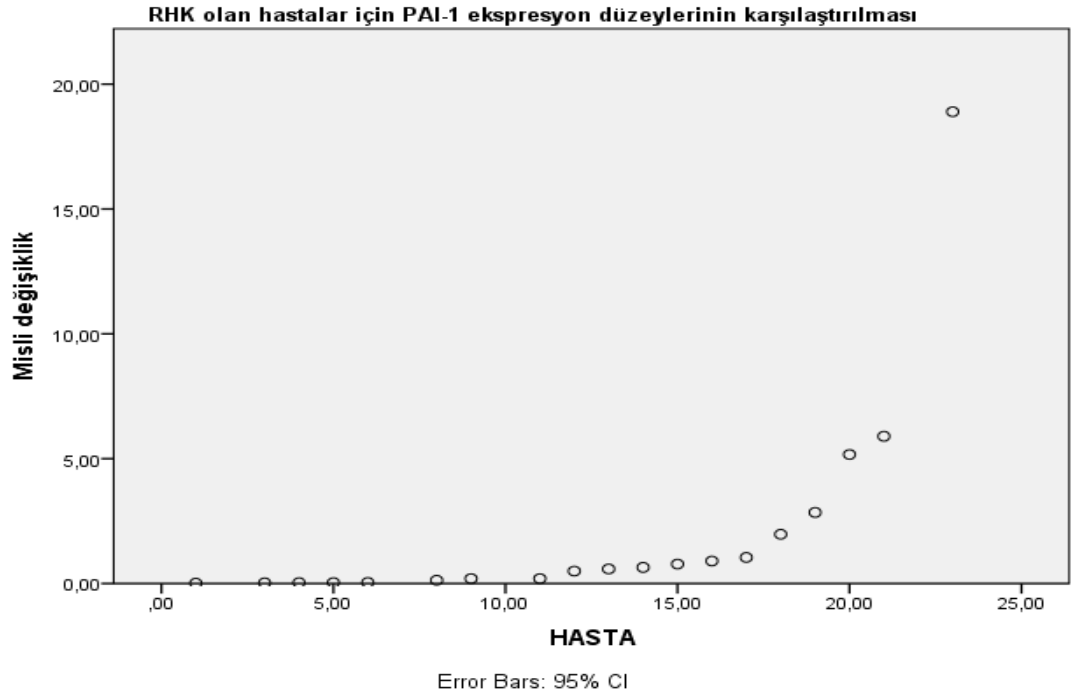
Tablo 11. Sağlıklı böbrek dokuları ile tümör dokularında tespit edilen mikroRNA 143 ve 145' in referans gene göre normalize edilmiş Δ Ct değerlerinin dağılımı (+ Normal dağılım yok, * Normal dağılım var; Wilcoxon Signed Ranks Test ile analiz yapıldı.)

Bu sonuçlara göre renal tümör dokularındaki mikroRNA-143 ekspresyon düzeyleriyle periferlerindeki normal dokuların eksprese ettiği mikroRNA-143 ile aralarında anlamlı bir fark olmadığı Wilcoxon Signed Ranks Test ile tespit edildi (p=0,482). Ancak renal tümör dokularındaki mikroRNA-145 ekspresyon

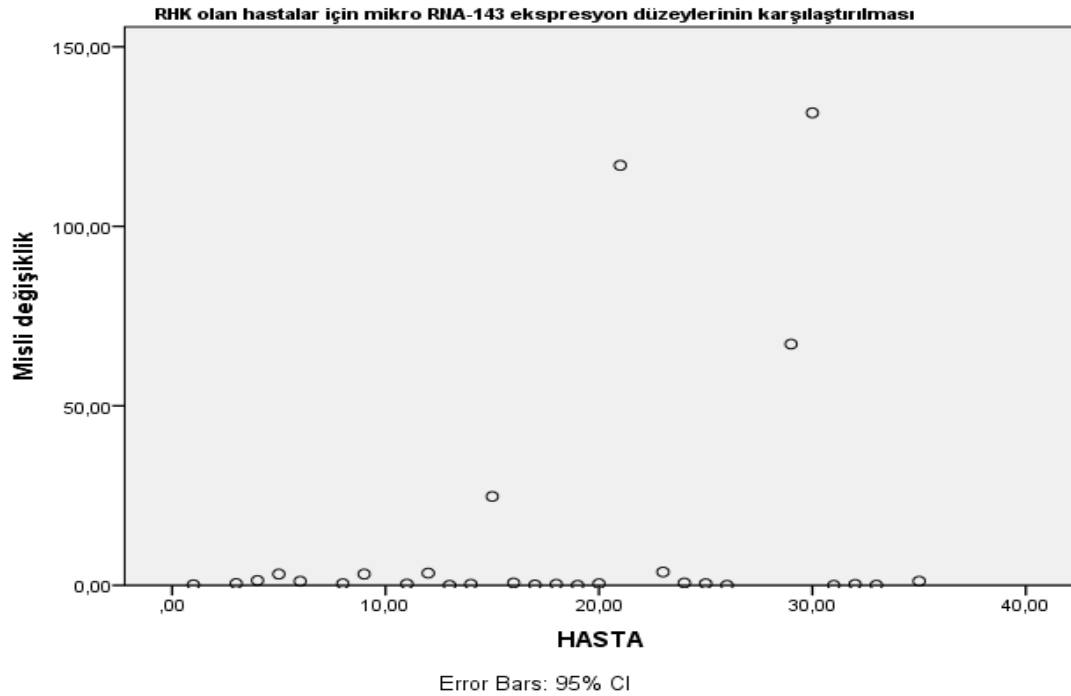
düzeyleriyle periferlerindeki normal dokuların eksprese ettiği mikroRNA-145 arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu Wilcoxon Signed Ranks Test ile tespit edildi.

Hastaların çalışılması planlanan sağlıklı böbrek dokusu ile tümör dokularında RNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra mRNA çalışmasına uygun biçimde cDNA dönüşümü gerçekleştirildi. Daha sonra gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) ile PAI-1 ile GAPDH ekspresyon analizi gerçekleştirildi. PAI-1 ekspresyon sonuçları ekspresyonu değişik dokularda anlamlı farklılık göstermeyen GAPDH ekspresyon sonuçları ile normalize edildi. Hastaların normal ve renal dokularındaki PAI-1 ve GAPDH mRNA ekspresyonu için Ct değerleri cihaz tarafından hesaplandı. Patolojisi renal hücreli kanser olarak raporlanan on dokuz hastanın sağlıklı böbrek dokusu ve tümör dokusundan hesaplanan PAI-1 Δ Ct değerlerinin ortanca değeri sırasıyla -6,97 (min:-15,5 — maks:-3,11) ve -7,89 (min:-13,56 — maks:-4,63) olarak saptandı. Bu sonuçlara göre Wilcoxon Signed Ranks Test kullanılarak yapılan istatistiksel analizde sağlıklı böbrek dokusundaki PAI-1 ekspresyonu ile tümör dokusundaki PAI-1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p = 0,084).

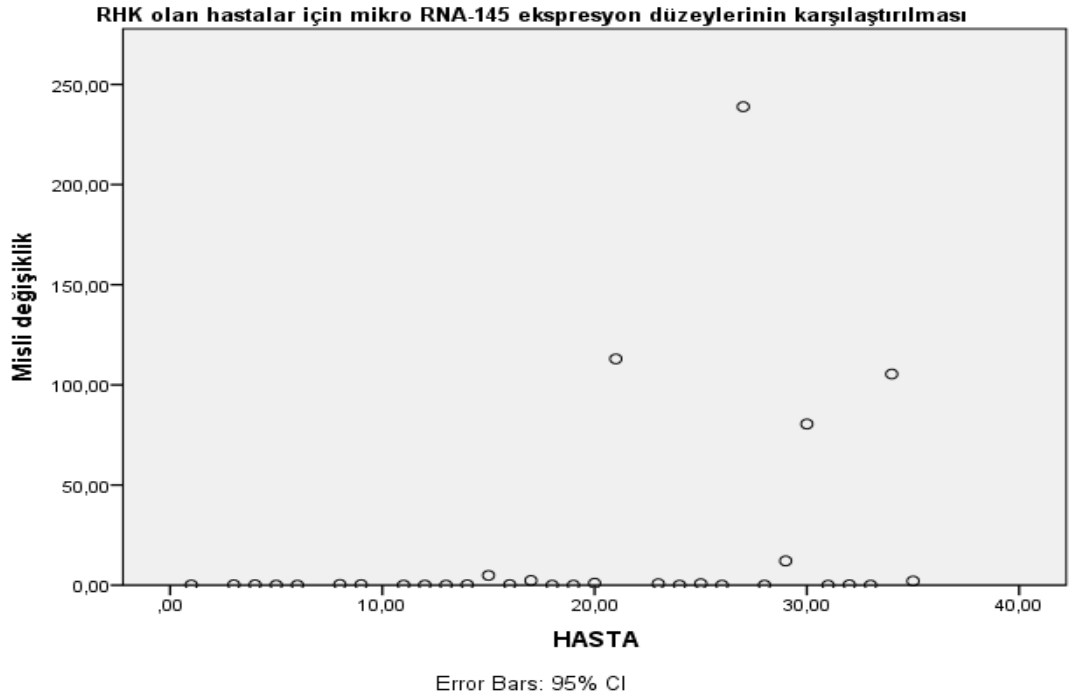
Ekspresyon düzeylerini karşılaştırmak için kullanılan misli değişiklik (fold change) Ct değerleri kullanılarak; $2^{((renal\ tm\ doku\ referans\ gen\ Ct - renal\ tm\ doku\ hedef\ gen\ Ct) - (normal\ doku\ referans\ gen\ Ct - normal\ doku\ hedef\ gen\ Ct))}$ formülüne uygun şekilde hesaplanmış olup PAI-1, mikroRNA 143 ve mikroRNA 145 için ekspresyon düzeyleri **grafik 1,2 ve 3'** te sırasıyla gösterildi.



Grafik 1. RHK olan hastalar için PAI-1 ekspresyon düzeylerinin hastalara göre dağılımı



Grafik 2. RHK olan hastalar için mikroRNA-143 ekspresyon düzeylerinin hastalara göre dağılımı



Grafik 3. RHK olan hastalar için mikroRNA-145 ekspresyon düzeylerinin hastalara göre dağılımı

Delta delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) hesaplanırken tümör dokusundaki referans gen için ortalama Ct ile tümör dokusundaki hedef gen için ortalama Ct farkı, sağlıklı böbrek dokusundaki referans gen için ortalama Ct ile sağlıklı böbrek dokusundaki hedef gen için ortalama Ct farkı birbirinden çıkarılarak hesaplandı. Bu hesaplamaya göre benign patolojisi olan hastalar ile RHK patolojisi olan hastaların PAI-1, mikroRNA 143 ve 145' in $\Delta\Delta Ct$ değerlerinin dağılımı **tablo 12'** de gösterildi. Bu sonuçlara göre benign patolojisi olan hastalar ile RHK patolojisi olan hastalar arasında PAI-1 ($p= 0,681$), mikroRNA-143 ($p=0,255$) ve mikroRNA-145 ($p=0,707$) düzeyleri arasında T testi kullanılarak yapılan analizlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya konulamadı.

	Benign patolojisi olan hastalar		RHK patolojisi olan hastalar		P değeri
	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	
PAI-1 $\Delta\Delta Ct$	4	-2,0 $\pm$ 4,0*	19	-1,3 $\pm$ 3,0*	0,681
mikroRNA-143 $\Delta\Delta Ct$	5	-3,4 $\pm$ 3,3*	29	0,5 $\pm$ 7,4*	0,255
mikroRNA-145 $\Delta\Delta Ct$	5	-2,9 $\pm$ 4,7*	31	-2,0 $\pm$ 4,8*	0,707

Tablo 12. Patolojisi sonuçlarına göre benign patolojisi olanlar ile RHK patolojisi olanların PAI-1, mikroRNA 143 ve 145' in $\Delta\Delta Ct$ değerlerinin dağılımı (* Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma; T testi kullanılarak analizler yapıldı.)

Yine patolojisi berrak hücreli RHK ve papiller tip RHK olarak rapor edilen hastalar arasında bakılan PAI-1 (p= 0,626), mikroRNA-143 (p= 0,906) ve mikroRNA-145 (p= 0,133) düzeyleri arasında T testi kullanılarak yapılan analizlere göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**Tablo 13**).

	Berrak hücreli RHK patolojisi olan hastalar		Papiller tip RHK patolojisi olan hastalar		p değeri
	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	
PAI-1 $\Delta\Delta Ct$	14	-1,5 $\pm$ 3,1*	5	-0,7 $\pm$ 2,8*	0,626
mikroRNA-143 $\Delta\Delta Ct$	22	0,6 $\pm$ 8,3*	6	0,2 $\pm$ 4,5*	0,906
mikroRNA-145 $\Delta\Delta Ct$	23	-3,1 $\pm$ 4,6*	6	0,1 $\pm$ 4,2*	0,133

Tablo 13. Berrak hücreli RHK patolojisi olanlar ile papiller tip RHK patolojisi olanların PAI-1, mikroRNA 143 ve 145' in $\Delta\Delta Ct$ değerlerinin dağılımı (* Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma; T testi kullanılarak analizler yapıldı.)

Patoloji sonucu RHK olan ve tümörün histolojik evrelemesine göre Fuhrman evre 2 ve Fuhrman evre 3 olarak kabul edilen hastalar arasında bakılan PAI-1 (p= 0,757), mikroRNA-143 (p= 0,715) ve mikroRNA-145 (p= 0,313) düzeyleri arasında T testi kullanılarak yapılan analizlere göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**Tablo 14**).

	Fuhrman Derecesi 2		Fuhrman Derecesi 3		p değeri
	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	
PAI-1 $\Delta\Delta$ Ct	12	-1,1 $\pm$ 2,2*	5	-1,6 $\pm$ 4,3*	0,757
mikroRNA-143 $\Delta\Delta$ Ct	19	1,1 $\pm$ 8,7*	6	0,3 $\pm$ 1,9*	0,715
mikroRNA-145 $\Delta\Delta$ Ct	20	-2,0 $\pm$ 4,6*	6	-4,1 $\pm$ 2,7*	0,313

Tablo 14. RHK ‘ da Fuhrman histolojik evrelemesine göre evre 2 ve evre 3 olanların PAI-1, mikroRNA 143 ve 145’ in $\Delta\Delta$ Ct değerlerinin dağılımı (+ Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma; T testi kullanılarak analizler yapıldı.)

Patolojisi RHK olarak rapor edilen hastaların evresi ile mikroRNA 145 (p= 0,044) arasında istatistiksel bir fark olduğu gözlemlendi. Bu fark PAI-1 (p= 0,922), mikroRNA-143 (p= 0,154) ile evre arasında gösterilmedi. mikroRNA-145 ile evre 1-2-3 arasındaki ilişki post-Hoc analizlerde değerlendirildi ve evre 2 hastaların evre 1 hastalara göre daha fazla mikroRNA 145 eksprese ettiği gösterildi (**Tablo 15**).

	Evre 1		Evre 2		Evre 3		P değeri
	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	
PAI-1 $\Delta\Delta$ Ct	10	-1,6 $\pm$ 2,2*	3	-1,0 $\pm$ 3,6*	6	-1,0 $\pm$ 4,1*	0,922
mikroRNA-143 $\Delta\Delta$ Ct	12	-2,7 $\pm$ 3,8*	5	2,5 $\pm$ 4,4 ⁺	12	2,9 $\pm$ 9,9*	0,154
mikroRNA-145 $\Delta\Delta$ Ct	12	-4,0 $\pm$ 4,1* ^{&}	12	1,6 $\pm$ 6,0* ^{&}	7	-2,2 $\pm$ 3,8*	0,044

Tablo 15. RHK ‘ da patolojik evrelemeye göre PAI-1, mikroRNA 143 ve 145’ in $\Delta\Delta$ Ct değerlerinin dağılımı (+ Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma & Evre 1 ve Evre 2 arasında istatistiksel anlamlı fark var (p = 0,035); Kruskal Wallis Testi ve ANOVA Testi kullanılarak analizler yapıldı.)

RHK' lı hastalarda metastaz varlığı ve yokluk durumuna göre bakılan PAI-1 (p= 0,825), mikroRNA-143 (p= 0,333) ve mikroRNA-145 (p= 0,368) düzeyleri arasında T Testi kullanılarak kullanılarak yapılan analizlere göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**Tablo 16**).

	Metastaz yok		Metastaz var		p değeri
	n	(Ortalama $\pm$ SS)	n	(Ortalama $\pm$ SS)	
PAI-1 $\Delta\Delta Ct$	17	-1,4 $\pm$ 2,7*	2	-0,2 $\pm$ 6,3*	0,825
mikroRNA-143 $\Delta\Delta Ct$	25	-0,8 $\pm$ 4,1*	4	8,7 $\pm$ 16,5*	0,333
mikroRNA-145 $\Delta\Delta Ct$	27	-1,7 $\pm$ 5,0*	4	-4,1 $\pm$ 2,4*	0,368

Tablo 15. RHK ' da metastaz varlık ve yokluk durumuna göre PAI-1, mikroRNA 143 ve 145' in $\Delta\Delta Ct$ değerlerinin dağılımı (* Normal dağılım yok, * Normal dağılım var, SS: Standart sapma; T testi kullanılarak analizler yapıldı.)

5. TARTIŞMA

Renal Hücreli Karsinom (RHK), en sık (80-85) rastlanan malign böbrek tümörüdür ve tüm erişkin malignitelerinin yaklaşık %2'sinden sorumlu tutulmaktadır. Gün geçtikçe de görüntüleme tekniklerinin (USG, BT, MRG) yaygın kullanılması ile tanı alan hasta sayısı gözle görülür artmaktadır. Ayrıca RHK tanısı alan hastaların %24- %32'sinin tanı anında lokal invazyonu veya uzak metastazı mevcuttur. Bunun yanında RHK öntanısı nedeni ile lokalize hastalık düşünülerek cerrahi rezeksiyon uygulanan hastaların %20-30'unun takiplerinde metastaz saptanmıştır ve cerrahi sonrası ortanca relaps zamanı bu hastalarda 2 yıl ve çoğunluğunun da 5 yıl içinde olduğu bilinmektedir. Bu sebeple RHK'lı hastalarda cerrahi öncesi tanı koyduracak alt tipleri belirleyecek prognozu ve sağkalımı öngörecektir biyobelirteçlere ihtiyaç bulunmaktadır.

MikroRNA'lar gen ekspresyonunu; mRNA stabilitesi ve translasyonu düzeyinde düzenleyen ve kodlama işlevi olmayan, 19-22 baz uzunluğunda küçük RNA molekülleri olup insan genomunda protein kodlayan genlerin % 60'ının regülasyonundan sorumlu tutulmaktadır. Bazı mikroRNA'ların yüksek düzeyde ekspresyonunun tümör baskılayıcı genleri bastırarak onkojen etki gösterdikleri, buna karşın düşük düzeyde eksprese olan bazı mikroRNA'ların ise tümör baskılayıcı etki göstererek onkojenlerin negatif regülasyonlarını sağladıkları bildirilmiştir. Birçok insan kanser hücresinde en sık baskılanan mikroRNA tiplerinin dokuda ve serumda da tespit edilebilen mikroRNA 143 ve 145 olduğu bildirilmiştir.

Yoshino ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada RHK'lı hastalarının tümör hücrelerinde mikroRNA 143-145 ekspresyon düzeylerinin baskılandığı ve (glikolitik yolda görevli kritik bir enzim olan heksokinaz-2 düzeylerinin ise arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular tümör invazyonunun arttığı durumlarda daha da belirgin olarak gözlenmiştir [130]. Heksokinaz-2 enzimini baskılayan 2 deoksiglukoz, 3 bromopurivik asit gibi ajanların mikroRNA'ları azalan RHK alt gruplarının tedavisinde kullanılabileceği öngörülebilir.

Literatürde bu konu ile ilgili diğer iki araştırmada da ve mikroRNA 143-145 ekspresyonunun baskılanmış olduğu RHK'lı hastalarda; metastaza daha sık rastlandığı gösterilmiştir [131, 132]. Ancak üç çalışmada da hasta grupları patolojik alt tiplerden yalnızca berrak hücreli RHK tanısını alanlar olarak belirlenmiştir. Bu sebeple diğer patolojik alt tipler ile mikroRNA 143-145 ilişkisi henüz ortaya konulamamıştır. Çalışmamız patolojik alt tipler ile mikroRNA 143-145 ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Yapılan değerlendirmelerde tümör hücrelerinin sağlıklı böbrek hücrelerine göre mikroRNA-145 ekspresyonunun belirgin azaldığı, mikroRNA 143 ekspresyonu ile PAI-1 ekspresyonu açısından da belirgin bir fark göstermediği saptanmıştır. Bu nedenle anlamlı farkın varlığı açısından ileri analizler yapılmıştır. İleri analizlerde tümör hücreleri ile sağlıklı böbrek hücrelerinin her hasta bazında ekprese ettiği mikroRNA143-145 ve PAI-1 biyobelirteçleri farkı kıyaslanmıştır.

Araştırmamıza alınan berrak hücreli RHK'lı hastalar ile papiller tip RHK'lı hastalar için mikroRNA-143 ve mikroRNA-145 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p = 0,906$, $p = 0,133$). Buna karşın aynı hastanın sağlıklı dokusu ve tümör dokusundaki ekspresyon düzeyleri değerlendirildiğinde mikroRNA-145 için istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tümör dokusunda daha az ekprese olduğu görülmektedir ($p = 0,024$).

Ürokinaz Plazminojen Aktivasyon Sistemi(UPAS) ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA), uPA reseptörü ve PAI-1'den oluşmakta olup bu sistem üyeleri anjiyogenez, hücre büyümesi, hücre adhezyonu ve migrasyonu, kemotaksis gibi hücre içi sinyal yollarının birçoğunda görevlidir. Bu sistem üyelerinin mide, kolon, rektum, özefagus, endometriyum, ovaryum kanseri ile ilişkisi ortaya konmuştur. Bashar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada UPAS'ın RHK patogenezi ile ilişkisine bakılmıştır. Araştırmacılar RHK öntanısı nedeniyle radikal rezeksiyon uygulanmış, operasyon öncesi plazma PAI-1 seviyesi yüksek tespit edilen hastalarda metastaz varlığını anlamlı derecede yüksek bulmuştur. Yine Hofmann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada RHK öntanısı nedeni ile transperitoneal nefrektomi yapılan hastalarda u-PA, u-PA-R ve de özellikle PAI-1'in RHK'nın erken relapsında

güçlü ve bağımsız prognostik faktörler oldukları ortaya konmuştur [18, 19]. Serimizde RHK tanılı hiçbir hastada relaps görülmediği için PAI-1 ekspresyon düzeyi ile RHK relapsı arasında bir ilişki ortaya konulamamıştır. Bu gözlem ortalama izlem sürelerinin bir yılın altında olmasıyla açıklanabilir. Ohba ve arkadaşlarının bu sistem bileşenlerinden PAI-1'in RHK'li olgularda TİM (Tümör İlişkili Makrofaj) yoluyla progresyon ve sağkalım üzerine etkili olduğunu göstermiştir [20]. Serimizde radikal veya parsiyel nefrektomi sonrası geçen takip süresinde progresyon ve mortalite gözlenmediği için benzer ilişki değerlendirilememiştir. Bu sistem bileşenlerinden olan PAI-1 obezite, diyabet ve metabolik sendrom durumlarında yüksek bulunmaktadır ve özellikle vasküler trombotik olaylarla ilişkilidir. Ayrıca, hayvan çalışmalarında olumlu sonuçlar veren ve şu anda faz çalışmalarında denenen AZ3976 gibi PAI-1 inhibitörleri geliştirilmiştir. Bu da ileri evre hastalarda PAI-1 inhibitörlerinin kullanılabileceği fikrini ortaya koymuştur. Villadsen ve arkadaşları mesane tümörü hastalarında mikroRNA 143-145' in tüm evrelerde baskılanmış olduğunu buna karşılık PAI-1 ekspresyonunun ise arttığını rapor etmişlerdir [24]. Sonuç olarak yüksek düzeyde PAI-1 ekspresyonu ile düşük mikroRNA 143-145 seviyelerinin kasa invaze olmayan mesane kanseri hastalarında kötü prognostik bir bulgu olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada RHK'da da benzer bir ilişkinin varlığının araştırılması planlanmıştır. Konuyla ilgili başka bir araştırma bulunmaması nedeniyle bu gen ekspresyonlarının tedavide yararını belirleyecek yeterli hasta sayısının ne olması gerektiği bilinmemiştir. Elimizde mevcut olan dokularda PAI-1 ve mikroRNA 143-145'in ekspresyon düzeyleri ile RHK patolojik alt grupları, hastalığın evresi ve derecesi ile hastalığa özgü ve genel sağkalım verileri ile ilişkisi araştırılmıştır. mRNA düzeyleri anlamlı olabilecek 50 ng RNA düzeyinde ölçümediği için parafine gömülü dokularda PAI -1 analizi yapılamamış, bu nedenle ilgili analiz taze dokularda yapılmıştır. Hücre tipleri açısından bakacak olursak RHK olan hastalardan yalnızca berrak hücreli alt tip ile papiller tip patolojisine sahip hastalar kıyaslanabilmiştir. Bu iki hücre tipi arasında PAI-1, mikroRNA-143 ve mikroRNA-145 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel fark gösterilememiştir (p değerleri sırasıyla

0,626; 0,906; 0,133 olarak saptanmıştır.). Benzer şekilde Fuhrman Derecesi 2 ile 3 birbiri ile, tümör evreleri (1-3) ve metastaz varlığı çalışılan biyobelirteçler açısından kıyaslandığında sadece Evre 1-2 arasında mikroRNA-145 açısından istatistiksel anlamlı bir fark gösterilebilmiştir. Bu değerlendirmelerin güç analizleri yapıldığında çoğu değerlendirme için yeterli hasta sayısının olmadığı gözlenmiştir. Post-hoc güç analizi %40' ın üzerinde gösterilememiştir. Bu gerek PAI-1 için gerekse mikroRNA 143-145 için prognostik öneme sahip olmadıklarını belirtmek için yeterli hasta sayısına ulaşamadığını işaret etmektedir. Mevcut çalışmanın daha yüksek hasta sayıları ile devam ettirilmesi ve yüksek güçlü analizlerin yapılması ile ancak bu üç biyobelirtecin RHK'da yerinin olmadığı belirtilebilir.



6. SONUÇ

Renal hücreli kanser ile PAI-1, mikroRNA 143- 145 gibi üç biyobelirtecini ilişkisini ve prognostik önemi araştıran çalışmamız konu ile ilgili kısıtlı sayıdaki araştırmalardan biridir. Bu pilot çalışma üç biyobelirteç ile RHK arasındaki ilişkiyi net olarak ortaya koyamamıştır. Mevcut çalışma uzun takip süresi olan, progresyonun ve hastalığa bağlı mortalitenin de olduğu daha geniş bir RHK hasta kohortu ile prospektif olarak değerlendirilmesinin gerekliliğini göstermiştir.



7. KAYNAKLAR

1. *Renal Cancer*. Harrison's Principles of Internal Medicine, 2012: p. 793.
2. MacLennan, G., *Neoplasms of the kidney*. Urologic Surgical Pathology, 2008: p. 82-112
3. Benichou, J., et al., *Population attributable risk of renal cell cancer in Minnesota*. Am J Epidemiol, 1998. **148**(5): p. 424-30.
4. Chow, W.H., et al., *Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men*. N Engl J Med, 2000. **343**(18): p. 1305-11.
5. Gordon, S.C., et al., *Risk for renal cell carcinoma in chronic hepatitis C infection*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010. **19**(4): p. 1066-73.
6. Hunt, J.D., et al., *Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies*. Int J Cancer, 2005. **114**(1): p. 101-8.
7. Ishikawa, I., et al., *Twenty-year follow-up of acquired renal cystic disease*. Clin Nephrol, 2003. **59**(3): p. 153-9.
8. Duffy, M.J., P.M. McGowan, and W.M. Gallagher, *Cancer invasion and metastasis: changing views*. J Pathol, 2008. **214**(3): p. 283-93.
9. McMahon, B. and H.C. Kwaan, *The plasminogen activator system and cancer*. Pathophysiol Haemost Thromb, 2008. **36**(3-4): p. 184-94.
10. Mondino, A. and F. Blasi, *uPA and uPAR in fibrinolysis, immunity and pathology*. Trends Immunol, 2004. **25**(8): p. 450-5.
11. Mengele, K., et al., *Characteristics of the level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1*. Expert Rev Mol Diagn, 2010. **10**(7): p. 947-62.
12. Duffy, M.J., *The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy*. Curr Pharm Des, 2004. **10**(1): p. 39-49.
13. Dass, K., et al., *Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers*. Cancer Treat Rev, 2008. **34**(2): p. 122-36.
14. Duffy, M.J., et al., *Urokinase plasminogen activator: a prognostic marker in multiple types of cancer*. J Surg Oncol, 1999. **71**(2): p. 130-5.
15. Schmitt, M., et al., *Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis: prognostic relevance and target for therapy*. Thromb Haemost, 1997. **78**(1): p. 285-96.
16. Schmitt, M., et al., *Clinical utility of level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1*. Expert Rev Mol Diagn, 2010. **10**(8): p. 1051-67.
17. Bashar, H., et al., *Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor 1 in urinary tract cancer*. Urol Int, 1994. **52**(1): p. 4-8.
18. Hofmann, R., et al., *Clinical relevance of urokinase plasminogen activator, its receptor, and its inhibitor in patients with renal cell carcinoma*. Cancer, 1996. **78**(3): p. 487-92.
19. Hofmann, R., et al., *Prognostic value of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in renal cell cancer*. J Urol, 1996. **155**(3): p. 858-62.
20. Ohba, K., et al., *Expression of urokinase-type plasminogen activator, urokinase-type plasminogen activator receptor and plasminogen activator inhibitors in patients with renal cell carcinoma: correlation with tumor associated macrophage and prognosis*. J Urol, 2005. **174**(2): p. 461-5.
21. Bartel, D.P., *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function*. Cell, 2004. **116**(2): p. 281-97.

22. Friedman, R.C., et al., *Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs*. Genome research, 2009. **19**(1): p. 92-105.
23. Esquela-Kerscher, A. and F.J. Slack, *Oncomirs—microRNAs with a role in cancer*. Nature Reviews Cancer, 2006. **6**(4): p. 259-269.
24. Villadsen, S.B., et al., *The miR-143/-145 cluster regulates plasminogen activator inhibitor-1 in bladder cancer*. British journal of cancer, 2012. **106**(2): p. 366-374.
25. Zhang, J., et al., *Loss of microRNA-143/145 disturbs cellular growth and apoptosis of human epithelial cancers by impairing the MDM2-p53 feedback loop*. Oncogene, 2013. **32**(1): p. 61-69.
26. Dostalova Merkerova, M., et al., *Distinctive microRNA expression profiles in CD34+ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome*. Eur J Hum Genet, 2011. **19**(3): p. 313-9.
27. Eble, J., G. Sauter, and J. Epstein, *Pathology and genetics of tumors of the urinary system and male genital organs*, in *World Health Organization Classification of Tumors*, I. Sesterhenn, Editor. 2004, IARC: Lyons. p. 7.
28. Fidaner, C., S. Eser, and D. Parkin, *Incidence in Izmir in 1993–1994: first results from Izmir Cancer Registry*. European Journal of Cancer, 2001. **37**(1): p. 83-92.
29. Lindblad, P., *Epidemiology of renal cell carcinoma*. SCANDINAVIAN JOURNAL OF SURGERY., 2004. **93**: p. 88-96.
30. Murphy, W., J. Beckwith, and G. Farrow, *Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures*, in *Normal Anatomy*, S.L. Rosai J, Editor. 1994, AFIP. p. 1-11.
31. Ordonez, N. and J. Rosai, *Renal Cell Carcinoma*. Surgical Pathology 9th ed. Mosby, 2004: p. 1251-1263.
32. Botswick, D. and L. Cheng, in *Urological Surgical Pathology*. 2014, Elsevier Saunders: Philadelphia.
33. Eble, J., *Renal Neoplasia*, in *Modern Surgical Pathology*, N. Weidner, et al., Editors. 2003, Saunders. p. 1065-1101.
34. Asanuma, H., et al., *Renal cell carcinoma in children: experience at a single institution in Japan*. The Journal of urology, 1999. **162**(4): p. 1402-1405.
35. Castellanos, R., B. Aron, and A. Evans, *Renal adenocarcinoma in children: incidence, therapy and prognosis*. The Journal of urology, 1974. **111**(4): p. 534.
36. Chan, H.S., et al., *Renal cell carcinoma in the first two decades of life*. Pediatric radiology, 1983. **13**(6): p. 324-328.
37. Freedman, A.L., et al., *Renal cell carcinoma in children: the Detroit experience*. The Journal of urology, 1996. **155**(5): p. 1708-1710.
38. Kirkali, Z., E. Tuzel, and M. Mungan, *Recent advances in kidney cancer and metastatic disease*. BJU international, 2001. **88**(8): p. 818-824.
39. Ritchie, A. and G. Chisholm, *The natural history of renal carcinoma*. Semin Oncol, 1983. **10**(4): p. 390-400.
40. Kato, M., et al., *Natural history of small renal cell carcinoma: evaluation of growth rate, histological grade, cell proliferation and apoptosis*. The Journal of urology, 2004. **172**(3): p. 863-866.
41. Patard, J.J., et al., *Prognostic significance of the mode of detection in renal tumours*. BJU international, 2002. **90**(4): p. 358-363.
42. Tsui, K.-H., et al., *Renal cell carcinoma: prognostic significance of incidentally detected tumors*. The Journal of urology, 2000. **163**(2): p. 426-430.

43. Dhote, R., et al., *Risk factors for adult renal cell carcinoma: a systematic review and implications for prevention*. BJU international, 2000. **86**(1): p. 20-27.
44. Hunt, J.D., et al., *Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: Meta-analysis of 24 studies*. International journal of cancer, 2005. **114**(1): p. 101-108.
45. WEIRICH, G., et al., *Familial renal oncocytoma: clinicopathological study of 5 families*. The Journal of urology, 1998. **160**(2): p. 335-340.
46. Van den Berg, E., et al., *Cytogenetic analysis of epithelial renal-cell tumors: Relationship with a new histopathological classification*. International journal of cancer, 1993. **55**(2): p. 223-227.
47. Oyasu, R., *Renal cancer: histologic classification update*. International Journal of Clinical Oncology, 1998. **3**(3): p. 125-133.
48. Farrow, G., *Diseases of the kidney*, in *Urological Pathology*, W. Murphy, Editor. 1997, WB Saunders: Philadelphia. p. 464-470.
49. Novick, A.C. and S.C. Campbell, *Renal tumors*. Campbell's urology, 2002. **8**: p. 2672-2731.
50. Skinner, D., R. Pfister, and R. Colvin, *Extension of renal cell carcinoma into the vena cava: the rationale for aggressive surgical management*. The Journal of urology, 1972. **107**(5): p. 711-716.
51. Campbell, S., P. Russo, and A. Sheinfeld, *Papillary renal cell carcinoma Clinical and pathological features*. J Urol, 1997: p. 157-237.
52. Campbell, S.C., et al., *Intraoperative evaluation of renal cell carcinoma: a prospective study of the role of ultrasonography and histopathological frozen sections*. The Journal of urology, 1996. **155**(4): p. 1191-1195.
53. Störkel, S., et al., *Classification of renal cell carcinoma*. Cancer, 1997. **80**(5): p. 987-989.
54. Fuhrman, S.A., L.C. Lasky, and C. Limas, *Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma*. The American journal of surgical pathology, 1982. **6**(7): p. 655-664.
55. Thoenes, W. and H. Rumpelt, *Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas): the basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics*. Pathology-Research and Practice, 1986. **181**(2): p. 125-143.
56. Gelb, A.B., *Renal cell carcinoma*. Cancer, 1997. **80**(5): p. 981-986.
57. Zhou, M., et al., *Renal tubulocystic carcinoma is closely related to papillary renal cell carcinoma: implications for pathologic classification*. The American journal of surgical pathology, 2009. **33**(12): p. 1840-1849.
58. Crotty, T.B., G.M. Farrow, and M.M. Lieber, *Chromophobe cell renal carcinoma: clinicopathological features of 50 cases*. The Journal of urology, 1995. **154**(3): p. 964-967.
59. Renshaw, A.A. and C.L. Corless, *Histology and Immunohistochemistry*. The American journal of surgical pathology, 1995. **19**(7): p. 842-849.
60. Lau, W.K., et al., *Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy*. Urology, 2002. **59**(4): p. 532-537.
61. Campbell, S., P. Russo, and G. Hamed, *Chromophobe cell carcinoma of the kidney: a clinicopathologic study*. J Urol, 1996. **155**: p. 385A.
62. Renshaw, A.A., et al., *Aggressive variants of chromophobe renal cell carcinoma*. Cancer, 1996. **78**(8): p. 1756-1761.
63. Usubütün, A., et al., *Six chromophobe cell carcinomas and one mixed renal*. British journal of urology, 1996. **78**(2): p. 183-186.
64. Carter, M., et al., *Collecting duct carcinoma of the kidney: a case report and review of the literature*. The Journal of urology, 1992. **147**(4): p. 1096-1098.

65. Bonsib, S.M., *Risk and prognosis in renal neoplasms: A pathologist's prospective*. Urologic Clinics of North America, 1999. **26**(3): p. 643-660.
66. Kirkali, Z., İ. Celebi, and G. Akan, *Bellini duct (collecting duct) carcinoma of the kidney*, in *Urology* 1996. 1996. p. 92-923.
67. Davis Jr, C.J., F. Mostofi, and I.A. Sesterhenn, *Renal Medullary Carcinoma The Seventh Sickle Cell Nephropathy*. The American journal of surgical pathology, 1995. **19**(1): p. 1-11.
68. Ro, J.Y., et al., *Sarcomatoid renal cell carcinoma: clinicopathologic. A study of 42 cases*. Cancer, 1987. **59**(3): p. 516-526.
69. Sobin, L. and C. Wittekind, *International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumors 6th edn* John Wiley & Sons. Inc: New York, 2002.
70. Ficarra, V., et al., *Multiinstitutional European validation of the 2002 TNM staging system in conventional and papillary localized renal cell carcinoma*. Cancer, 2005. **104**(5): p. 968-974.
71. Frank, I., et al., *Independent validation of the 2002 American Joint Committee on cancer primary tumor classification for renal cell carcinoma using a large, single institution cohort*. The Journal of urology, 2005. **173**(6): p. 1889-1892.
72. Salama, M., et al., *pT1 substaging in renal cell carcinoma: validation of the 2002 TNM staging modification of malignant renal epithelial tumors*. The Journal of urology, 2005. **173**(5): p. 1492-1495.
73. Bonsib, S.M., *The renal sinus is the principal invasive pathway: a prospective study of 100 renal cell carcinomas*. The American journal of surgical pathology, 2004. **28**(12): p. 1594-1600.
74. Thompson, R.H., et al., *Is renal sinus fat invasion the same as perinephric fat invasion for pT3a renal cell carcinoma?* The Journal of urology, 2005. **174**(4): p. 1218-1221.
75. Han, K.-R., et al., *TNM T3a renal cell carcinoma: adrenal gland involvement is not the same as renal fat invasion*. The Journal of urology, 2003. **169**(3): p. 899-904.
76. Thompson, R.H., et al., *Should direct ipsilateral adrenal invasion from renal cell carcinoma be classified as pT3a?* The Journal of urology, 2005. **173**(3): p. 918-921.
77. Thompson, R.H., et al., *Reclassification of patients with pT3 and pT4 renal cell carcinoma improves prognostic accuracy*. Cancer, 2005. **104**(1): p. 53-60.
78. Terrone, C., et al., *Reassessing the current TNM lymph node staging for renal cell carcinoma*. European urology, 2006. **49**(2): p. 324-331.
79. Heidenreich, A. and V. Ravery, *Preoperative imaging in renal cell cancer*. World journal of urology, 2004. **22**(5): p. 307-315.
80. Sheth, S., et al., *Current Concepts in the Diagnosis and Management of Renal Cell Carcinoma: Role of Multidetector CT and Three-dimensional CT 1*. Radiographics, 2001. **21**(suppl_1): p. S237-S254.
81. Lam, J.S., et al., *Renal cell carcinoma 2005: new frontiers in staging, prognostication and targeted molecular therapy*. The Journal of urology, 2005. **173**(6): p. 1853-1862.
82. Lang, H., et al., *Multicenter determination of optimal interobserver agreement using the Fuhrman grading system for renal cell carcinoma*. Cancer, 2005. **103**(3): p. 625-629.
83. Cheville, J.C., et al., *Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma*. The American journal of surgical pathology, 2003. **27**(5): p. 612-624.

84. Patard, J.-J., et al., *Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience*. Journal of Clinical Oncology, 2005. **23**(12): p. 2763-2771.
85. Delahunt, B., et al., *Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases*. Human pathology, 2001. **32**(6): p. 590-595.
86. Furge, K.A., et al., *Robust classification of renal cell carcinoma based on gene expression data and predicted cytogenetic profiles*. Cancer research, 2004. **64**(12): p. 4117-4121.
87. Linehan, W.M., et al., *Genetic basis of cancer of the kidney disease-specific approaches to therapy*. Clinical cancer research, 2004. **10**(18): p. 6282S-6289S.
88. Yang, X.J., et al., *A molecular classification of papillary renal cell carcinoma*. Cancer research, 2005. **65**(13): p. 5628-5637.
89. Bensalah, K., et al., *Prognostic value of thrombocytosis in renal cell carcinoma*. The Journal of urology, 2006. **175**(3): p. 859-863.
90. Kim, H.L., et al., *Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis*. The Journal of urology, 2003. **170**(5): p. 1742-1746.
91. Kim, H.L., et al., *Cachexia-like symptoms predict a worse prognosis in localized t1 renal cell carcinoma*. The Journal of urology, 2004. **171**(5): p. 1810-1813.
92. Patard, J.-J., et al., *Multi-institutional validation of a symptom based classification for renal cell carcinoma*. The Journal of urology, 2004. **172**(3): p. 858-862.
93. Patard, J.-J., et al., *Correlation between symptom graduation, tumor characteristics and survival in renal cell carcinoma*. European urology, 2003. **44**(2): p. 226-232.
94. Zhao, H., et al., *Gene expression profiling predicts survival in conventional renal cell carcinoma*. PLoS Med, 2005. **3**(1): p. e13.
95. Frank, I., et al., *An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score*. The Journal of urology, 2002. **168**(6): p. 2395-2400.
96. KATTAN, M.W., et al., *A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma*. The Journal of urology, 2001. **166**(1): p. 63-67.
97. Leibovich, B.C., et al., *Prediction of progression after radical nephrectomy for patients with clear cell renal cell carcinoma*. Cancer, 2003. **97**(7): p. 1663-1671.
98. Zisman, A., et al., *Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system*. Journal of Clinical Oncology, 2001. **19**(6): p. 1649-1657.
99. Ambros, V. and X. Chen, *The regulation of genes and genomes by small RNAs*. Development, 2007. **134**(9): p. 1635-1641.
100. Bahadori, M., *New Advances in RNAs*. Arch Iran Med.2008, 2008. **11**(4): p. 435-443.
101. Wiemer, E.A., *The role of microRNAs in cancer: no small matter*. European Journal of Cancer, 2007. **43**(10): p. 1529-1544.
102. He, L. and G.J. Hannon, *MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation*. Nature Reviews Genetics, 2004. **5**(7): p. 522-531.
103. Lund, E., et al., *Nuclear export of microRNA precursors*. Science, 2004. **303**(5654): p. 95-98.

104. Garzon, R., et al., *MicroRNA expression and function in cancer*. Trends in molecular medicine, 2006. **12**(12): p. 580-587.
105. Cimmino, A., et al., *miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005. **102**(39): p. 13944-13949.
106. Kohler, H.P. and P.J. Grant, *Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease*. N Engl J Med, 2000. **342**(24): p. 1792-801.
107. Carroll, V.A. and B.R. Binder. *The role of the plasminogen activation system in cancer*. in *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 1999. Copyright© 1999 by Thieme Medical Publishers, Inc.
108. Lijnen, H., *Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005. **3**(1): p. 35-45.
109. Andreasen, P., R. Egelund, and H. Petersen, *The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis*. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 2000. **57**(1): p. 25-40.
110. Kruithof, E., *Plasminogen activator inhibitors*. Enzyme, 1988. **40**: p. 113-21.
111. Wiman, B. and A. Hamsten. *The fibrinolytic enzyme system and its role in the etiology of thromboembolic disease*. in *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 1990. Copyright© 1990 by Thieme Medical Publishers, Inc.
112. Dawson, S., et al., *Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity*. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 1991. **11**(1): p. 183-190.
113. Gils, A., et al., *Biochemical importance of glycosylation of plasminogen activator inhibitor-1*. Thrombosis and haemostasis, 2003. **90**(2): p. 206-217.
114. Klinger, K., et al., *Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21. 3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1987. **84**(23): p. 8548-8552.
115. Declerck, P., et al., *Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor 1 binding protein from human plasma. Identification as a multimeric form of S protein (vitronectin)*. Journal of Biological Chemistry, 1988. **263**(30): p. 15454-15461.
116. Reilly, C. and J.E. Hutzemann, *Plasminogen activator inhibitor-1 binds to fibrin and inhibits tissue-type plasminogen activator-mediated fibrin dissolution*. Journal of Biological Chemistry, 1992. **267**(24): p. 17128-17135.
117. Gibson, A., et al., *The use of fluorescent probes to characterize conformational changes in the interaction between vitronectin and plasminogen activator inhibitor-1*. Journal of Biological Chemistry, 1997. **272**(8): p. 5112-5121.
118. Deng, G., et al., *Is plasminogen activator inhibitor-1 the molecular switch that governs urokinase receptor-mediated cell adhesion and release?* The Journal of Cell Biology, 1996. **134**(6): p. 1563-1571.
119. Degryse, B., et al., *PAI-1 inhibits urokinase-induced chemotaxis by internalizing the urokinase receptor*. FEBS letters, 2001. **505**(2): p. 249-254.
120. Czekay, R.-P., et al., *Direct binding of occupied urokinase receptor (uPAR) to LDL receptor-related protein is required for endocytosis of uPAR and regulation of cell surface urokinase activity*. Molecular biology of the cell, 2001. **12**(5): p. 1467-1479.
121. Nykjaer, A., et al., *Recycling of the urokinase receptor upon internalization of the uPA: serpin complexes*. The EMBO Journal, 1997. **16**(10): p. 2610-2620.

122. Kj  ller, L., *The urokinase plasminogen activator receptor in the regulation of the actin cytoskeleton and cell motility*. Biological chemistry, 2002. **383**(1): p. 5-19.
123. Mondino, A., M. Resnati, and F. Blasi, *Structure and function of the urokinase receptor*. Thrombosis and haemostasis, 1999. **82**(1): p. 19-22.
124. Wei, Y., et al., *Urokinase receptors promote β 1 integrin function through interactions with integrin α 3 β 1*. Molecular biology of the cell, 2001. **12**(10): p. 2975-2986.
125. Chapman, H.A. and Y. Wie, *Protease crosstalk with integrins: the urokinase receptor paradigm*. Thrombosis and haemostasis, 2001. **86**(1): p. 124-9.
126. Czekay, R.-P., et al., *Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins*. The Journal of Cell Biology, 2003. **160**(5): p. 781-791.
127. Okumura, Y., et al., *Kinetic analysis of the interaction between vitronectin and the urokinase receptor*. Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(11): p. 9395-9404.
128. Stefansson, S. and D.A. Lawrence, *The serpin PAI-1 inhibits cell migration by blocking integrin α v β 3 binding to vitronectin*. Nature, 1996. **383**(6599): p. 441-443.
129. Sachdeva, K., et al., *Renal Cell Carcinoma*, in <http://www.emedicine.com/med/topic2002.htm>
130. Yoshino, H., et al., *Tumor-suppressive microRNA-143/145 cluster targets hexokinase-2 in renal cell carcinoma*. Cancer Sci, 2013. **104**(12): p. 1567-74.
131. Wotschovsky, Z., et al., *Identification of metastamirs as metastasis-associated microRNAs in clear cell renal cell carcinomas*. International journal of biological sciences, 2012. **8**(10): p. 1363-1374.
132. Doberstein, K., et al., *MicroRNA-145 targets the metalloprotease ADAM17 and is suppressed in renal cell carcinoma patients*. Neoplasia, 2013. **15**(2): p. 218-IN31.

8. EKLER

8.1. Ek 1. Etik Kurul Onayı



Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	09.2015.338	70737436-050.06.04-
	PROJE ADI	Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (Pai-1) Ve Bununla İlişkili Tümör Supresif Microrna 143/145'In Renal Hücreli Karsinom (Rcc) Patolojisinde Ve Klinik Evrelemesindeki Yeri	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Yrd. Doç. Dr. Yılören TANIDIR	

KARAR BİLGİLERİ	Tarih : 04 /12 / 2015 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.
-----------------	--

ÜYELER									
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi		Toplantıya katılım		İmza		
Prof.Dr. Haner DİREKENELİ	Romatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/ Başkan	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. Tülin ERGUN	Dermatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Başkan Yrd.	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. Handan KAYA	Patoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. M.Bahadır GÜLLÜOĞLU	Genel Cerrahi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. Atilla KARAALP	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. Semra SARDAŞ	Eczacı	M.Ü Eczacılık Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Prof.Dr. Başak DOĞAN	Diş Hekimi	M.Ü Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Doç.Dr. Elif KARAKOÇ AYDINER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Doç.Dr. Beste Melek ATASOY	Radyasyon Onkolojisi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Doç.Dr. Meltem KORAY	Diş Hekimi	İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Doç.Dr. Tolga GÜVEN	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Doç. Dr. Gürkan SERT	Hukukçu	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Yrd.Doç.Dr. Figen DEMİR	Halk Sağlığı	Acıbadem Üniv. Tıp Fak.	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Yrd.Doç.Dr. Pınar Mega TİBER	Biyofizik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			
Av. Ümit ERDEM	Sağlık Mensubu olmayan kişi	Serbest	Var	Yok	☐ Evet	☐ Hayır			

8.2. Ek 2. Özgeçmiş

8.2.1. Kişisel Bilgiler

İsim, Soyisim: Muhammed Sulukaya

Doğum Yeri ve Tarihi: 13 Eylül 1986 Bitlis

Medeni Durumu: Evli

İkamet Adresi: Sultantepe Mahallesi Yenidünya Sokak No:57/1 D:1 Üsküdar/
İstanbul

İletişim Bilgileri:

Cep Telefonu: 05303473510

E-posta Adresi: muhammedsulukaya@hotmail.com

8.2.2. Öğrenim bilgileri

Selahaddin Eyyubi Lisesi, 2001-2004

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2004-2011

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı 2012-2017

8.2.3. Uluslararası makaleler

1. Tufan Tarcan, Naşide Mangır, Ahmet Şahan, Yılören Tanıdır, **Muhammed Sulukaya**, Yalçın İlker. Safety and Efficacy of Retropubic or Transobturator Midurethral Slings in a Randomized Cohort of Turkish Women. Urol Int 2014;93:449-453

2. Yılören Tanıdır, Naşide Mangır, Ahmet Şahan, **Muhammed Sulukaya**. Turkish version of the Ureteral Stent Symptoms Questionnaire: linguistic and psychometric validation. World J Urol. 2016 Oct 20. pp 1–6

8.2.4. Ulusal makaleler

1. Cem Akbal, Ahmet Şahan, Asgar Garayev, Çağrı Akın Şekerci, **Muhammed Sulukaya**, Harika Alpay, Tufan Tarcan, Ferruh Şimşek. Assessment of Differential Renal Function in Children with Hydronephrosis:

Comparison of DMSA and MAG-3. J Urol Surg 2015; 2: 129-134. Doi: 10.4274/jus.366

2. Ahmet Şahan, Cem Akbal, Asgar Garayev, Çağrı Akın Şekerci, **Muhammed Sulukaya**, Yılören Tanıdır, İlker Tinay, Tufan Tarcan, Ferruh Şimşek. Can Surgical Technique Affect the Success of Endoscopic Treatment in Children with Vesicoureteral Reflux and Overactive Bladder Syndrome? J Urol Surg 2015; 2: 135-140. Doi: 10.4274/jus.367

3. Yılören Tanıdır, Ferhad Talibzade, **Muhammed Sulukaya**. Lokalize Böbrek Tümörlerinde Nefron Koruyucu Cerrahi Yaşam Kalitesi Açısından Bir Bakış. Derleme / Üroonkoloji Bülteni 2014;13:201-205 Bulletin of Urooncology 2014;13:201-205

4. Bahadır Şahin , **Muhammed Sulukaya**, İlker Tinay, Yılören Tanıdır, Feyyaz Baltacıoğlu, Levent Türkeri. Mesane Kanseri Kaynaklı İnatçı Kanamalarda Mikrokater Yöntemi ile Süperselektif Vezikal Arter Embolizasyonu. Orjinal Makale/ Üroonkoloji Bülteni Bulletin of Urooncology 2016;15:1-3

8.2.5. Uluslararası bildiriler

1. Ahmet Şahan, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, İlker Tinay, Yılören Tanıdır, Levent Türkeri. Does gender has an impact on the pathology of the renal masses. 1st Greek-Turkish Urological Meeting, 12-14 September 2014, Thessaloniki, Greece

2. Ahmet Şahan, Ferhat Talibzade, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, Tuncay Top, İlker Tinay, Yılören Tanıdır, Ferruh Şimşek. Is bacterial colonization in Urethral Double-J stents significant and is it predictable? 1st Greek-Turkish Urological Meeting, 12-14 September 2014, Thessaloniki, Greece

3. Ahmet Şahan, Ferhad Talibzade, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, Tuncay Top, İlker Tinay, Yılören Tanıdır, Ferruh Şimşek. Is bacterial colonization in Urethral Double-J stents significant and is it predictable? European Urology Supplements, Volume 14, Issue 2, April 2015, Pages

e1084-e1084a. 30th Anniversary EAU Congress, 20-24 March 2015, Madrid, Spain.

4. Tarık Emre Şener, **Muhammed Sulukaya**, Naşide Mangır, Hacı Murat Akgül, İlker Tinay, Levent Türkeri. Does the mass size of nephron sparing surgery (NSS) provide additional information for the prediction of benign lesions? European Urology Supplements, 2013 > 12 > 4 > e1358, S250

5. Bahadır Şahin, **Muhammed Sulukaya**, İlker Tinay, Feyyaz Baltacıoğlu, Levent Türkeri. Superselective embolization of the vesical artery for the control of intractable hematuria secondary to bladder cancer. European Urology Supplements, 2014 > 13 > 7 > e1472

6. Tarık Emre Şener, **Muhammed Sulukaya**, İlker Tinay, Levent Türkeri, Does the mass size of nephron sparing surgery (NSS) provide additional information for the prediction of benign lesions? EAU 9 th. South Eastern European Meeting(SEEM 9). 2013, Thessaloniki, Greece

8.2.6. Ulusal bildiriler

1. Ahmet Şahan, Cem Akbal, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, Yılören Tanıdır, İlker Tinay, Tufan Tarcan, Ferruh Şimşek. Sözlü Sunum:

Vezikoureteral Reflu Ve Aşırı Aktif Mesane Birlikteliğinde Endoskopik Tedavideki Farklı Cerrahi Teknikler Tedavi Başarısını Etkiler Mi? 2. Ulusal Ürolojik Cerrahi Derneği Kongresi 05-09 Kasım 2014 Kaya Palazzo Otel, Belek-Antalya

2. Ahmet Şahan, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, Tuncay Top, İlker Tinay, Ferruh Şimşek, Niyazi Levent Türkeri. Sözlü Sunum: Bobrek Kitleleri Patolojisinde Cinsiyetin Önemi Var mıdır? 2. Ulusal Ürolojik Cerrahi Derneği kongresi 05-09 Kasım 2014 Kaya Palazzo Otel, Belek-Antalya

3. Ahmet Şahan, Cem Akbal, Çağrı Akın Şekerci, **Muhammed Sulukaya**, Asgar Garayev, Tufan Tarcan, Ferruh Şimşek. Sözlü Sunum: Vezikoureteral Reflunun Endoskopik Tedavisiyle Düzelen Reflülerin Takipte Tekrarlama Oranları Nedir? 2. Ulusal Ürolojik Cerrahi Derneği kongresi 05-09 Kasım 2014 Kaya Palazzo Otel, Belek-Antalya

4. Asgar Garayev, Farhad Talibzade, **Muhammed Sulukaya**, Ahmet Keleş, Yılören Tanıdır, Levent Niyazi Türkeri, Ferruh Şimşek, İlker Tinay.

“Laparoskopik - Açık ” Radikal Nefrektomi: Renal Fonksiyon ve Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması. 12.Üroonkoloji kongresi 18-22 Kasım, Sueno Deluxe Otel, Belek – Antalya.

5. Yılören Tanıdır, Farhad Talibzade, Ahmet Şahan, Asgar Garayev, Tuncay Top, **Muhammed Sulukaya**, Tarık Emre Şener, Çağrı Akın Şekerci, Cem Akbal, Cevdet Kaya, Ahmet Rahmi Onur, Haydar Kamil Çam, Ferruh Şimşek. Üreteral double j stentlerde bakteri kolonizasyonu anlamlı midir ve önceden tahmin edilebilir mi? 4. Minimal İnvaziv Ürolojik Cerrahi Kongresi, 3-6 Mart 2016, Titanic Deluxe Otel, Belek-Antalya.

6. Yılören Tanıdır, Farhad Talibzade, Ahmet Şahan, Asgar Garayev, **Muhammed Sulukaya**, Tarık Emre Şener, Çağrı Akın Şekerci, Cem Akbal, Cevdet Kaya, Haydar Kamil Çam, Ferruh Şimşek. Erişkin hastalarda üreteral double J stentlerde bakteri kolonizasyonu anlamlıdır ve önceden tahmin edilebilir mi? 3. Ürolojik Cerrahi Kongresi, 2-6 Kasım 2016, Antalya.

7. Tarık Emre Şener, **Muhammed Sulukaya**, Naşide Mangır, Murat Akgül, İlker Tinay, Levent Türkeri. Nefron koruyucu cerrahide kitle boyutu benign lezyonları öngörme konusunda ek bilgi sağlar mı? 11. Üroonkoloji Kongresi, 6-10 Kasım 2013, Cornelia Diamond Otel, Belek, Antalya

8. Murat Akgül, **Muhammed Sulukaya**, Özgür Baykan, Ahmet Şahan, Tarık Emre Şener, İlker Tinay, Levent Türkeri. Prostat kanserinde tiroid hormonlarının rolü. 11. Üroonkoloji Kongresi, 6-10 Kasım 2013, Cornelia Diamond Otel, Belek, Antalya

9. Yılören Tanıdır , **Muhammed Sulukaya**, Ahmet Şahan, Aşkın Şeker, İlker Tinay. Prostat kanserinin nadir bir metastazı : İntrakraniyel kitle. Disiplinler Arası Üroonkoloji Toplantısı Oc. 30, 2014

8.2.7. Ulusal ve uluslararası üyelikler

1. European Association of Urology Üyeliği (Junior Member)
2. Ürolojik Cerrahi Derneği