



**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RENAL HÜCRELİ KARSİNOMDA  
TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR İLİŞKİLİ  
APOPTOZ UYARICI LİGAND (TRAIL)  
VE RESEPTÖRLERİNİN EKSPRESYONU**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet KISAARSLAN**

**Antalya, 2014**



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**RENAL HÜCRELİ KARSİNOMDA  
TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR İLİŞKİLİ  
APOPTOZ UYARICI LİGAND (TRAIL)  
VE RESEPTÖRLERİNİN EKSPRESYONU**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet KISAARSLAN**

**Tez Danışmanı: Prof.Dr. İ. Türker KÖKSAL**

*“Kaynak gösterilerek tezinden yararlanılabilir”*

**Antalya, 2014**

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2013.04.0103.023 Proje No ile desteklenmiştir.

## TEŐEKKÜR

*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Üroloji Anabilim Dalı'nda eğitimim süresince  
emeği geçen tüm hocalarıma ve mesai arkadaşlarıma;*

*Tezime katkı ve yardımlarından dolayı, danışman hocam Prof.Dr. İ. Türker  
Köksal'a;*

*Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan;*

*Prof.Dr. Bahar Akkaya'ya,*

*Uzm.Dr. H. Serap Toru'ya,*

*Araş.Gör. Öncel İpekçi'ye,*

*Araş.Tek. Şükran Karaaslan'a;*

*Çalışmanın istatistiksel analizini planlayan ve yapan Dr. Selen Bozkurt'a;*

*Desteklerini esirgemeyen Dr. Tümay İpekçi'ye;*

*Son olarak aileme ve beni her zaman destekleyen, yalnız bırakmayan sevgili eşim  
Mihriban Kısaarslan'a ve canım oğlum Kađan Kısaarslan'a en içten saygı, sevgi  
ve teşekkürlerimi sunuyorum.*

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar Dizini</b>	<b>iv</b>
<b>Şekiller Dizini</b>	<b>vii</b>
<b>Çizelgeler Dizini</b>	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Böbrek Tümörleri	3
2.2. Renal Hücreli Karsinom	3
2.2.1. İnsidans	3
2.2.2. Etiyoloji	5
2.2.3. Ailesel renal hücreli karsinom	7
2.2.4. Tümör biyolojisi	8
2.2.5. Patoloji	12
2.2.6. Klinik prezentasyon	15
2.2.7. Evreleme	17
2.2.8. Prognoz ve prognostik faktörler	18
2.2.9. Lokal ve lokal ileri evre RHK tedavisi	20
2.2.10. İleri evre RHK tedavisi	22
2.3. Apoptoz	26
2.4. TRAIL	27
2.4.1. TRAIL ve apoptoz	29
2.4.2. TRAIL ve nonapoptotik yolak	31
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>32</b>
3.1. Dokuların Elde Edilmesi	32
3.2. İmmünohistokimyasal Protokol	32
3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	32
3.4. İstatistiksel Yöntem	33

<b>4. BULGULAR</b>	<b>34</b>
4.1. Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri	34
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	35
<b>5. SONUÇLAR</b>	<b>47</b>
<b>6. TARTIŞMA</b>	<b>48</b>
<b>7. ÖZET</b>	<b>53</b>
<b>8. ABSTRACT</b>	<b>55</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b>	<b>57</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>ALP</b>	Alkalin fosfataz
<b>AUA</b>	Amerikan Üroloji Birliği
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>CA-IX</b>	Karbonik anhidraz-IX
<b>CARD</b>	Kaspaz aktive eden bölge
<b>c-FLIP</b>	Cellular FLICE inhibitory protein
<b>CUL-2</b>	Cullin 2
<b>DcR</b>	Decoy receptor (Tuzak reseptör)
<b>DD</b>	Death domain (Ölüm domeini)
<b>DED</b>	Death effector domain (Ölüm oluşturan bölge)
<b>DISC</b>	Death inducing signaling complex (Ölüm başlatıcı sinyalleme kompleksi)
<b>DR</b>	Death receptor
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>EAU</b>	Avrupa Üroloji Birliği
<b>EORTC</b>	European Organization for Research and Treatment of Cancer
<b>FADD</b>	Fas-associated protein with domain
<b>FasL</b>	Fas ligand
<b>FH</b>	Fumarat hidrataz
<b>FLT-3</b>	Fms-like tirozin kinaz 3
<b>G1</b>	Fuhrmann nükleer grade 1
<b>G2</b>	Fuhrmann nükleer grade 2
<b>G3</b>	Fuhrmann nükleer grade 3
<b>G4</b>	Fuhrmann nükleer grade 4
<b>GLUT-1</b>	Glucose transporter 1
<b>HIF</b>	Hipoksi ile indüklenen faktör

<b>HIF1-<math>\alpha</math></b>	Hypoxia inducible factor 1 $\alpha$
<b>HPRHK</b>	Hereditör papiller renal hücreli karsinom
<b>IAP</b>	Inhibitor of apoptosis proteins
<b>IFN-<math>\alpha</math></b>	İnterferon-alfa
<b>IKK</b>	I $\kappa$ B kinaz
<b>IL-1</b>	İnterlökin 1
<b>IL-2</b>	İnterlökin-2
<b>JNK</b>	Janus kinaz
<b>LDH</b>	Laktat dehidrojenaz
<b>MAPK</b>	Mitogen activated protein kinases
<b>MDR</b>	Multidrug resistance protein
<b>MRG</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>mTOR</b>	Mammalian target of rapamycin
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Nükleer faktör-kappaB
<b>OPG</b>	Osteoprotegrin
<b>PDGF</b>	Platelet derived growth factor
<b>PDGFR</b>	Platelet derived growth factor receptor
<b>PKB</b>	Protein kinaz B
<b>PLAD</b>	Preligand assembly domain
<b>PN</b>	Parsiyel nefrektomi
<b>PTEN</b>	Fosfataz ve tensin homolog gen
<b>R1</b>	TRAIL reseptör 1
<b>R2</b>	TRAIL reseptör 2
<b>R3</b>	TRAIL reseptör 3
<b>R4</b>	TRAIL reseptör 4
<b>RHK</b>	Renal hücreli karsinom
<b>RIP1</b>	Receptor interacting protein 1
<b>RN</b>	Radikal nefrektomi
<b>SWOG</b>	Southwest Oncology Group
<b>tBid</b>	Truncated Bid

<b>TGF-<math>\alpha</math></b>	Tümör growth factor alfa
<b>TNM</b>	Tümör nod metastaz
<b>TRADD</b>	TNF receptor type 1 associated death domain
<b>TRAF2</b>	TNF receptor associated factor 2
<b>TRAIL</b>	Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand
<b>TRAIL-R1/DR4</b>	Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand receptors 1/Death receptor 4
<b>TRAIL-R2/DR5</b>	Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand receptors 2/Death receptor 5
<b>TRAIL-R3/DcR1</b>	Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand receptors 3/Decoy receptor 1
<b>TRAIL-R4/DcR2</b>	Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand receptors 4/Decoy receptor 2
<b>UICC</b>	Union for International Cancer Control
<b>USG</b>	Ultrasonografi
<b>XIAP</b>	X linked inhibitor of apoptosis proteins
<b>VEGF</b>	Vasküler endotelyal growth faktör
<b>VEGFR</b>	Vascular endothelial growth factor receptor
<b>VHL</b>	von Hippel-Lindau
<b>VKI</b>	Vena kava inferior

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b><u>Çizelge</u></b>		<b><u>Sayfa</u></b>
2.1.	2004 Dünya Sağlık Örgütü. böbrek tümörlerinin histopatolojik sınıflaması	4
2.2.	RHK için 2010 TNM sınıflaması	17
2.3.	TNM evre grupları	18
4.1.	Hastaların klinik ve patolojik özellikleri	35
4.2.	TRAIL ve TRAIL-R ekspresyonunun klinik ve patolojik özelliklerle karşılaştırılması.	37

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. VEGF'nin VHL geni tarafından kontrolü. Normal şartlarda VHL proteini HIF1- $\alpha$ 'yı degrade etmektedir. RHK'de mutant gen ürünü olan VHL proteini degradasyonu gerçekleştirmez ve HIF1- $\alpha$ birikimi VEGF ve diğer faktörlerin artışına yol açar	11
2.2. RHK'nın hedefe yönelik tedavisinde kullanılan biyolojik yolaklar ve ajanlar	24
2.3. Ekstrensik ve intrinsik apoptotik yolaklar	27
2.4. TRAIL ve reseptörleri	28
2.5. TRAIL-R1 ve R2'nin rol aldığı apoptoz yolakları	30
2.6. TRAIL'in nonapoptik sinyal yolakları	31
4.1. TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonu, kahverengi hücreler artmış ekspresyonu göstermektedir (5X,10X, 20X büyütme ile)	36
4.2. TRAIL ve reseptör ekspresyon seviyelerinin kansere özgü sağkalıma etkisi	40
4.3. TRAIL'in nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi	41
4.4. TRAIL-R1'in nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi	42
4.5. TRAIL-R2'in nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi	43
4.6. TRAIL-R3'ün nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi	44
4.7. Histolojik alt tipe göre TRAIL ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi	45
4.8. Histolojik alt tipe göre TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi	46
4.9. Histolojik alt tipe göre TRAIL-R2 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi	46
4.10. Histolojik alt tipe göre TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi	46

# 1. GİRİŞ

Böbrek kanserleri en sık görülen sekizinci kanserdir ve sadece Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ve Kanada'da yılda 15.000'den fazla ölüme neden olmaktadır (1). Renal hücreli karsinom (RHK) ise böbrek kanserlerinin en yaygın formudur ve tüm böbrek kanseri vakalarının %90'ına yakını oluşturur (2). İlk tanı anında, hastaların yaklaşık %70-80'i lokal hastalığa sahiptir ve cerrahi tedavi bu hastaların çoğunda etkilidir (2). Bununla birlikte, hastaların yaklaşık 1/3'ü ise metastatik hastalık ile başvurmaktadır (3,4). Metastatik RHK, kemoterapiye oldukça dirençlidir (5).

RHK'nın sistemik tedavisindeki dönüm noktası, doksanlı yılların başında immünoterapinin kullanılmaya başlanması olmuştur (6). 8-10 yıl öncesine kadar da interlökin 2 (IL-2) ve interferon alfa (IFN- $\alpha$ )'nın kullanıldığı immünoterapi RHK'nın sistemik tedavisinde başlıca seçenek olmuştur (7). IFN- $\alpha$  ile %6-15; toksisitesi daha fazla olan IL-2 ile %7-27 arasında değişen oranlarda tedavi yanıtı sağlanmıştır (8,9). Bununla birlikte uzun dönem takiplerde ise komplet yanıt veren hastalar oldukça nadirdir (10).

Son yıllarda ise renal hücreli kanser biyolojisinin daha iyi anlaşılması, vascular endothelial growth factor (VEGF) ve mammalian target of rapamycin (mTOR) yollarını hedef alan ve hedefe yönelik tedavi olarak adlandırılan moleküler tedavi yöntemlerinin gelişmesini sağlamıştır (3). Son 10 yıl boyunca bu moleküller ve reseptörleri üzerinden anjiogenezi hedef alan birçok ilaç, kullanım için onay almıştır (11,12). Bu ilaçların, progresyonsuz sağkalım açısından immünoterapiye üstün olduğu gösterilmiştir (6). Ancak yapılan bir meta analizde, anjiogenezi hedef alan bu ajanların metastatik RHK'da komplet yanıt oranını etkilemediği gösterilmiştir (6).

RHK'da prognozu öngörmeye ve metastatik hastalıkta sistemik tedaviye yönelik, çeşitli moleküller üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Birçok moleküler marker, RHK için bağımsız prognostik faktör olarak hizmet etmektedir (13): Karbonik anhidraz IX (CA-IX), T hücre regülatörü B7-H1 molekülü, Ki-67, tümör süpresör TP-53, VEGF'yi de içeren çeşitli büyüme faktörleri, adezyon molekülleri ve survivin (13,14,15).

Tümör nekroz faktör ile ilişkili apopitozis indükleyici ligand (TRAIL) üzerinde çalışılan moleküllerden birisidir. İlk kez 1996 yılında Ashkenazi ve ark. tarafından tanımlanan; 281 aminoasid içeren bir transmembran proteindir ve çeşitli hücre yüzeylerinde apopitozun indüklenmesinde rol oynayarak antitümör ve antiviral immün cevapta önemli bir role sahiptir (16). Apopitozu inükleyen iki adet ölüm reseptörü (death receptor-DR); DR4 (TRAIL-R1) ve DR5 (TRAIL-R2) olarak bilinir (17). Bunun dışında iki adet tuzak reseptör (decoy receptor-DcR) ise DcR1 (TRAIL-R3) ve DcR2 (TRAIL-R4) ise apopitozu inhibe etmektedir (17).

Bu çalışmanın amacı apopitoziste önemli bir rol oynayan ve kanserin hedefe yönelik tedavisinde yer alması beklenen TRAIL ve reseptörlerinin RHK'daki rolünü, aktivitesini ve dağılımını değerlendirmek; patolojik evre, tümör çapı, nükleer grade, histolojik tip gibi prognostik faktörlerle ilişkisini değerlendirerek prognoz üzerinde etkisi olup olmadığını ortaya koymaktır.

TRAIL ve reseptörlerinin hücre apopitozundaki kanıtlanmış rolleri göz önünde bulundurulduğunda bu moleküllerin böbrek tümörlerindeki ekspresyonunun değerlendirilmesi, tümör oluşumuyla, tümör tipleriyle ilişkisinin ortaya konulması ve prognostik faktörler üzerine etkisinin olup olmadığının gösterilmesi metastatik böbrek tümörlerinin tedavisinde yeni modalitelerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Böbrek Tümörleri**

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2004 sınıflandırmasında (Çizelge 2.1) böbrek tümörleri; renal hücreli, metanefrik, nefroblastik, mikst mezenkimal ve epitelyal, nöroendokrin tümörler ana başlıkları altında sınıflandırılmış, nöroblastom ve feokromositoma da ayrı tipler olarak yerini almıştır (18,19). Böbrek hücreli tümörler ise benign ve malign olarak iki gruba ayrılmaktadır. Papiller adenomlar, böbrek tümörlerinin büyük kısmını oluşturmakla birlikte klinik önem, renal hücreli karsinom (RHK) üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Böbrek kanserleri, tüm dünyada yeni kanser vakalarının yaklaşık olarak %2'sini oluşturmaktadır (20). Böbrek kanserlerinin yaklaşık %85'i renal hücre kaynaklı, %12'si böbrek toplayıcı sistemden kaynaklanan ürotelyal kanser ve kalan %2-3'ü diğer nadir kanserlerdir (21).

### **2.2. Renal Hücreli Karsinom**

#### **2.2.1. İnsidans**

Tüm erişkin dönem malign tümörlerinin %2-3'ünü oluşturan RHK, en fatal ürolojik kanserdir (22,23). Prostat ve mesane kanserli hastalar için mortalite oranları %20 iken, bu oran RHK hastalarında %30-40 civarındadır (22,23). Ürolojik kanserler arasında sıklık bakımından prostat ve mesane kanserinden sonra üçüncü sırada yer alır (24). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde her yıl yaklaşık olarak 54.000 RHK tanısı konulmakta ve bu hastaların 13.000'i hayatını kaybetmektedir (25,26,27). Avrupa'da ise 2008 yılında tüm kanserler içinde onuncu sırada görüldüğü bildirilmektedir (28).

RHK insidansı, yaklaşık olarak 12/100.000'dir (22,26,29,30,31). Erkeklerde, kadınlara göre daha sık görülmektedir (erkek: kadın= 3:2) ve tepe insidansına 60-70 yaşlar arasında ulaşmaktadır (23).

1970'li yıllardan bu yana, abdominal ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografinin (BT) yaygın kullanımıyla birlikte global olarak RHK insidansında %3-4 oranında bir artış olduğu görülmektedir (30,32,33). Buna rağmen son

yıllarda, insidansın İsveç, Polonya, Finlandiya ve Hollanda gibi bazı Avrupa ülkelerinde düşmekte olduğu gösterilmiştir (34).

2008 yılında RHK, global olarak 116.000 ölüme neden olmuştur ve mortalite oranları erkeklerde kadınlara göre 2 kat daha yüksektir (35).

RHK insidansı ve mortalitesi coğrafi olarak farklılık göstermektedir. İnsidans, Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da en yüksek; Hindistan, Japonya, Çin ve Afrika'da düşüktür (36). Mortalite ise yine Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa'da en yüksek; Afrika ve Asya'da en düşüktür (35).

**Çizelge 2.1.** 2004 Dünya Sağlık Örgütü böbrek tümörlerinin histopatolojik sınıflaması (Eble'den, 18).

<b>2004 Dünya Sağlık Örgütü böbrek tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması</b>
Renal hücreli tümörler
Malign
Berrak hücreli böbrek hücreli karsinom
Multiloküler berrak hücreli böbrek hücreli karsinom
Papiller böbrek hücreli karsinom (Tip 1 ve Tip 2)
Kromofob böbrek hücreli karsinom
Bellini'nin toplayıcı kanal karsinomu
Renal meduller karsinom
Xp11 translokasyon karsinomları
Nöroblastom sonrası gelişen karsinom
Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom
Sınıflandırılmayan böbrek hücreli karsinom
Benign
Papiller adenom
Onkositom
Metanefrik tümörler
Metanefrik adenom
Metanefrik adenofibrom
Metanefrik stromal tümörler
Nefroblastik tümörler
Nefrojenik kalıntılar
Nefroblastom
Parsiyel farklılaşma gösteren kistik nefroblastom
Nöroendokrin tümörler
Karsinoid
Nöroendokrin karsinom
Pirimitif nöroektodermal tümör
Nöroblastom
Feokromositoma
Diğer tümörler
Mezenkimal tümörler
Hematopoietik ve lenfoid tümörler
Germ hücreli tümörler
Metastatik tümörler

RHK, çocuklarda nadiren görülür ve çocukluk çağı renal tümörlerin %2.3-%6.6'sını oluşturur (37,38,39). Çocuklarda ortalama 8-9 yaşlarında görülmektedir. İnsidansı kız ve erkeklerde benzerdir (40).

RHK vakalarının çoğunluğu sporadik olup, ancak %2-3'ü ailesel kalıtım gösterir (41).

### **2.2.2. Etiyoloji**

Geleneksel olarak renal hücreli karsinomların, proksimal kıvrımlı tübüllerden köken aldığı düşünülür ve bu düşünce olasılıkla berrak hücreli ve papiller varyantlar için doğrudur (40). Bununla birlikte, RHK'nın kromofob ve toplayıcı duktus karsinomu gibi diğer histolojik alt tiplerinin nefronun daha distal komponentlerinden geliştiği kanıtlanmıştır (42,43,44).

RHK gelişimi için tanımlanmış risk faktörleri sigara içilmesi, hipertansiyon ve obezite gibi yaşam tarzıyla ilişkili faktörler yanında ailesel kanser sendromlarının varlığı olarak sayılabilir.

#### **Sigara**

Sigara kullanımı, kanser gelişimi için kabul edilen tek çevresel risk faktörüdür, ancak kontrol grubuna kıyasla 1.4 - 2.5 kat gibi orta derecede artmış bir risk oluşturmaktadır (40). Sigara içenlerde, içmeyenlerle karşılaştırıldığında, erkeklerde %50, kadınlarda ise %20 oranında daha fazla bir risk ortaya çıkmaktadır (45). Tütün ürünleri kullanımı, RHK vakalarının erkeklerde %20-30'undan, kadınlarda ise %10-20'sinden sorumludur (46,47). Tütün ürünlerinin tüm formları, risk artışından sorumlu tutulmakta ve risk artışı ile kümülatif doz arasında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır (41). Sigara ile ilişkili RHK riski, sigarayı bıraktıktan 10-15 yıl sonra erkeklerde %15; kadınlarda ise %30 azalmaktadır (45).

#### **Obezite**

Vücut kitle indeksinde her bir birimlik artışa karşılık, 1.07'lik artmış rölatif risk nedeniyle günümüzde obezite, RHK için kabul edilen bir diğer majör risk faktörüdür (40). Obezitenin gittikçe artan prevalansı, artış gösteren RHK

insidansını kısmen açıklayabilir (41). Obeziteye dayandırılabilen RHK oranı, ABD'nde %40'ın; Avrupa'da ise %30'un üzerindedir (48,49).

Obezite ve RHK ilişkisini açıklayan potansiyel mekanizmalar, kronik doku hipoksisi, insülin direnci, kompanse edilebilir hiperinsülinemi, değişmiş endokrin ortam ve adipokinlerin üretimi, obeziteyle indüklenen inflamatuvar yanıt ile lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres olarak sıralanabilir (50).

### **Hipertansiyon**

Hipertansiyon, RHK için üçüncü büyük risk faktörü olarak gözükmektedir (40). Epidemiyolojik çalışmalar, tiazid veya diğer antihipertansif ilaçlardan ziyade hipertansiyonun kendisinin RHK gelişimini etkilediğini göstermektedir (41). İsveç'te yapılan bir çalışmada, RHK riskinin kan basıncı yükselmesiyle artış gösterdiği, kan basıncındaki düşme ile azaldığı saptamasından yola çıkılarak efektif kan basıncı kontrolü ile RHK riskinin azaltılabileceği ileri sürülmüştür (51).

Hipertansiyon ve artmış RHK riskini açıklayan mekanizmalar net değildir. Hipertansiyona bağlı renal hasarın bir rolü olabileceği veya hipertansiyonun, renal tübüllerde karsinojenlere duyarlılığı arttıran metabolik veya fonksiyonel değişikliklerle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (41).

Hayvan modellerinde; virüsler, kurşun bileşenleri ve 100'den fazla kimyasal maddeyi de içine alan bir dizi potansiyel etiyolojik faktör tanımlanmış olsa da bunların hiçbiri insanda RHK için kesin risk faktörü olarak tanımlanmamıştır (40).

RHK, tipik bir mesleki bir hastalık olarak kabul edilmemekle birlikte, trikloretilen gibi karsinojen kabul edilen bir endüstriyel ajana maruziyet sonucunda, nedeni belli olmayan bir mekanizma ile, 2-6 kat artmış kanser riskinden bahsedilmektedir (40,52).

Edinilmiş kistik böbrek hastalığı, son dönem böbrek yetmezliği olan ve özellikle uzun süredir hemodiyaliz tedavisi altında olan hastalarda gelişir (53). Edinilmiş kistik böbrek hastalığı olanlarda RHK insidansı, normal popülasyona göre 3-6 kat daha fazladır (54). Diyaliz süresi uzadıkça insidans artmaktadır (41).

Vaka-kontrol çalışmaları, nedenleri tanımlanmamış olsa da, RHK'nın sosyoekonomik düzeyi düşük bireylerde daha yaygın olduğunu göstermiştir (55).

Yağ ve proteinden zengin, liften fakir batı tipi diyetin, artmış çay ve kahve tüketiminin yapılan çalışmalarda RHK ile ilişkili olduğu gösterilmiş olmakla birlikte rölatif riskin ılımlı olarak arttığı (40) ve geniş epidemiyolojik çalışmaların bu bulguları desteklemediği de dikkate alınmalıdır (41).

Geçmişte kontrast madde olarak kullanılan toryum diyoksitin (40) ve testis tümör tedavisi nedeniyle uygulanan retroperitoneal radyoterapinin RHK riskini artırdığı bildirilmiştir (56).

Bir diğer risk faktörü ise genetik yatkınlık olarak sayılabilir. Birinci veya ikinci derece bir akrabasında RHK olan bireylerde rölatif risk 2.9'dur (57).

### **2.2.3. Ailesel renal hücreli karsinom**

RHK'nın yaklaşık olarak %2-3'ü ailesel özellik gösterir (41, 58). Herediter böbrek tümörleri klinik olarak bilateral ve multiple olma eğilimindedir ve sporadik olanlara kıyasla daha erken yaşta ortaya çıkma potansiyeli taşırlar (59). Herediter böbrek tümörlerinin tanımlanmış dört major tipi bulunmaktadır ve klinik olarak, parçası oldukları sendromun diğer bulgularıyla birlikte görülebilirler.

### **Von Hippel-Lindau sendromu**

Berrak hücreli RHK'nın ailesel formu von Hippel-Lindau (VHL) sendromudur (40). 1/36.000'lik görülme oranıyla nispeten nadir, otozomal dominant bir bozukluktur (40). Major komponentleri; berrak hücreli RHK, feokromasitoma, retinal anjiom ve beyin sapı, serebellum veya spinal kordda hemanjioblastomlardır (60). Diğer önemli komponentleri; renal ve pankreatik kistler, iç kulak tümörleri ve epididim kistleridir (61). RHK, VHL sendromlu hastaların yaklaşık %50'sinde gelişir (36).

3. kromozomun kısa kolunda (3p25-26) yerleşmiş bir tümör süpresör gen olan VHL geninin, berrak hücreli RHK'nın hem sporadik, hem de ailesel formlarının oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (60). VHL mutasyonu hipoksiyle indüklenen faktör (HIF) 1 alfa ve 2 alfa'yı artırarak, vascular endothelial growth factor (VEGF) ekspresyonunun artışı üzerinden hücresel proliferasyon ve vaskülarizasyona neden olmaktadır (62).

### **Hereditör papiller renal hücreli karsinom**

Yedinci kromozomun uzun kolunda (7q31) bulunan c-MET onkojeninin mutasyonu hereditör papiller RHK (HPRHK)'u uyarmaktadır (36). Bu genin ürünü, hepatocyte growth factor reseptörü olan tirozin kinazın aktivasyonu hücrel proliferasyona ve diğör tümörojenik etkilere yol açmaktadır (62). Tip 1 papiller RHK, hereditör leyomyomatözde görülen Tip 2 papiller RHK'nın aksine klasik olarak bu sendromda görülür (40). Von Hippel-Lindau sendromunun aksine HPRHK hastalarının çoğunda diğör organlarda tümör yoktur (60). Tümörler erken yaşta ortaya çıkma ve bilateral olma eğilimindedir (40). Diğör hereditör böbrek tümörleri gibi otozomal dominant kalıtım gösterir (40).

### **Hereditör leyomyomatöz ve renal hücreli karsinom**

Kutanöz ve uterin leyomyom ve tip 2 papiller RHK'la karakterize otozomal dominant geçişli bir sendromdur (60). Diğör hereditör formların aksine, RHK'lar genellikle tek ve unilateral olma eğilimindedir ve diğör hereditör tümörlerden daha agresif seyrederek (64). Krebs siklusunda görev alan fumarat hidrataz (FH) enzimini kodlayan ve 1. kromozomda bulunan tümör supresör genin (1q42) mutasyonu ile ortaya çıkmaktadır (65).

### **Birt-Hogg-Dube sendromu**

Benign deri lezyonları, akciğör kistleri, spontan pnömotoraks ve çeşitli böbrek tümörleri ile karakterize otozomal dominant kalıtılan bir sendromdur (66). Böbrek tümörlerinin %50'si hibrid tümör (kromofob böbrek tümörü ve onkositom), %34'ü kromofob böbrek tümörü, %9'u berrak hücreli RHK ve %5'i onkositom olarak bildirilmektedir (67). Birt-Hogg-Dube sendromunda böbrek tümörlerinin çoğ, diğör hereditör tümörlere göre daha az agresif seyir gösterirler (36). 17. kromozomda (17p11.2) yerleşik, folikülin tümör supresör gen mutasyonları ile ilişkilidir (68).

#### **2.2.4. Tümör biyolojisi**

RHK, kemoterapiye dirençli bir kanserdir (40). Tümör biyolojisi üzerine yapılan çalışmalar, bu direncin nedenini ve ilerlemiş hastalıkta tedavi hedefi olabilecek VEGF ve mTOR gibi molekülleri ortaya çıkarmıştır (40). Çoklu ilaç

direnci proteinlerinin (multidrug resistance proteins-MDR) ekspresyonu RHK'nın kemoterapiye olan direncine katkıda bulunmaktadır (69). Ancak, cisplatin direncinin MDR proteinleriyle açıklanamaması ve yüksek gradeli tümörlerde ve metastazlarda MDR-1 (P-glikoprotein)'in down regülasyonu, direnç mekanizmalarında MDR proteinleri dışında faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir (40).

Çeşitli türden kanıtlar RHK'nın immünojenik bir tümör olduğunu göstermektedir ve bu bilgi, ilerlemiş hastalıkta immün sistemi tedavinin bir parçası haline getirmiştir (40). Tümörü infiltre eden immünojenik hücrelerin başlıcaları; tümör hücresi üzerindeki antijene özgünlük gösteren sitotoksik T hücreler, IL-1 ve IL-2 salgılayan yardımcı T hücrelerdir (40). RHK için tümör ilişkili antijenlerden CA-IX en spesifik olanıdır (70). CA-IX, sıklıkla berrak hücreli RHK'da, nadiren de diğer RHK tiplerinde eksprese edilir (40). CA-IX, berrak hücreli RHK için tanısal ve prognostik marker olarak araştırılmıştır (14). Ayrıca periferik kan örneklerinde dolaşan RHK hücrelerinin saptanmasında, tümör aşı protokollerinde ve radyoaktif işaretleme yapılarak metastaz araştırmalarında kullanılmak için araştırılmıştır (71,72,73). Umut verici bu uygulamalar şu anda deneysel aşamadır.

RHK'de immün yanıtı etkileyebilecek bir diğer faktör, hücre yüzey glikoproteinlerinden, çeşitli immün ve nonimmün hücrelerde eksprese olan B7 ailesidir (74). B7-H1, T hücre düzenleyici bir moleküldür ve prelinik çalışmalarda tümör ilişkili B7-H1'in, antijen spesifik T hücre fonksiyonunu bozduğu ve bu molekülün blokajının antitümöral yanıtları potansiyalize ettiği gösterilmiştir (75).

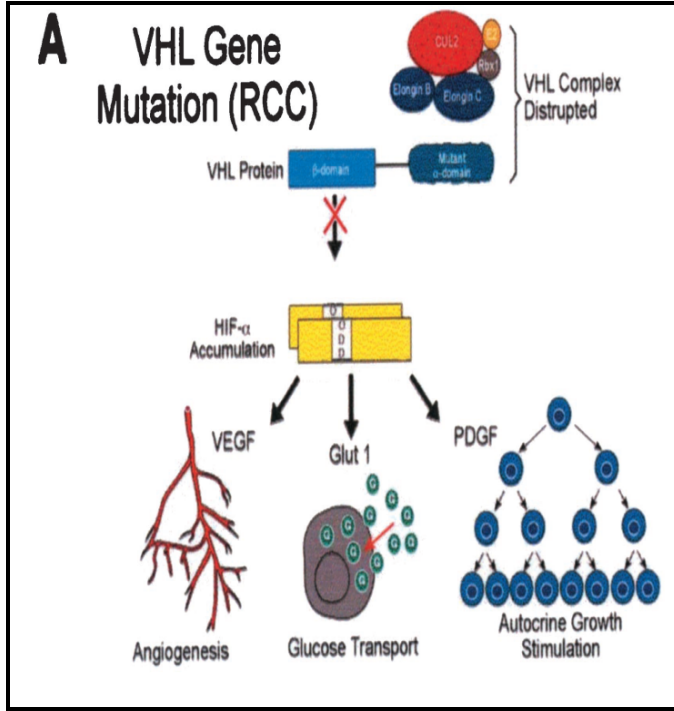
RHK'nın IL-2, IFN- $\alpha$  gibi immünmodülatörlere verdiği yanıt ve nadiren görülen spontan tümör regresyonu, tümör biyolojisinde immün sistemin önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (40). RHK'da spontan regresyonun tahmini insidansı %0,3 ve %7 arasında değişmektedir (76,77). spontan regresyonların çoğu pulmoner metastazı olan ve sitoredüktif nefrektomi yapılan hastalarda izlenmiştir (77).

İmmünoterapiye yanıt oranları ise %15 ve %20 arasında değişmektedir (40). Birkaç çalışmada immün sistem regülasyonunu her aşamada etkileyen çeşitli

mekanizmalar ortaya atılmıştır (40). Nükleer faktör-kappaB (NF-κB) yoluyla transkripsiyonel regülasyonda oluşan defektler, RHK'ların %60'ında, tümörü infiltrate eden lenfosit ve dendritik hücrelerde saptanmıştır (78). Defektif NF-κB sinyalizasyonu lenfosit aktivasyonunu bozmakta ve dendritik hücrelerde yetersiz aktivasyona neden olmaktadır (79). İmmüntoleransa yakınlık yaratan mekanizmaların anlaşılması, metastatik hastalık tedavisinde yeni ve rasyonel yaklaşımların ortaya çıkmasını sağlamıştır (40).

RHK, en vasküler kanserlerden biri olarak bilinir (40). Berrak hücreli RHK'da anjiogenezden primer sorumlu molekül, normal şartlar altında VHL proteini tarafından baskılanan ve tümör gelişimi sırasında upregüle olan VEGF'dir (Şekil 2.1) (63). VEGF'nin upregülasyonu, sporadik berrak hücreli RHK'nin %75'inden fazlasında saptanan VHL genindeki mutasyonlara bağlıdır (80). VHL geni 213 aminoasitlik VHL proteinini kodlayan bir tümör süpresör genidir ve hastalığın ortaya çıkması için VHL geninin her iki allelinin etkilenmesi gerekmektedir (40).

VHL proteini; elongin b, elongin C ve cullin gen ailesinin bir üyesi olan CUL-2 proteinine bağlanarak çeşitli düzenleyici proteinlerin degradasyonunu hedef alan bir kompleks oluşturur (81). Normal koşullar altında, oluşan VHL protein kompleksi, ubiquitin aracılı degradasyon için hipoksi ile indüklenebilen faktör 1α (hypoxia inducible factor 1α / HIF1-α) olarak adlandırılan proteini hedef alır ve bu proteini düşük seviyelerde tutar (81). HIF1-α, hipoksi, açlık gibi stres koşullarında hücre yanıtını düzenleyen önemli intraselüler proteinlerdir (40). HIF1-α, aynı zamanda VEGF, GLUT-1 (glucose transporter), PDGF (platelet derived growth factor), TGF-α (transforming growth factor-α), eritropoetin ve CA-IX gibi tümör hücresi için önemli olabilecek faktörlerin ekspresyonunu upregüle eder (81). VHL mutasyonlarında ve hipoksik koşullarda, VHL protein kompleksi HIF1-α degradasyonunu gerçekleştirmez ve hücre içinde HIF1-α birikimiyle RHK'da anjiogenezden primer sorumlu olan VEGF ile birlikte GLUT-1, TGF-α, PDGF ve eritropoetin ekspresyonu artar (81).



**Şekil 2.1.** VEGF'nin VHL geni tarafından kontrolü. Normal şartlarda VHL proteini HIF1- $\alpha$ 'yı degrade etmektedir. RHK'de mutant gen ürünü olan VHL proteini degradasyonu gerçekleştiremez ve HIF1- $\alpha$  birikimi VEGF ve diğer faktörlerin artışına yol açar (Linehan'dan, 81).

VEGF, bir veya daha fazla VEGF reseptörüne (VEGFR) bağlanarak etki gösterir. VEGFR-1 ve VEGFR-2, tirozin kinaz fonksiyonu gösterirler (40). VEGF, reseptörüne bağlandıktan sonra reseptörün hücre içi kısmında bulunan tirozin fosforile olur ve bu yolla ilişkili yolları aktive eder (40). VEGFR'lerin fosforilasyonu ile aktive olan yollar; endotel hücre proliferasyonunu destekleyen Raf-MEK-Erk ve fosfatidilinozitol 3 kinaz / Akt / mTOR yollarıdır (40). RHK'da etkili bir sistemik tedavinin olmayışı anjiogenezi önemli bir tedavi hedefi haline getirmiştir (40).

VEGF dışında sinyal iletiminde görevli mTOR gibi yolların aşırı aktivasyonu da terapötik girişimleri için bir hedef olabilir (40). Bir tümör süpresör gen olan fosfataz ve tensin homolog (PTEN) geni, mTOR yolağında anahtar rol oynayan protein kinaz B (Akt)'in fosfatidilinozitol-3-kinaz bağımlı aktivasyonunu inhibe eder (82). PTEN mutasyonları, mTOR'un aşırı aktivasyonuna ve bu da bir dizi mediatör aracılığıyla HIF-1 ve büyüme faktörlerinin aşırı ekspresyonuna neden olarak tümör gelişimine neden olur (82).

RHK'da tümör büyümesini düzenleyen diğer önemli elemanlar; insülin benzeri büyüme faktörü, telomeraz, BCL2, TGF- $\alpha$  ve reseptörü EGFR (epidermal growth factor receptor)'dir (40). Ayrıca normal böbrekte proksimal tübül hücresinden salgılanan ve böbrek gelişiminden sorumlu olan hepatosit growth faktör RHK hastalarının çoğunun serumunda artmış olarak saptanmıştır (40).

Kanser hücreleri ve onları çevreleyen matriks arasındaki etkileşimler patojenik potansiyeli etkilemektedir (40). Örneğin plazmin ve matriks metalloproteinazların artmış ekspresyonu RHK'da daha agresif bir seyir ile ilişkili bulunmuştur (83). Benzer şekilde kanser hücreleri arasında adezyonu düzenleyen E-kaderin ve kaderin-6 gibi moleküllerin down regülasyonunun bir çok çalışmada kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (84).

### **2.2.5. Patoloji**

RHK, tanım olarak renal tübül epitel hücrelerinden köken alan adenokarsinomdur. Berrak hücreli ve papiller varyantların proksimal tübülden, kromofob ve toplayıcı duktus karsinomu gibi tiplerinin ise nefronun daha distal kısımlarından köken aldığı düşünülmektedir (40,42,43,44).

Böbrek tümörlerinin histolojik sınıflamasında DSÖ 2004 sınıflaması kullanılmaktadır. 2004 DSÖ sınıflaması, RHK'nın tek tip bir maligniteden ziyade birçok alt tipi içeren bir grup olduğunu göstermektedir (40). Genetik ve moleküler bulguları hücresel özelliklerle birlikte değerlendiren bir sınıflamadır (18). Histolojik alt tipin prognoz üzerinde etkisi vardır (85). Ayrıca metastatik olgularda sistemik tedavi planlaması için histolojik tipin bilinmesi gerekmektedir (86).

### **Berrak hücreli RHK**

Berrak hücreli RHK, tüm RHK'ların %70-80'ini oluşturur (40). Makroskopik olarak sarı renkli, oldukça vasküler tümörlerdir (40). Mikroskopik incelemede berrak hücre, granüler hücre veya mikst tip hücre içerebilirler (40). %2-5'inde sarkomatoid özellikler görülebilir (40). Papiller ve kromofob tiplere göre berrak hücreli RHK'da prognoz daha kötüdür (18,19). Berrak hücreli RHK'da kromozom 3 değişiklikleri ve VHL mutasyonları yaygındır (81).

### **Papiller tipte RHK**

RHK'ların %10-15'ini oluşturan papiller tip ikinci sıklıkta görülen histolojik alt tiptir (87). Son dönem böbrek yetmezliği ve edinilmiş kistik böbrek hastalığı olanlarda daha sık görülür (88). Birçok seride %40 gibi yüksek oranlarda multisentrik olma özelliği vardır (40). Mikroskopik incelemede papiller veya tübüler konfigürasyonda düzenlenmiş bazofilik veya eozinofilik hücreler saptanır (40). Sitogenetik karakterlerine immün boyanma özelliklerine göre iki varyantı vardır. Tip 1 papiller RHK'da bazofilik hücreler mevcuttur ve herediter papiller RHK ile ilişkilidir (89). Tip 2 papiller RHK ise eozinofilik hücreler ve granüler sitoplazmalarıyla daha agresif bir varyanttır ve herediter leomiyomatozis ve RHK sendromuyla ilişkilidir (89). Başlıca sitogenetik anormallikler trizomi 7, 17 ve Y kromozom kayıplarıdır (40). Papiller tipte VHL mutasyonları nadirdir (89). Kalıtsal formlarında ise 7. kromozomda lokalize c-MET proto-onkogen mutasyonları yaygındır (90). Papiller tipte, özellikle tip 1'de prognoz berrak hücreli RHK'ya göre daha iyidir (91).

### **Kromofob RHK**

RHK'ların %3-5'ini oluşturur (18). Toplayıcı kanalın kortikal kesiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (88). Makroskopik görünümü koyu kahve renktedir. Mikroskopik olarak ise düzensiz, farklı boyutlarda nükleuslu, geniş soluk, retiküler sitoplazmalı, belirgin membranlı poligonal hücreler vasküler bir çatıda örtü tarzında dizilim gösterirler (92). Arada daha dar eozinofilik sitoplazmalı hücreler de bulunur (92). Elektron mikroskopta 150-300-nm çapında mikro veziküller izlenir (40). Bu veziküllerde Hale'in koloidal demir pozitivitesi tanı koydurucudur (92). Genetik analizler kromozom 1, 2, 6, 10, 13, 17 ve 21'de kayıplar olduğunu göstermiştir (92). Prognoz, berrak hücreli RHK'dan daha iyidir ancak sarkomatoid özellikler ve metastaz varlığında sonuçlar kötüleşmektedir (91,93).

### **Toplayıcı duktus karsinomu**

Bellini'nin toplayıcı kanal karsinomu nadir görülür ve tüm RHK vakalarının %1'den azını oluşturur (88,94). Toplayıcı duktusların esas hücrelerinden köken alır (92). Makroskopik olarak santral yerleşimli olup, gri beyaz renktedir. Mikroskopik incelemede tubuler, tubulopapiller dizilim ve arada desmoplastik

stroma izlenir (92). Tümörün sınırları düzensizdir ve sağlam parankim içine invazyon gösterir (92).

Çoğunlukla 3, 4 ve 5. dekatlarda izlenir (95). Başvuru anında hastaların çoğu semptomatiktir ve %50'ye yakını metastatik hastalıkla başvururlar (96). Vakaların çoğunluğu yüksek gradeli, ileri evre ve konvansiyonel tedavilere yanıt vermeyen hastalardır (95,97).

### **Renal medüller karsinom**

Oldukça nadir görülen agresif seyirli bir tümördür (92). Genellikle orak hücre anemisi olan genç erkeklerde saptanır (92). Santral yerleşimli tümörlerdir (92). Tanı anında hastaların çoğunda lokal ileri evre ve metastatik hastalık saptanır (94). Sürvi, cerrahi sonrası ortalama 15 haftadır (92).

### **Multiloküler kistik RHK**

Böbrek hücreli karsinomun tipik özellikleri ile çok iyi prognozlu bir alt tipidir (92). Erkeklerde 3 kat siktir (92). Çok sayıda kistten oluşur, septalarda nükleer derece 1'i geçmeyen berrak hücre toplulukları bulunabilir (92). Bu tümörde rekürrens ve metastaz bildirilmemiştir ve beş yıllık hastalısız sağkalım %100'dür (98).

### **Müsinöz tübüler ve işsi hücreli karsinom**

Orta yaşta ve kadınlarda siktir. Genellikle insidental olarak saptanır (92). Düşük dereceli, distal nefron kökenli karsinomdur (92). İşsi hücreli komponent, tubuler yapılar ve arada müsinöz stromadan oluşur (92). Prognozu çok iyidir (18).

### **Translokasyon karsinomu**

Kromozom Xp11.1'de translokasyon ve sonucunda TFE3 geninde füzyon görülür (92). Histolojik olarak bol berrak sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu papiller yapılar izlenir (92). Genellikle çocuklarda ve genç erişkinlerde görülürler (92). Teşhis anında ileri evrede ve metastatiktirler (99).

### **Sarkomatoid diferansiasyon**

Sarkomatoid diferansiasyon RHK'ların %1-5'inde izlenir (100,101). Sıklıkla berrak hücreli ve kromofob tiplerle ilişkili olsa da tüm alt tiplerde saptanabilir (100,101). Sarkomatoid diferansiasyon ayrı bir histolojik alt tipten ziyade diğer alt

tiplerde kötü prognozun göstergesidir (18). Vimentin ile boyanan işsi hücreler, infiltratif büyüme paterni ve kötü prognozla karakterizedir (18). Komşu organ invazyonu yaygındır ve birçok seride median sürvi 1 yıldan azdır (40).

### **Sınıflanamayan RHK**

RHK vakalarının yaklaşık olarak %3'ünden az bir kısmını histopatolojik olarak sınıflanamayan tipler oluşturur (102). Çoğunluğu kötü diferansiyedir ve agresif seyir, kötü pronozla ilişkilidir (102).

### **Histolojik derecelendirme sistemi**

Nükleer grade, başta berrak hücreli tip olmak üzere RHK için bağımsız bir prognostik faktördür (18). Nükleer boyut, şekil ve belirgin nükleol varlığı veya yokluğuna dayanan derecelendirme sistemi ilk kez 1982 yılında Fuhrman ve ark. tarafından tanımlanmıştır (40).

Bu derecelendirme sisteminde grade 1'de matür lenfositlere benzeyen nükleol içermeyen küçük piknotik, yuvarlak nükleuslar görülür (92). Grade 2'de açık kromatin, çok küçük belirsiz nükleol vardır ve nükleer konturlar düzensizdir (92). Grade 3'de nükleoller belirgindir ve nükleer konturlar düzensizdir (40,92). Grade 4'de ise makro nükleoller, hiperkromazi, yoğun kromatin kümeleri ve pleomorfizm söz konusudur (92). Nükleer konturlar sıklıkla multilobüledir (40).

### **2.2.6. Klinik prezentasyon**

Böbreklerin retroperitonla sınırlı lokalizasyonları nedeniyle böbrek tümörlerinin çoğu asemptomatiktir ve ileri evre hastalık oluşuncaya kadar nonpalpable kalırlar (40). Görüntüleme yöntemlerinin yaygın kullanımıyla RHK vakalarının yaklaşık %50'si insidental olarak tanı almaktadır (32). Semptomlar, lokal tümör büyümesi, hemoraji, paraneoplastik sendromlar ve metastatik hastalıkla ilişkili olabilir. Lomber ağrı, hematüri ve palpable kitleden oluşan klasik triad, hastaların az bir kısmında izlenir ve bu bulgular genellikle ilerlemiş hastalığı işaret eder (103).

Paraneoplastik sendromlar hastaların yaklaşık %20'sinde görülür (40). RHK vakalarının %13'ünde paraneoplastik fenomene veya kemik metastazına bağlı hiperkalsemi izlenir (104). Hipertansiyon ve polisitemi, RHK'da görülen diğer

önemli paraneoplastik sendromlardır (105). Dikkat çekici bir diğer sendromsa, metastaz olmadan gelişen ve RHK vakalarının %3-20'sinde izlenen hepatik disfonksiyondur (106).

Ultrasonografi (USG), RHK tanısı için en kolay ve en ucuz tetkiktir (107, 108). USG ile saptanan kitlelerin bilgisayarlı tomografi (BT) veya magnetik rezonans görüntüleme (MRG) ile doğrulanması gerekir (107,108). Amerikan Üroloji Birliği (AUA) ve Avrupa Üroloji Birliği (EAU) kılavuzlarında böbrek kitlelerinin değerlendirilmesinde BT altın standart olarak önerilmektedir. MRG, BT'ye alternatif bir görüntüleme yöntemidir (109). Kontrast allerjisi varlığında ve venöz trombüs şüphesinde tercih edilir (108).

Kesitsel görüntüleme yöntemleri, böbrek kitlelerinde hala en başarılı yöntemler olmakla birlikte biyopsi, tanı basamaklarında kendine yer bulmaya başlamıştır (110). Genel kabul gören endikasyonları, böbreğe metastaz yapmış böbrek dışı solid tümörler, primer böbrek lenfomaları, rezeke edilemeyecek böbrek kitleleri, hedefe yönelik tedavi planlanan RHK'ler, cerrahi komorbiditesi sebebiyle ameliyat edilemeyen RHK'ler, perkütan ablasyon planlanan küçük böbrek kitleleri, BT'de homojen ve şiddetli attenüasyon gösteren 3 cm'den küçük solid kitleler ve tanı konulamayan kistik böbrek kitleleri olarak sıralanabilir (110,111).

İleri evre hastalıkta ise olası metastaz alanlarının gözden geçirilmesi önemlidir (110). Lokal ileri evre hastalıkta USG, evreleme için gerekli gerota fasyası invazyonu, adrenal bez tutulumu, perirenal yağ invazyonu gibi bilgileri vermekte yetersiz kalabilirken BT veya MRG bu bilgileri sağlayabilir (110). Metastatik hastalığı değerlendirmek için akciğer grafisi, abdominopelvik BT veya MRG ve karaciğer fonksiyon testlerine bakılmalıdır (110). Kemik sintigrafisi, serum alkalin fosfatazı yüksek, kemik ağrısı olan hastalarda; toraks BT ise pulmoner semptomları olan veya akciğer grafisinde anormal bulguları olan hastalarda tercih edilmelidir (112).

RHK'lı hastaların %25-30'unda tanı anında akciğer metastazı mevcuttur (113). Lokalize hastalığı olan hastaların da önemli bir kısmı akciğer metastazı ile nüks eder (110). Diğer uzak metastaz yaptığı organlar kemik (%15), beyin (%8), karaciğer (%5) ve lenf nodlarıdır (%10-15) (110).

Metastaz riski yüksek RHK vakalarında pozitron emisyon tomografi (PET) de araştırılmış ve spesifitesinin yüksek ancak sensitivitesinin suboptimal olduğu görülmüştür (40). Günümüzde en uygun kullanım alanı konvansiyonel görüntülemelerde saptanan şüpheli lezyonların değerlendirilmesidir (40).

### 2.2.7. Evreleme

Böbrek tümörlerinde ilk kez 1958 yılında Flocks ve Kadesky tarafından tanımlanan evreleme sistemi kullanılmıştır (110). Daha sonra 1969'da Robson bu sistemi modifiye etmiş ve 1990 yılına dek bu sistem kullanılmıştır (114). Günümüzde tüm solid tümörler için adapte edilen ve UICC (Union for International Cancer Control) ve AJCC (American Joint Committee on Cancer) tarafından oluşturulan ve 2010'da revize edilen TNM (tümör, nod, metastaz) evreleme sistemi kullanılmaktadır (Çizelge 2.2.) (110).

**Çizelge 2.2.** RHK için 2010 TNM sınıflaması (Campbell'dan, 40).

2010 TNM Sınıflaması	
<b>T:Primer tümör</b>	
<b>Tx</b>	Tümör değerlendirilemiyor
<b>T0</b>	Tümöre ait kanıt yok
<b>T1</b>	Tümör ≤ 7 cm ve böbreğe sınırlı
<b>T1a</b>	Tümör ≤ 4 cm ve böbreğe sınırlı
<b>T1b</b>	Tümör > 4 cm ve ≤ 7 cm, böbreğe sınırlı
<b>T2</b>	Tümör > 7 cm ve böbreğe sınırlı
<b>T2a</b>	Tümör > 7 cm ve ≤ 10 cm, böbreğe sınırlı
<b>T2b</b>	Tümör > 10 cm ve böbreğe sınırlı
<b>T3</b>	Tümör major venlere ve perinefrik dokuya invaze ancak adrenal tutulumu yok ve gerota ile sınırlı
<b>T3a</b>	Renal ven veya segmental dallarında tümör trombusu var veya perirenal yağ doku ve/veya renal sinüs yağ invazyonu var
<b>T3b</b>	Vena kava inferiorda (VKI) diafram altı tümör trombusu uzanımı
<b>T3c</b>	Diafram üstü seviyede VKI'da tümör trombusu veya VKI duvarına invazyon
<b>T4</b>	Gerota fayası dışına veya aynı taraf adrenele uzanım gösteren tümör
<b>N: Rejyonel lenf nodu</b>	
<b>Nx</b>	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor
<b>N0</b>	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
<b>N1</b>	Bölgesel lenf nodu/nodlarında tümör var
<b>M: uzak metastaz</b>	
<b>Mx</b>	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
<b>M0</b>	Uzak organ metastazı yok
<b>M1</b>	Uzak organ metastazı var

BHK evrelemede 2010 TNM’de önemli değişiklikler yapıldı. Yeni TNM ile daha önce pT2 olarak sınıflandırılan 7 cm’den büyük böbreğe sınırlı tümörler pT2a (7-10 cm arası) ve pT2b (10 cm’den büyük) olarak iki gruba ayrıldı. Renal ven veya segmental dallarında (kas içeren) tümör trombüsü olması pT3b’den pT3a’ye indirildi. Aynı taraf adrenal invazyonu ise pT3a’dan pT4 evresine yükseltildi (4). Bir önceki basımda tek ve çoklu lenf nodu varlığı pN1 ve pN2 olarak sınıflandırılırken, 2010 TNM’de tek veya çoklu lenf nodu varlığı pN1’de birleştirilmiştir.

T, N ve M sınıflandırmalarını evre grupları halinde birleştirmek bir kanserin yayılma durumunu belirtmek için kullanılan, tedavi kararlarının standardizasyonu ve prognozun öngörülebilmesine yardımcı olan bir yoldur. Ayrıca, benzer vaka gruplarının ve tedavi edici özelliği olan değişik girişimlerin karşılaştırılabilmesini de sağlar (Çizelge 2.3.) (115).

**Çizelge 2.3.** TNM evre grupları (Campbell’dan, 40).

Evre Grupları			
Evre 1	T1	N0	M0
Evre 2	T2	N0	M0
Evre 3	T1 veya T2	N1	M0
	T3	Herhangi N	M0
Evre 4	T4	Herhangi N	M0
	Herhangi T	Herhangi N	M1

RHK’de evreleme en güvenilir olarak patolojik olarak yapılmaktadır (110). Lokorejyoner nodal durumun en iyi göstergesi lenf nodu diseksiyonu olmakla birlikte RHK’de lenf nodu örneklenmesi ve sınırları halen tartışmalı bir konudur (110).

### 2.2.8. Prognoz ve prognostik faktörler

RHK’de hastaların %20-30’u tanı anında metastatiktir (110). Tanıda metastatik olma yanlarında %20-40’ında izlemde metastaz gelişir (103,116). Metastatik hastalıkta geliştirilen yeni ilaçlara rağmen tedavi başarı oranları %15-20’yi geçmemektedir (110). Hastaların tanı anında prognozlarının öngörülmesi,

özellikle ileri evre hastaların zaman kaybetmeden sınırlı ve çok etkin olmayan tedavi rejimlerine alınması oldukça önemlidir (110).

Genel olarak, patolojik evre, tümör çapı, nükleer grade ve histolojik alt tip gibi tümör ilişkili faktörler bağımsız olarak prognozu öngörmede en fazla yarara sahip faktörlerdir (40). Bununla birlikte çok değişkenli analizlerde birçok faktörü entegre eden bütünleştirici bir yaklaşımın en güçlü faktör olduğu ortaya konmuştur (117).

Patolojik evrenin tek başına RHK için en güçlü prognostik faktör olduğu kanıtlanmıştır (118).

Birçok çalışma, organa sınırlı hastalıkta %70-90 oranlarında 5 yıllık sağkalım olduğunu ve perinefrik yağ invazyonu ile birlikte sağkalımda %15-20 oranında azalma olduğunu göstermiştir (119). Perinefrik yağ invazyonu ile birlikte T3a olarak sınıflanan renal sinüs invazyonunda venöz sisteme giriş riskinden dolayı metastaz riski daha yüksektir (120). Toplayıcı sistem invazyonunun da organa sınırlı hastalıkta prognozu kötüleştirdiği bilinmektedir (121,122). Birçok çalışmada uzak metastaza veya lokal invazyona bağlı adrenal bez tutulumu olan hastaların büyük kısmında sistemik hastalığa progresyon olduğu gösterilmiştir (40).

Venöz tutulumun RHK için oldukça kötü bir prognostik bulgu olduğu düşünülmeyle birlikte birçok çalışma bu hastaların, agresif bir cerrahi yaklaşımla kurtarılabilirliğini göstermektedir (40). Bu çalışmalar, tümör böbreğe sınırlı olduğu sürece venöz tümör trombusu olan hastalarda cerrahi sonrası %45-69 oranlarında 5 yıllık sağkalım bildirmektedir (123,124). Ven duvarının direkt invazyonu, venöz sistemdeki tümör trombus seviyesinden daha önemli bir prognostik faktördür ve trombus seviyesinden bağımsız bir şekilde pT3c olarak sınıflandırılır (125).

Prognozdaki en büyük düşüş T4 tümörlerde, lenf nodu tutulumu ve sistemik metastazı olanlarda görülmektedir (126). Lenf nodu tutulumu olanlarda 5 yıllık sağkalım %5-30 iken, 10 yıllık sağkalım ise %0-5 arasındadır (127). Senkron metastaz ile başvuran hastaların prognozu oldukça kötüdür ve çoğu 1 yıl içinde hayatını kaybeder (127). Sistemik metastazı olan hastalarda, hastanın performans statusu, metastaz sayısı, anemi, hiperkalsemi, artmış alkalen fosfataz (ALP) veya

laktat dehidrojenaz (LDH) seviyeleri, trombositoz varlığı ve sarkomatöz histoloji prognozu etkileyen diğer faktörlerdir (119).

Tümör boyutu, hem organa sınırlı hem de invaziv RHK için önemli bir prognostik faktördür (119). Organa sınırlı hastalığı olan 1771 hastada yapılan bir çalışmada 10 yıllık sağkalım oranı pT1a için %90-95; pT1b için %80-85 ve pT2 için %75 bulunmuştur (128).

Diğer önemli prognostik faktörler nükleer grade, histolojik tip ve başvuruda hastanın semptomatik oluşudur (40). Fuhrman ve ark. 1982'de yayınladığı çalışmada 5 yıllık sağkalım grade 1 tümör için %64; grade 2 için %34; grade 3 için %31 ve grade 4 için %10 olarak açıklanmıştır (40).

Histolojik alt tip de ayrı bir prognostik önem taşımaktadır (40). Sarkomatöz differansiasyon varlığı, toplayıcı kanal karsinomu, renal medüller karsinom veya sınıflanamayan histolojik alt tiplerde prognoz daha kötüdür (40).

Bahsedilen faktörlerle birlikte üzerinde çalışılan, RHK için prognostik değeri olabilecek birçok moleküler marker bulunmaktadır (40). VHL geni tarafından regüle edilen CA-IX bunlardan biridir ve berrak hücreli RHK'ların çoğunda eksprese edilir (14). Metastatik vakalarda kötü prognoz ile ilişkilidir (14). Ayrıca sistemik terapiye yanıtı izlemek için kullanılabilir (14). Ki-67 olarak belirlenen artmış proliferatif indeksin berrak hücreli RHK'da azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13,15). Diğer prognostik değeri olabilecek moleküller ise tümör supresör TP-53, VEGF ailesinin üyelerinin de arasında bulunduğu çeşitli büyüme faktörleri ve adezyon molekülleridir (129).

Tüm bu faktörlerin yanı sıra prediktif kapasiteyi arttırmak için çeşitli prognostik faktörleri bir arada kullanan birçok öngörü modelleri geliştirilmiştir (40). CA-IX, Ki-67 gibi moleküller de bu öngörü modellerinin bazılarında entegre edilmiştir (40).

## **2.2.9. Lokal ve lokal ileri evre RHK tedavisi**

### **Lokalize RHK tedavisi**

RHK biyolojisinin ve genetiğinin günümüzde daha iyi anlaşılması olmasına rağmen lokalize hastalıkta küratif tedavi hala cerrahidir (40). Cerrahi tedavinin amacı uygun cerrahi sınırla birlikte tüm tümör dokusunun çıkarılmasıdır (40).

Radikal nefrektomi (RN), lokalize RHK vakalarında büyük kitlesi olan (sıklıkla T2 tümörler) ve nefron koruyucu cerrahiye uygun olmayan T1 hastalar için hala tercih edilen yöntemdir (130). Son zamanlarda, kronik böbrek hastalığı (KBH) ile ilgili endişeler nedeniyle küçük böbrek tümörlerinde radikal nefrektomi, popülaritesini kaybetmiştir ve sadece gerektiğinde uygulamalıdır (40,130,131).

Radikal nefrektominin temel prensipleri; renal arter ve venin erken bağlanması, böbreğin gerota fasyası ve aynı taraf adrenal ile birlikte çıkarılması ve diaframdan aortik bifurkasyona kadar olan bölgede lenf nodu diseksiyonu yapılmasıdır (132). Ancak günümüzde, adrenal bez radyolojik olarak normale ve kitle üst polde sürrenale çok yakın bir lokalizasyonda değilse rutin olarak sürrenalektomi uygulanmamaktadır (132,133).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda lenfadenektomi yapılan hastalarda yapılmayanlara göre kesin bir avantaj gösterilememiştir ancak evreleme ve prognozu öngörmeye fayda sağlamaktadır (134,135). Lenfadenektominin ne zaman yapılacağı ve sınırları hep tartışmaya açık olmuştur.

Lokalize RHK'da RN sonuçları üzerine yapılan çalışmalar postoperatif rekürrens riskinin evre bağımlı olduğunu göstermiştir (136). Yapılan bir çalışmada RN sonrası lokalize hastalığı olan 286 hastanın %23.8'inde metastatik hastalık ortaya çıkmıştır ve insidans T1N0M0 hastalarda %7.1; T2N0M0 hastalarda %26.5; T3N0M0 hastalarda %39.4 olarak rapor edilmiştir (137).

Parsiyel nefrektomi (PN) ise günümüzde normal bir kontralateral böbrek varlığında T1 tümörler için standart tedavi haline gelmiştir (40,138). 485 vakalık bir seride lokalize sporadik RHK nedeniyle parsiyel nefrektomi yapılan hastalarda genel sağkalım %81 ve 5 yıllık kanser spesifik sağkalım %92 saptanmıştır (139). Rekürrens hastaların %9'unda saptanmıştır ve bunların %3,2'si lokal rekürrens, %5,8'i ise uzak metastazdır (139). Genel olarak veriler parsiyel nefrektominin uzun dönemde etkili bir tedavi olduğunu ortaya koymaktadır (138).

Termal ablatif terapiler lokalize RHK'da nefron koruyucu cerrahiye alternatif olarak ortaya çıkmışlardır (140). Ancak uzun dönem etkinlikleri konusunda yeterli veri yoktur ve elde edilen veriler lokal rekürrens oranlarının geleneksel cerrahi yaklaşıma oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir (40).

### **Lokal ileri evre RHK tedavisi**

RHK vakalarının %4-10'unda venöz sistem tutulumu görülebilir (40). Vena kava inferior (VKI)'da trombüsü olan hastaların %45-70'i radikal nefrektomi ve trombektomiye kapsayan agresif bir cerrahi yaklaşım ile kür olabilmektedir (40). Diaframın üzerindeki seviyelerde trombüsü olan hastalarda cerrahi ile birlikte mortalite oranları %5-10 kadar yüksek olabilmektedir (141). Dolayısıyla bu yaklaşım performans statusu iyi olan, lenfadenopatisi ve uzak metastazı olmayan hastalar için uygundur (40).

Lokal invaziv hastalığı olan vakalar genellikle abdominal duvarın, sinir köklerinin tutulumuna bağlı ağrı ile başvururlar (40). RHK tedavisinde küratif potansiyeli olan tek tedavi cerrahi olduğu için lokal invazyonu olan hastalarda nadiren tümörün invaze olduğu barsak, dalak gibi organlarla enblok olarak çıkartılması endike olabilmektedir (40). Ancak birçok çalışmada, komşu organlara invaze olan tümörlerde cerrahi sonrası 5 yıllık sağkalım %5'in altında rapor edilmiştir (40).

### **RHK'da adjuvan terapi**

Genel olarak RHK hastalarının %20-35'inde uzak metastaz, %2-5'inde de lokal rekürrens gelişmesi, yüksek riskli hastalarda adjuvan tedaviyi gündeme getirmiştir (40).

Metastatik hastalıkta önemli antitümör etkinliği olan IL-2 ve IFN-alfa'nın ve otolog tümör aşılarının, adjuvan tedavilerde etkin olmadığı gösterilmiştir (40,142).

### **2.2.10. İleri evre RHK tedavisi**

#### **Cerrahi**

Metastatik RHK'da sitoreduktif nefrektominin yeri SWOG (Southwest Oncology Group) ve EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) çalışmalarıyla gösterilmiştir (40). Bu çalışmalarda sitoreduktif nefrektomi + IFN tedavi kolunda sadece IFN alan gruba göre genel sağkalım daha yüksek bulunmuştur (40). Bu veriler, sitokin terapisi adayı seçilmiş metastatik RHK vakalarında sitoreduktif nefrektominin uygulanmasını

desteklemektedir (40). Ayrıca izole metastatik lezyonları olan seçilmiş, uygun hastalarda yapılan komplet metastaz rezeksiyonunda, inkomplet metastaz yapılanlara göre daha yüksek 5 yıllık sağkalım oranları saptanmıştır (%44 vs %14) (143).

### **İmmünoterapi**

IFN-alfa, viral enfeksiyon veya yabancı antijenlere karşı lenfosit ve makrofajlardan salınan, immünmodülatör özelliğinin yanında antiproliferatif ve antianjiogenik etkisi de olan bir glikoproteindir (144). IFN-alfa ile tedaviye yanıt oranları %16-26 arasında değişmektedir (40). Coppin ve arkadaşlarının yaptıkları metaanalizde IFN-alfa ve immünoterapi dışı tedaviler (vinblastin) karşılaştırılmış ve IFN-alfa grubunda yanıt oranı %12,5 iken, diğer tedavilerde bu oran %1,5 bulunmuştur (144). Ayrıca genel sağkalım IFN-alfa grubunda 3,8 ay daha uzun bulunmuştur (144). En sık görülen yan etki ateş, halsizlik, yorgunluk, miyalji, iştahsızlık gibi semptomlara yol açan grip benzeri sendromdur (145).

Metastatik RHK tedavisinde hedefe yönelik ajanların kullanıma girmesi ve bu ajanların yapılan randomize çalışmalar da IFN- $\alpha$ 'ya üstünlük göstermiş olmaları nedeniyle IFN- $\alpha$ 'nın monoterapi olarak kullanımı önemini yitirmiştir (144).

IL-2 ise T lenfositlerinin ve natural killer hücrelerinin aktivitesini artıran bir büyüme faktörüdür (144). Sitokin Çalışma Grubu tarafından yürütülen birçok çalışma ve meta-analizlerde IL-2'ye yanıt oranı %15-20 arasında bulunmuştur (40). Daha da önemlisi yüksek doz IL-2 tedavisi alan hastaların %7-9'unda metastatik tümörde komplet regresyon izlenmiş ve regresyon izlenen hastaların %60'dan fazlasında uzun dönem takiplerde rekürrens saptanmamıştır (146).

Tek başına IFN-alfa tedavisi alanlarda yanıt oranı %12; yalnızca IL-2 tedavisi alanlarda yanıt oranı %15 iken, IL-2 ve IFN-alfa kombinasyonunda bu oran %18,6'dır. ancak survi açısından gruplar arasında fark yoktur. Ayrıca kombinasyon tedavisinde toksisite daha yüksektir (147).

IL-2 ile kalıcı yanıtlar elde edilebilmekle birlikte yan etkilerinin ve maliyetinin yüksek olması ve bununla beraber az sayıda hastada etkinlik göstermesi nedeniyle IL-2 kullanımı seçilmiş hastalarda sınırlıdır (144). IL-2 tedavisine uygun olan hastaların seçilebilmesi için kullanılan prediktif faktörler; berrak hücreli sitoloji ve CA-IX yüksekliğidir (144).

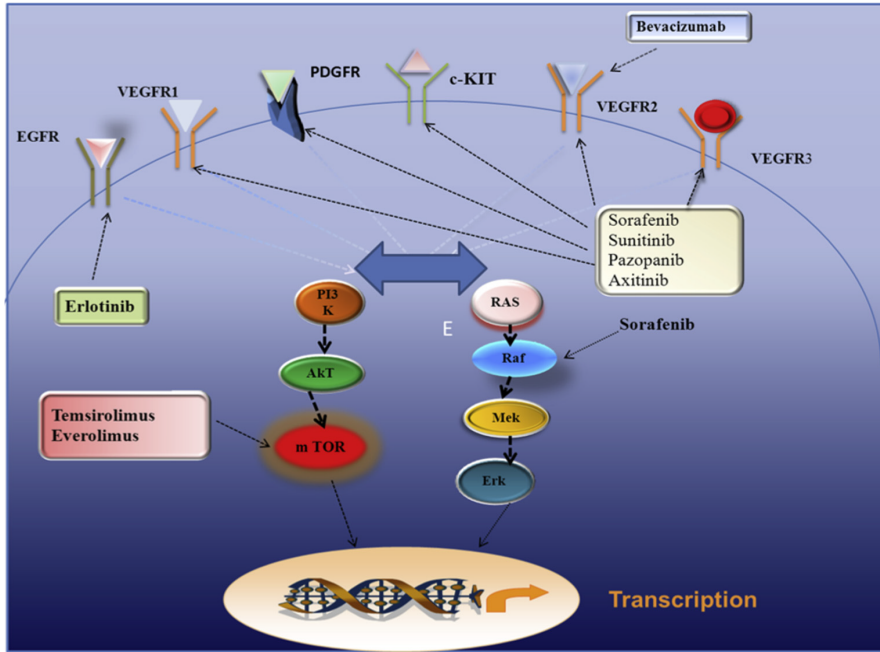
## Hedefe yönelik tedavi

RHK patogenezindeki moleküler yolların anlaşılmasındaki en önemli adım VHL geninin tanımlanmasıdır (144). Yapılan çalışmalarla berrak hücreli RHK'ların %80'inde VHL geninin mutasyon, delesyon veya hipermetilasyona uğrayarak inaktif hale geldiği saptanmıştır (148). Bu gen hipoksiye karşı hücresel cevabı kontrol eden hipoksi ile indüklenen faktörü (HIF) kontrol eder (144). Von Hippel-Lindau geninin inaktivasyonu HIF konsantrasyonunun artmasına, o da HIF ile regüle edilen vasküler endotelial growth faktör (VEGF), platelet deri ve growth faktör (PDGF) gibi anjiogenik faktörlerin artışına neden olur (144,148).

VEGF ve PDGF artışı tümörde anjiogenezin artmasına ve böylece tümörün büyüüp metastaz kabiliyetinin artmasına neden olur (144).

Tirozin kinaz inhibitörleri, VEGF ve PDGF'nin reseptör kinazlarını hedef alarak inhibisyon oluştururlar (144). Bevacizumab ise VEGF'ye karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur (144). Temsirolimus ve everolimus ise hipoksi ile indüklenen faktörü regüle eden bir başka yolak olan mTOR yolağını inhibe ederler (144).

Hedefe yönelik tedavide kullanılan ajanların etki mekanizmaları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. RHK'nın hedefe yönelik tedavisinde kullanılan biyolojik yollar ve ajanlar (Mattei'den, 5).

*Sunitinib* günümüzde metastatik berrak hücreli RHK'nın başlangıç tedavisinde yaygın olarak kullanılan, oral yolla alınan, vasküler endotelial growth faktör reseptör (VEGFR) kinaz inhibitörüdür (147). VEGFR, PDGFR, c-KIT ve FLT-3 (fms-like tirozin kinaz 3)'ün potansiyel inhibitörüdür (147).

Metastatik RHK'da sunitinib ve IFN-alfa'yı karşılaştıran faz 3 çalışmada, sunitinib tedavisi alan kolda progresyonsuz median sağkalım süresi 11 ay iken, bu süre IFN tedavisi alan kolda ise 5 aydır (149). Tedaviye yanıt oranı ise sunitinib kolunda %31, IFN kolunda ise %6'dır (149). Genel sağkalım sunitinib grubunda 26,4 ay, IFN grubunda ise 21,8 aydır (150). Bu sonuçlar sunitinibi metastatik berrak hücreli RHK'da en sık kullanılan ajan yapmıştır (147).

Sunitinibin sık görülen yan etkileri diyare, deri döküntüleri, iştahsızlık, yorgunluk ve hipertansiyondur (149).

*Sorafenib*, bir diğer oral kinaz reseptör inhibitörü olup VEGFR2, PDGFR- $\alpha$  ve raf-1 üzerine etki eder (147). Faz 3 çalışma sonuçlarına göre sorafenib kullanan hastalarda progresyonsuz sağkalım 5,5 ay, plasebo grubunda ise 2,8 aydır (147). Ancak genel sağkalım üzerinde plasebo ile arasında anlamlı fark yoktur (151). Yan etkileri sunitinible benzerdir (147). Metastatik RHK'nın tedavisinde günümüzde sorafenib genellikle ilk seçenek olarak tercih edilmemektedir (147).

*Temsirolimus*, önemli bir hücre içi protein olan ve büyüme faktörlerinin sinyal kaskadında rol oynayan mTOR üzerinden etki eder (147). İntravenöz yolla uygulanan temsirolimus mTOR üzerinden HIF-1 $\alpha$  dönüşümünü bloke eder (152). Metastatik RHK'da kötü risk grubunda ilk seçenektir (147).

*Everolimus* ise mTOR yolağının oral yolla kullanılabilen inhibitörüdür (147). VEGFR antagonisti kullanan hastalarda progresyon gelişmesi durumunda endikedir (147).

*Bevacizumab*, VEGF'yi hedef alan monoklonal insan antikorudur (144). Metastatik berrak hücreli RHK tedavisinde ilk aşamada kullanılabilen bir ilaçtır ve başlangıç tedavisi olarak VEGF antagonisti verilen hastalarda tek başına veya IFN-alfa ile kombine edilip kullanılabilir (147).

### 2.3. Apoptoz

Apoptoz kontrollü bir hücre ölüm şekli olup çok hücreli organizmaların gelişim ve hücre içi dengelerinde önemli bir rol oynar. Apoptotik mekanizmaların bozulması, genellikle mutasyonların oluşmasını kolaylaştırarak karsinogenez mekanizmalarında yer alır (153).

İki apoptotik yolak mevcuttur (Şekil 2.3).

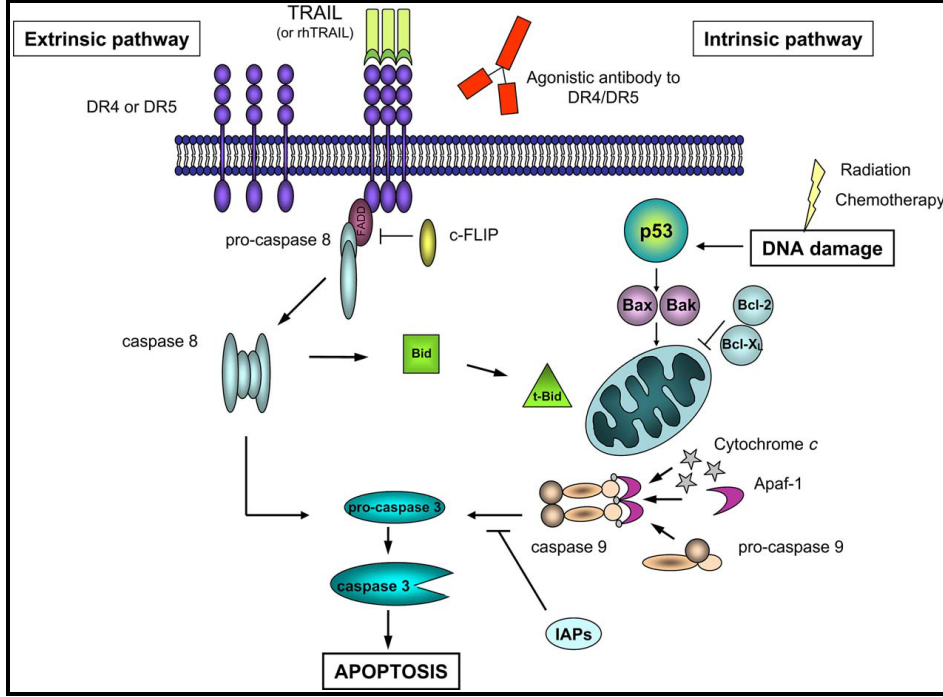
Ekstrensik yolak; ölüm reseptörleriyle uyarılmakta olup bunlar TNF reseptör ailesinin alt grubudur (154).

İntrensik yolak olarak adlandırılan ikinci yolak ise mitokondri katılımlı, Bcl-2 protein ailesi tarafından kontrol edilen bir yolaktır (155).

Her iki yolak da başlatıcı kaspazların aktivasyonuna neden olarak efektör kaspazları aktive etmektedir (155). Kaspazlar sistein bağımlı aspartat spesifik proteazlardır (155). İnaktif prokaspazlar olarak sentez edilirler (155). Başlatıcı kaspazlar kaspaz 2 ve 9'da olduğu gibi kaspaz aktive eden bölge (CARD), kaspaz-8 ile kaspaz-10'da olduğu gibi ölüm oluşturan (DED) bölge gibi uzun prodomeinler içerirler (155). Kaspaz kaskadı, ölüm başlatıcı sinyalleme kompleksi (DISC) oluşumu ile sonuçlanan ölüm reseptör tetiklenmesiyle veya apoptozom adlı intrensik protein kompleksi ile aktive edilebilmektedir (155). Apoptozom mitokondriden sitokrom-c salınmasıyla oluşturulur ve Bcl-2 ailesi üyeleriyle kontrol edilir ve Apaf-1 ile bağlantılıdır (155). Kaspaz-9 daha sonra bu protein kompleksi ile aktive edilir ve kaskad bir kere başlatılırsa hücre kaçınılmaz bir şekilde apoptoza gider (155).

Efektör kaspazlar DNAaz'ları aktive ederek hücre membranında değişikliklere ve protein katlanmasında bozukluklara neden olmaktadır (155).

Apoptozda, intrensik ve ekstrensik yollar bağımsız olarak ilerlese de aralarında etkileşim bulunmaktadır (155). Bu etkileşim Bid proteininin kaspaz-8 ile aktive edilmiş şekli olan tBid aracılığıyla olmaktadır (155). Sitoplazmada inaktif halde bulunan Bid, kaspaz-8 tarafından parçalanır ve bir karboksi terminal fragmanı olan tBid oluşur (155). tBid proapoptotik Bcl-2 proteinleriyle etkileşime girerek bunların sitoplazmadan mitokondriye geç etmelerine ve sonuçta sitokrom-c salınımına neden olmaktadır (155).



**Şekil 2.3.** Ekstrensik ve intrinsik apoptotik yollar (Duiker'den, 156).

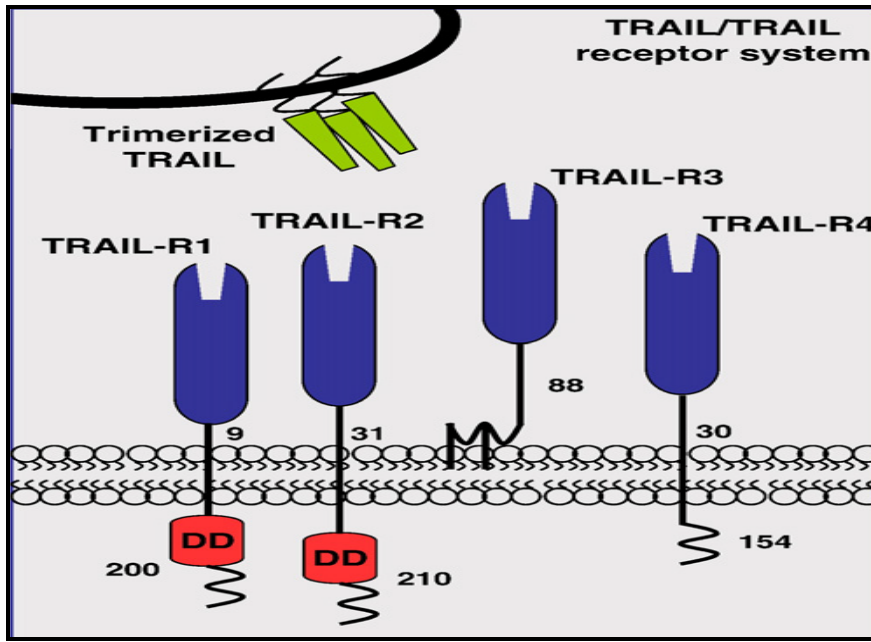
## 2.4. TRAIL

TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand), tümör hücrelerinde programlı ölüm veya apoptozun güçlü bir aktivatörü olarak ilk kez 1995 yılında tanımlanmıştır (157, 158). TNF-alfa ve FasL (Fas ligand)'dan farklı olarak normal hücrelerde apoptoza neden olmaması TRAIL'in kanser tedavisi araştırmalarına girmesine neden olmuştur (17).

TRAIL, 33 kDa molekül ağırlığında, kısa bir sitoplazmik N-terminal domaini ve uzun bir ekstraselüler C-terminal bağlanma domaini ile tip 2 transmembran proteini gibi eksprese edilen TNF ailesinin üyesi kristal yapıda bir proteindir (17,154). TRAIL geni 3. kromozom üzerinde 3q26 lokalizasyonunda 5 ekzondan oluşan bir gendir (157,159).

Natural killer hücreler, T hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immün sistem elemanları TRAIL eksprese edebilirler (17). TRAIL, sistin proteazlar tarafından işlenerek 20 kDa ağırlığında soluble TRAIL molekülleri oluşabilir ve her iki formu da hedef hücrelerde TRAIL reseptörleriyle etkileşime geçerek apoptozu tetikleyebilir (17).

TRAIL, iki apoptoz indükleyici reseptör olan TRAIL-R1/DR4 (TRAIL reseptör 1 veya ölüm reseptörü 4), TRAIL- R2 (DR-5), bunun yanında tuzak reseptör (decoy receptor DcR) olarak da adlandırılan ve apoptoz sinyali göndermede yetersiz kalan iki hücre bağlı reseptör olan TRAIL-R3 (DcR1), TRAIL-R4 (DcR2) ve çözünebilir bir reseptör olan osteoprotegrin (OPG) olarak adlandırılan bir diğer reseptörle de etkileşebilmektedir (17). TRAIL ve reseptörleri Şekil 2.4’de gösterilmiştir (160).



Şekil 2.4. TRAIL ve reseptörleri (Holoch'dan, 160).

TRAIL-R1, R2 ve R4, TNF reseptör ailesinin diğer üyeleriyle homoloji gösterirler ve klasik tip 1 transmembran proteinlerdir (161). TRAIL-R1 ve R2'nin sitoplazmik kısımlarında bu iki reseptörün apoptotoik sinyalleri iletmesini sağlayan ölüm domeinleri (DD) bulunmaktadır (161). TRAIL-R4 ise inkomplet bir DD içerdiği için apoptotoik sinyalleri iletememektedir (161). Diğerlerinden farklı olan TRAIL-R3 ise sitoplazmik DD bulundurmaz ve hücre yüzeyine bir glikozil-fosfatidilinozitol bağıyla tutunmuştur (161). Dolayısıyla apoptozda görevi yoktur (161). Bu dört membran reseptörlerinden farklı olarak soluble bir reseptör olan OPG de TRAIL ile bağlanabilir ancak bu bağlanmanın önemi hala bilinmemektedir (161). Her bir reseptör TRAIL'e farklı affinite ile bağlanır. TRAIL-R2 en yüksek affiniteyi, OPG ise en düşük affiniteyi gösterir (161).

Yapılan çalışmalarda kaybolmuş TRAIL-R2 fonksiyonu sonucunda azalmış apoptotik aktivite ve baş, boyun, mide kanserlerinde kontrol edilemeyen proliferasyon rapor edilmiştir (162). Bir diğer çalışmada ise tuzak reseptörler olan TRAIL-R3'ün apoptozu inhibe ettiği ve TRAIL-R4'ün artmış ekspresyonunun antiapoptotik genleri indükleyen NF- $\kappa$ B indüksiyonunu sağladığı gösterilmiştir (163,164).

TRAIL reseptörleri arasında hücreleri apoptoza ya da proliferasyona götüren ilişkiler net olarak belirlenmese de, bu konuda en çok kabul gören dört hipotez mevcuttur. Birincisi kompetisyon teorisi olup ölüm ve tuzak reseptörleri arasındaki ligand affinitesindeki farklılık sonucunda ortaya çıkar. İkincisi ölüm reseptörü ile tuzak reseptörlerinin birleşerek farklı bir formasyonla apoptotik sinyalleri bloke edebilmesi; üçüncüsü TRAIL-R4 uyarıldıktan sonra NF- $\kappa$ B'nin antiapoptotik sinyaller yollaması ve dördüncüsü PLAD (preligand assembly domain) proteini tarafından TRAIL reseptörlerinin karışık bir kompleks oluşturarak TRAIL sinyallerini bloke etmesidir (154,165).

TRAIL uyarımlı mekanizmaların regülasyonunun sadece çeşitli reseptörlerin fazla üretilerek olabileceğini düşünmek doğru olmayabilir. Yapılan çalışmalarda hücreyel yerleşimin de önemli olabileceği, insan melanomasında TRAIL-R1 ve R2'nin internalize olduğu, buna karşılık TRAIL-R3 ve R4'ün ise çekirdekten hücre yüzeyine doğru hareket ettiği gösterilmiştir (166).

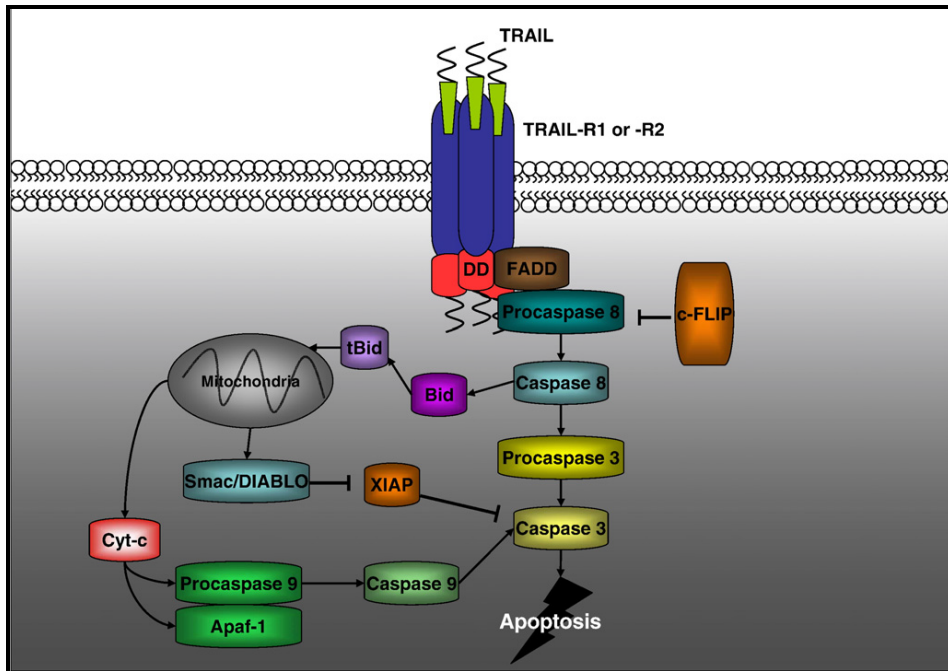
#### **2.4.1. TRAIL ve apoptoz**

Şekil 2.7'de gösterildiği gibi TRAIL'in TRAIL-R1 veya R2'ye bağlanmasını takiben birçok sitozolik protein bir araya gelerek DISC (death inducing signaling complex)'i meydana getirir (17). Bu proteinlerden birisi olan FADD (Fas-associated protein with death domain) reseptörlerin intraselüler DD bölgesine bağlanarak kompleksteki yerini alır (17). Oluşan kompleksin N-terminal ucuna da DED (death effector domain) ve inaktif prokaspaz-8 veya prokaspaz-10 eklenir (17). FADD kompleksine prokaspaz 8'in eklenmesiyle DISC kompleksi oluşur ve prokaspazın aktif hale gelebilmesi için de kaspaz 10'a ihtiyaç vardır (167).

Kaspaz-8 aktif hale geldikten sonra irreversible hücre ölümüne yol açan olaylar iki yol üzerinden tetiklenebilir (17). Bunlardan birincisinde kaspaz-8, efektör kaspazlar olan kaspaz-3, -6 ve -7'yi direkt aktive eder. İkinci yolda ise Bid proteininin kaspaz-8 bağımlı bölünmesiyle tBid (truncated Bid) oluşur (17). tBid mitokondriye transloke olarak Bcl-2 ailesinin diğer proapoptoik üyeleri olan Bax ve Bak ile etkileşime geçer. Bu etkileşim sonucunda mitokondri dış membranında, sitokrom c ve Smac/DIABLO gibi proapoptik faktörlerin salınımına yol açan porlar oluşmaktadır (17). Sitokrom c ve dATP, kaspaz-9 ve takibinde efetör kaspazların aktivasyonunu sağlar (168,169). Smac/Diablo ise IAPs (inhibitor of apoptosis proteins) ve XIAP (X linked IAP)'ın kaspaz inhibe edici aktivitelerini nötralize eder (17).

TRAIL'e bağlı apoptotik sinyaller, değişik noktalarda istenmeyen kaspaz aktivasyonunu önlemek için farklı moleküller tarafından regüle olmaktadır (170). Örneğin, kaspaz-8 ve -10 ile büyük oranda homoloji gösteren c-FLIP (cellular FLICE inhibitory protein) DISC seviyesinde kompetitif inhibisyonla FADD'a bağlanarak kaspaz aktivasyonunu inhibe eder (170). Bir diğer molekül de kaspaz-3, -7, -9'a bağlanarak bunları inhibe eden XIAP'dır.

TRAIL bağlantılı apoptoz yolları Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



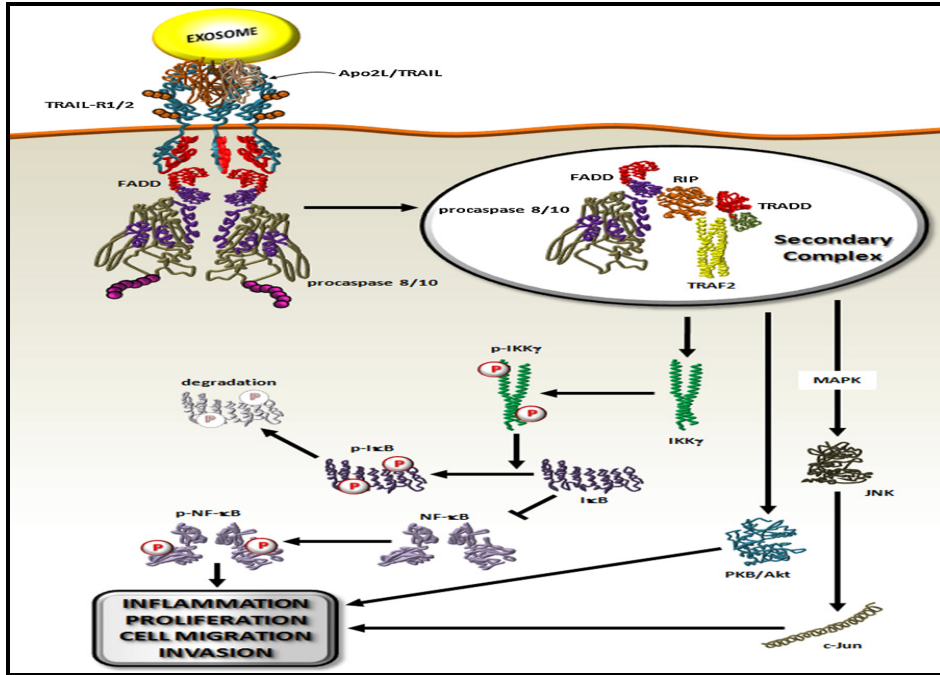
Şekil 2.5. TRAIL-R1 ve R2'nin rol aldığı apoptoz yolları (Holoch'dan, 160).

## 2.4.2. TRAIL ve nonapoptotik yolak

TRAIL, oldukça güçlü bir apoptoz aktivatörü olmakla birlikte çalışmalardan elde edilen kanıtlar TRAIL'in NF- $\kappa$ B, JNK (Janus kinaz) ve ERK yolları ile nonapoptotik sinyaller gönderdiğini de göstermektedir (Şekil 2.6.) (171). Moleküler çalışmalar TRAIL'in reseptörlerine bağlanmasından sonra DISC kompleksi hariç ikinci bir sinyalizasyon kompleksi oluşturduğunu göstermektedir (171). Bu sekonder kompleks, RIP1 (receptor interacting protein1), TRAF2 (TNF receptor / associated factor 2), I $\kappa$ B kinaz (IKK) ve TRADD (TNF receptor type1-associated death domain) ile birlikte DISC kompleksinde de bulunan FADD ve kaspaz-8 tarafından oluşturulur (170). Oluşan bu ikinci kompleks NF- $\kappa$ B ve ERK yollarını aktive etmektedir (170).

TRAIL tarafından NF- $\kappa$ B aktivasyonunun, apoptoz sınırlaması, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu ve TRAIL ile indüklenen apoptoza dirençli kanser hücrelerinde invazyon ile sonuçlandığı düşünülmektedir (170).

TRAIL, ayrıca bu sekonder kompleks yoluyla hücre migrasyonu, proliferasyonu ve differansiasyonunda görevli MAPK (mitogen activated protein kinases), Akt/PKB (protein kinase B) ve ERK yollarını da aktive etmektedir (172).



Şekil 2.6. TRAIL'in nonapoptotik sinyal yolları (Martinez-Lostao'dan, 170).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma için 09.10.2013 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı alındıktan sonra, 17.07.2007 ve 01.08.2013 tarihleri arasında böbrek tümörü nedeniyle Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Kliniği'nde opere edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak incelenmiş ve patoloji sonucu RHK olarak raporlanan 137 hastanın parafin blokları incelenmiştir. İnceleme sonucunda 11 hastanın parafin bloğu, yetersiz doku içermesi nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır.

#### **3.1. Dokuların Elde Edilmesi**

Hastaların parafin bloklarından, tümör dokusu ve komşuluğunda normal böbrek dokusunu da içerecek şekilde immünohistokimyasal boyama için kesitler alınmıştır.

#### **3.2. İmmünohistokimyasal Protokol**

Alınan kesitler deparafinizasyon için etüvde 55°C'de yaklaşık 1 saat bekletilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü için pozitif kontrol yapıldıktan sonra antijenik uzaklaştırma ve boyama işlemleri Ventana marka Benchmark XT model tam otomatik kapalı sistem immünohistokimya cihazında 'Ultraview DAB Detection Sistem' ile kapalı sistem gerçekleştirilmiştir. Boyama için anti-TRAIL antikoru (ab42121), 1/250 dilüsyonda; anti-TRAIL-R1 antikoru (ab8415), 1/250 dilüsyonda; anti-TRAIL-R2 antikoru (ab8416), 1/500 dilüsyonda anti-TRAIL-R3 antikoru (ab2087), 1/100 dilüsyonda ve anti-TRAIL-R4 antikoru (ab2019) ise 1/500 dilüsyonda kullanılmıştır.

#### **3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme**

TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonları, hastaların klinik özelliklerini bilmeyen tek bir patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bunun için immünreaktif hücrelerin boyanma yoğunlukları ve miktarları

skorlanmıştır. Boyanma yoğunluğunun skorlama aralığı 0-3 arasında değişmektedir: Boyanma olmaması 0; düşük yoğunlukta boyanma 1; orta yoğunlukta boyanma 2 ve kuvvetli boyanma 3 olarak skorlanmıştır. Miktar skorlamasında ise hiç ekspresyon olmaması 0; %1'den azında boyanma olması 1; %1-9 arasında boyanma olması 2; %10-50 arasında boyanma olması 3 ve %50'nin üzerinde boyanma olması 4 olarak skorlanmıştır. Toplam skor, yoğunluk ve miktar skorlarının çarpımı ile elde edilmiştir ve 0-12 aralığında değişmektedir. TRAIL-R4, tümör dokusunda ve normal dokuda az sayıda hastada (8 hasta) ve zayıf boyandığı için istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. Düşük ve yüksek ekspresyon arasındaki cutoff değerleri, final skorların median değerleri bulunarak TRAIL için 8, TRAIL-R1 için 3, TRAIL-R2 için 4 ve TRAIL-R3 için 3 olarak hesaplanmıştır. TRAIL için 8 ve üzerindeki skorlar; TRAIL-R1 için 3'ün üzerindeki; TRAIL-R2 için 4'ün üzerindeki ve TRAIL-R3 için 3'ün üzerindeki skorlar yüksek olarak kabul edilmiştir.

### **3.4. İstatistiksel Yöntem**

Veriler PASW 18 (SPSS/IBM, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Örneklemi tanımlamak için frekans dağılımı, ortalama, standart sapma gibi tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Kategorik veriler ise "ki-kare anlamlılık testi" ya da "Fisher's Exact test" ile incelendi. Ayrıca, sağkalım oranı Kaplan-Meier metodu ile belirlendi. Analizlerde farklılıkların belirlenmesi için %95 anlamlılık düzeyi (ya da  $\alpha = 0,05$  hata payı) kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri

Çalışmaya alınan hastaların 44'ü kadın (%34,9), 82'si erkekti (%65,1). Erkek kadın oranı (E/K) 1,86 olarak bulunmuştur. Hastaların yaşları 36 ile 88 arasında değişmekte olup ortalama yaş 60 ( $\pm 11$ ) olarak hesaplanmıştır. 83 hasta (%65,9), 65 yaş altında tanı almıştır. Tanı anında 43 hastanın (%34,1) yaşı ise 65 yaş ve üzerindedir.

Hastaların 109 tanesinde (%86,5) radikal nefrektomi; 17 tanesinde (%13,5) ise parsiyel nefrektomi operasyonu uygulanmıştır.

Patolojik inceleme sonucunda 68 hastada (%54) pT1, 34 hastada (%27) pT2, 21 hastada (%16,6) pT3 ve 3 hastada (%2,4) pT4 tümör saptanmıştır. Tümör boyutları 2 cm ve 36 cm arasında değişmektedir. İstatistiksel analizde pT1 ve pT2 tümörler düşük pT evresi olarak bir grupta; pT3 ve pT4 tümörler ise yüksek pT evresi olarak ayrı bir grupta toplanmıştır.

Klinik olarak lenf nodu saptanmayan ve/veya patolojik olarak lenf nodu tutulumu olmadığı kanıtlanan 110 hasta (%93,2) lenf nodu tutulumu olmayan hastalar olarak gruplanmıştır. Patolojik olarak lenf nodu tutulumu saptanan 8 hasta (%6,8) ise lenf nodu metastazı olmayan hastalar olarak gruplandırılmıştır. Geriye kalan 8 hastada ise klinik olarak lenf nodu saptanmış ancak patolojik olarak metastaz kanıtlamadığı için bu hastalar istatistiki çalışmaya dahil edilmemiştir.

Hastaların 20 tanesinde (%15,9) tanı anında uzak metastaz saptanmıştır (akciğer, kemik, beyin ve karaciğer). Tanı anında metastazı olmayan ve düzenli takibi yapılan hastalardan ise 8 tanesinde takiplerde metastaz saptanmıştır.

Fuhrmann nükleer grade (G) açısından incelendiğinde, hiçbir hastada grade 1 tümör izlenmemiştir. 71 hastada (%56,3) grade 2; 43 hastada (%34,1) grade 3 ve 12 hastada (%9,5) ise grade 4 tümör izlenmiştir. İstatistiksel analizde grade 1 ve grade 2 tümörler düşük gradeli tümörler olarak bir grupta; grade 3 ve grade 4 tümörler ise yüksek gradeli tümörler olarak ayrı bir grupta toplanmıştır.

Hastaların 76 tanesinde (%60,3) berrak hücreli RHK saptanmıştır. 28 tanesinde (%22,2) papiller tip, 15 tanesinde (%11,9) kromofob hücreli RHK ve 1

tanesinde (%0,8) topalayıcı kanal karsinomu izlenmiştir. 6 hastanın (%4,8) patolojik incelemesinde ise sadece sarkomatöz değişiklikler saptanmış olup, epitelyal komponent belirlenemediği için DSÖ sınıflamasına göre sınıflandırılmayan gruba dahil edilmiştir. Topalayıcı kanal karsinomu olan hasta, evre IV olup tanı anında, karaciğer ve sürrenal metastazları mevcuttu.

Hastaların klinik ve patolojik özellikleri Çizelge 4.1’de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** Hastaların klinik ve patolojik özellikleri.

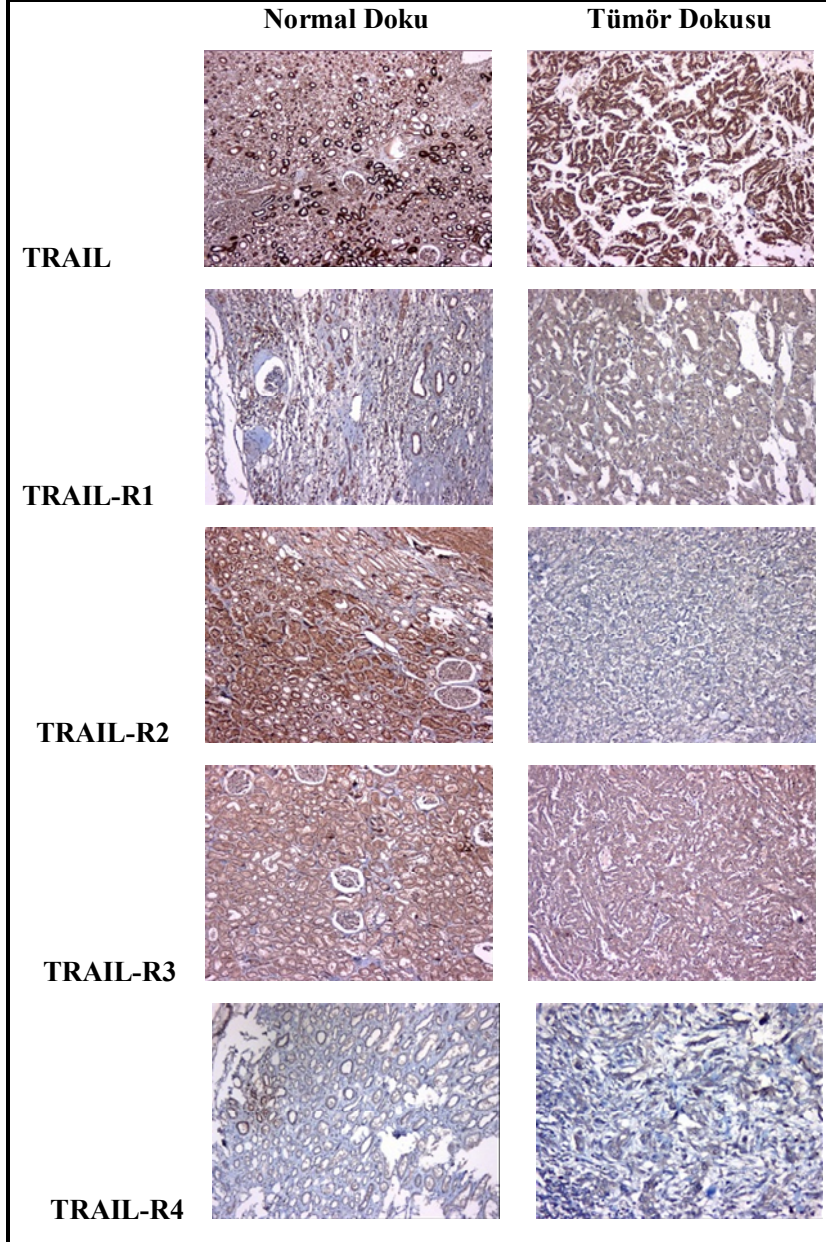
Özellikler	Hasta (n)	Yüzde (%)
Cinsiyet		
Kadın	44	34.9
Erkek	82	65.1
Yaş		
<65	83	65.9
≥65	43	34.1
Tümör (TNM 2010)		
pT1	68	54
pT2	34	27
pT3	21	16.6
pT4	3	2.4
Lenf Nodu (TNM 2010)		
N0/pN0	110	93.2
pN1	8	6.8
Metastaz (TNM 2010)*		
M0	106	84.1
M1	20	15.9
Fuhrmann Nükleer Grade		
G1	0	0
G2	71	56.4
G3	43	34.1
G4	12	9.5
Histolojik Tip		
Berrak hücreli	76	60.3
Papiller	28	22.2
Kromofob	15	11.9
Topalayıcı kanal karsinomu	1	0.8
Sınıflandırılmayan tip	6	4.8
Operasyon		
Radikal nefrektomi	109	86.5
Parsiyel nefrektomi	17	13.5

\* TNM 2010 sınıflaması

## 4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

126 hastanın, tümör ve komşuluğundaki normal böbrek dokusunda TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonu değerlendirilmiştir (Şekil 4.1.)

İmmünohistokimyasal değerlendirmede TRAIL-R4, az sayıda hastada (tümör dokusu için hastaların %6.3'ünde; normal doku için hastaların %21.5'inde boyanma olmuştur) ve genel olarak zayıf boyanma gösterdiği için istatistiksel çalışmaya alınmamıştır.



**Şekil 4.1.** TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonu, kahverengi hücreler artmış ekspresyonu göstermektedir (5X,10X, 20X büyütme ile).

TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyelerinin yaş, cinsiyet, pT evresi, lenf nodu tutulumu, uzak organ metastazı, Fuhrmann nükleer grade ve histolojik alt tip gibi faktörlerle ilişkisi değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2.).

**Çizelge 4.2.** TRAIL ve TRAIL-R ekspresyonunun klinik ve patolojik özelliklerle karşılaştırılması.

Özellikler	TRAIL			TRAIL-R1			TRAIL-R2			TRAIL-R3		
	Düşük n:74 %58.7	Yüksek n:52 %41.3	P	Düşük n:103 %81.7	Yüksek n:23 %18.3	P	Düşük n:97 %77	Yüksek n:29 %23	P	Düşük n:85 %67.5	Yüksek n:41 %32.5	P
Cinsiyet			<b>0.019</b>			0.157			0.383			0.552
Kadın	32 (25.4)	12 (9.5)		33 (26.2)	11 (8.7)		36 (28.6)	8 (6.3)		28 (22.2)	16 (12.7)	
Erkek	42 (33.3)	40 (31.8)		70 (55.5)	12 (9.5)		61 (48.4)	21 (16.7)		57 (45.3)	25 (19.8)	
Yaş			0,923			0.630			0.505			0.693
<65	49 (38.9)	34 (27)		69 (54.7)	14 (11.1)		62 (49.2)	21 (16.7)		57 (45.3)	26 (20.6)	
≥65	25 (19.8)	18 (14.3)		34 (27.0)	9 (7.1)		35 (27.8)	8 (6.3)		28 (22.2)	15 (11.9)	
Tümör *			0.965			<b>0.043</b>			0.591			<b>0.042</b>
pT1/pT2	60 (47.6)	42 (33.3)		87 (69.0)	15 (11.9)		77 (61.1)	25 (19.8)		73 (58.0)	29 (23.0)	
pT3/pT4	14 (11.1)	10 (8.0)		16 (12.7)	8 (6.4)		20 (15.9)	4 (3.2)		12 (9.5)	12 (9.5)	
Lenf nodu*			0.714			0.822			0.197			0,688
N0/ pN0	66 (55.9)	44 (37.3)		93 (78.8)	17 (14.4)		84 (71.2)	26 (22)		75 (63.6)	35 (29.7)	
pN1	4 (3.4)	4 (3.4)		7 (5.9)	1 (0.8)		8 (6.8)	0 (0)		6 (5.1)	2 (5.4)	
Metastaz*			0.625			0.202			0.244			0.195
M0	61 (48.4)	45 (35.7)		89 (70.6)	17 (13.5)		84 (66.7)	22 (17.5)		74 (58.8)	32 (25.4)	
M1	13 (10.3)	7 (5.6)		14 (11.1)	6 (4.8)		13 (10.3)	7 (5.6)		11 (8.7)	9 (7.1)	
Nükleer grade			0.716			0.817			0.884			<b>0.006</b>
G1/G2	43 (34.1)	28 (22.3)		59 (46.8)	12 (9.5)		55 (43.7)	16 (12.7)		55 (43.7)	16 (12.7)	
G3/G4	31 (24.6)	24 (19)		44 (34.9)	11 (8.8)		42 (33.3)	13 (10.3)		30 (23.8)	25 (19.8)	
Histolojik tip <sup>a</sup>												
Berrak hücreli tip	37 (29.4)	39 (31.0)	<b>0.005</b>	67 (53.2)	9 (7.1)	<b>0.033</b>	58 (46.0)	18 (14.3)	0.826	54 (42.9)	22 (17.4)	0.289
Papiller tip	19 (15.1)	9 (7.1)		20 (15.9)	8 (6.3)		20 (15.9)	8 (6.3)		18 (14.3)	10 (7.9)	
Kromofob tip	14 (11.1)	1 (0.8)		12 (9.5)	3 (2.4)		14 (11.1)	1 (0.8)		10 (7.9)	5 (4.0)	
Toplayıcı kanal ca	0 (0)	1 (0.8)		0 (0)	1 (0.8)		0 (0)	1 (0.8)		0 (0)	1 (0.8)	
Sınıflanamayan tip	4 (3.1)	2 (1.6)		4 (3.1)	2 (1.6)		5 (4.0)	1 (0.8)		3 (2.4)	3 (2.4)	

\* TNM sınıflaması (2010)

<sup>a</sup> Berrak hücreli histolojik tipin berrak hücreli olmayanlarla karşılaştırılması

Yüksek TRAIL ekspresyonu (immünohistokimya skoru  $\geq 8$ ), hastaların %41,3'ünde saptanmıştır. Hastaların %58,7'sinde ise TRAIL ekspresyon seviyesi ise düşük çıkmıştır. Fisher's exact test ile yapılan analizlerde TRAIL ekspresyon seviyeleri ile yaş, primer tümör yaygınlığı (pT), lenf nodu tutulumu, uzak metastaz ve nükleer grade arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. TRAIL ekspresyon seviyesinin cinsiyet ile ilişkisi incelendiğinde, yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin erkek hastalarda kadın hastalara göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü bulunmuştur (%48.8 vs %27.2) (p=0.019). Histolojik gruplar ayrı ayrı ele alındığında, yüksek TRAIL ekspresyonu olan hastaların %75'inin berrak hücreli; %17,3'ünün papiller hücreli; %1,9'unun kromofob hücreli; %1,9'unun toplayıcı kanal karsinomu ve %3,8'inin sınıflanamayan tip olduğu bulunmuştur. Berrak hücreli alt tip ile berrak hücreli olmayan alt tiplerin oluşturduğu grup karşılaştırıldığında, yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin berrak hücreli alt tipte, berrak hücreli olmayanlara göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü bulunmuştur (p= 0,005) (Çizelge 4.2).

TRAIL-R1 ekspresyonu ise hastaların %81,7'sinde (103 hasta) düşük (immünohistokimya skoru  $\leq 3$ ); %18,3'ünde (23 hasta) ise yüksek düzeyde (immünohistokimya skoru  $> 3$ ) bulunmuştur. TRAIL-R1 ekspresyon seviyesi ile yaş, cinsiyet, lenf nodu tutulumu, uzak organ metastazı ve nükleer grade arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Yüksek pT evresi (pT3/pT4) görülme oranı, yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesi olan grupta, düşük TRAIL-R1 ekspresyonu olan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (%34.8 vs %15.5). Yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesi ile yüksek pT evresi (pT3, pT4) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (p= 0,043) (Çizelge 4.2). TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin histolojik alt tiplerdeki dağılımı incelenmiştir. Berrak hücreli alt tipteki hastaların %11,8'inde yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesi saptanırken bu oran berrak hücreli olmayan tiplerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (%28) (p= 0,033) (Çizelge 4.2).

TRAIL-R2 ekspresyonu, hastaların %23'ünde (29 hasta) yüksek (immünohistokimya skoru  $> 4$ ), %77'sinde (97 hasta) ise düşük (immünohistokimya skoru  $\leq 4$ ) izlenmiştir. Düşük pT evreli (pT1/pT2) tümörlerde yüksek TRAIL-R2 ekspresyon oranı %24.5; yüksek pT evreli (pT3/pT4) tümörlerde ise yüksek

TRAIL-R2 ekspresyon oranı %16,7 saptanmıştır. Ancak pT evresi ile yüksek TRAIL-R2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır ( $p= 0,591$ ). Histolojik grade ile TRAIL-R2 ekspresyon seviyesi arasında da anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p= 0,884$ ). Düşük gradeli tümörlerde (G1/G2) yüksek TRAIL-R2 ekspresyon oranı %22,5; yüksek gradeli tümörlerde ise %23,6'dır. Ayrıca TRAIL-R2 ekspresyon seviyesi ile yaş, cinsiyet, lenf nodu tutulumu, uzak organ metastazı ve histolojik alt tip arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.2).

Hastaların %32,5'inde (41 hasta) yüksek TRAIL-R3 (immünohistokimya skoru  $> 3$ ), %67,5'inde (85 hasta) ise düşük TRAIL-R3 (immünohistokimya skoru  $\leq 3$ ) ekspresyon seviyesi saptanmıştır. Düşük seviyede TRAIL-R3 ekspresyonu gösteren hastaların %14.1'inde yüksek pT evresi (pT3/pT4) saptanırken; yüksek seviyede TRAIL-R3 ekspresyonu gösteren hastaların ise %29.3'ünde yüksek pT evresi saptanmıştır. Yüksek TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin yüksek pT evresi (pT3/pT4) ile anlamlı ilişkili olduğu gösterilmiştir ( $p= 0,042$ ) (Çizelge 4.2). Düşük TRAIL-R3 ekspresyon seviyesi olan grupta yüksek nükleer grade (grade 3 ve 4) görülme oranı %35.3 iken, yüksek TRAIL-R3 ekspresyon seviyesi olan grupta ise bu oran %61 bulunmuştur. Yüksek TRAIL-R3 reseptör ekspresyonunun yüksek nükleer grade ile anlamlı ilişkisi vardır ( $p= 0,006$ ). TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin yaş, cinsiyet, lenf nodu tutulumu, uzak organ metastazı ve histolojik alt tip ile anlamlı ilişkisi gösterilememiştir (Çizelge 4.2).

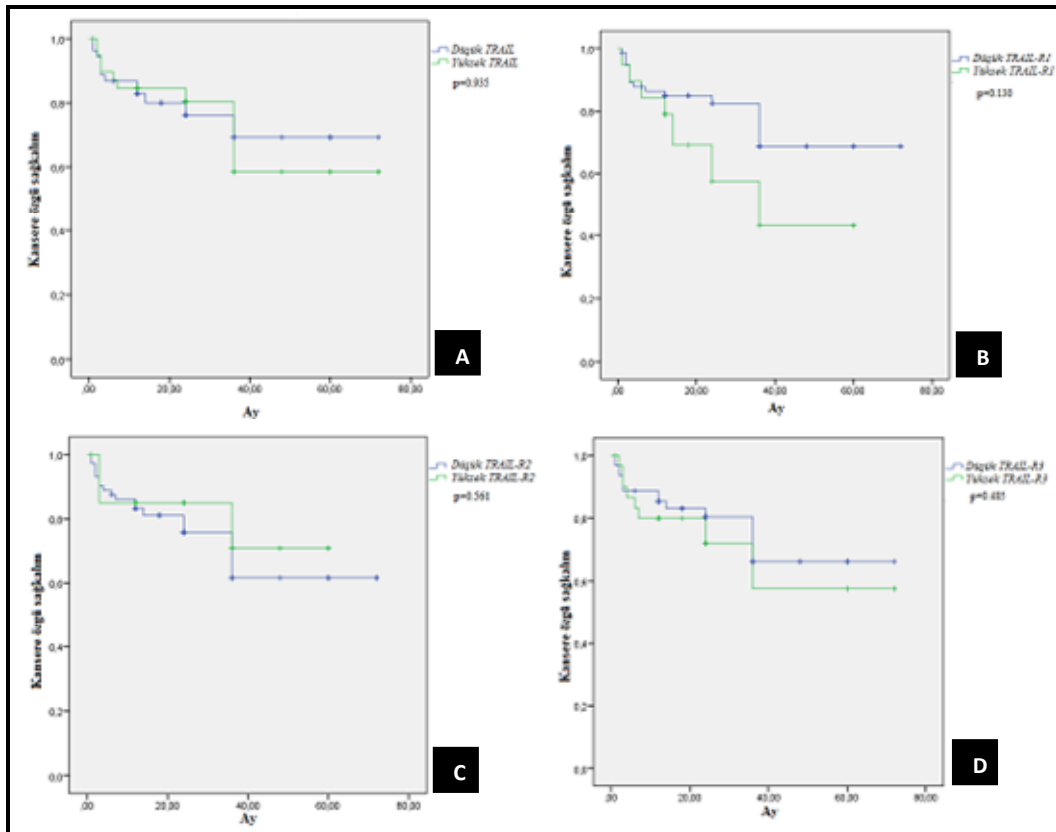
Sağkalım analizi için düzenli kontrole gelen 93 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Hastaların takip süreleri 1 ay ile 72 ay arasında değişmekte olup, ortalama takip süresi 22.07 aydır ( $\pm 17.53$ ). Takiplerde 22 hasta böbrek kanserine bağlı olarak hayatını kaybetmiştir. Tanı anında akciğer metastazı olan 1 hasta ise postop yoğun bakım ünitesinde takip edilirken enfeksiyon nedeniyle 1. ayda exitus oldu. Altı yıllık genel sağkalım oranı %76.3 bulunmuştur. Kümülatif kansere özgü sağkalım oranı ise 1. yılda %82, 5. yılda %60 olarak hesaplanmıştır.

TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyelerinin, tek değişkenli sağkalım analizi ile tüm RHK hastalarında kansere özgü sağkalım üzerine etkileri araştırıldı (Şekil 4.2).

Kaplan Meier analizi sonucunda tüm RHK hastaları için, TRAIL ekspresyonu seviyesi düşük olanlarda, 6 yıllık takiplerde kansere özgü tahmini

ortalama sağkalım süresi 54,4 ay ( $\pm 4,5$ ); TRAIL ekspresyon seviyesi yüksek olanlarda ise bu süre 51,5 ay ( $\pm 5,3$ ) bulunmuştur. Altı yıllık kansere özgü sağkalım oranları ise TRAIL ekspresyon seviyesi yüksek ve düşük olanlarda sırasıyla %75 ve %77,4 bulunmuştur. TRAIL ekspresyon seviyesi ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p= 0.935$ ) (Şekil 4.2).

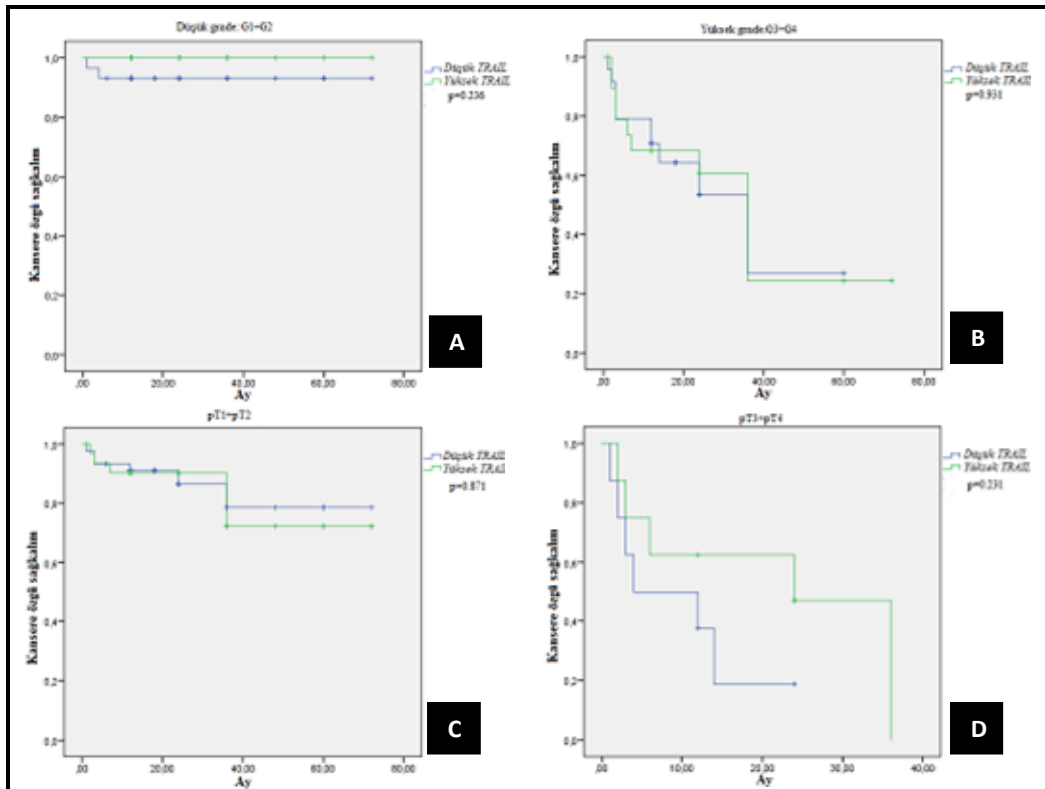
TRAIL-R1 için, yüksek ekspresyon grubunda altı yıllık kansere özgü sağkalım %63.2; düşük ekspresyon grubunda ise %79.7 bulunmuştur ( $p=0.130$ ). TRAIL-R2 için bu oranlar sırasıyla %81 ve %75'tir ( $p=0.561$ ). TRAIL-R3 için yüksek ekspresyon grubunda kansere özgü sağkalım oranı %74.2, düşük ekspresyon grubunda ise %77.4'tür ( $p=0.485$ ). Her üç reseptör için de ekspresyon seviyeleri ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** TRAIL ve reseptör ekspresyon seviyelerinin kansere özgü sağkalıma etkisi. **A;** Düşük ve yüksek TRAIL, **B;** Düşük ve yüksek TRAIL-R1, **C;** Düşük ve yüksek TRAIL-R2, **D;** Düşük ve yüksek TRAIL-R3.

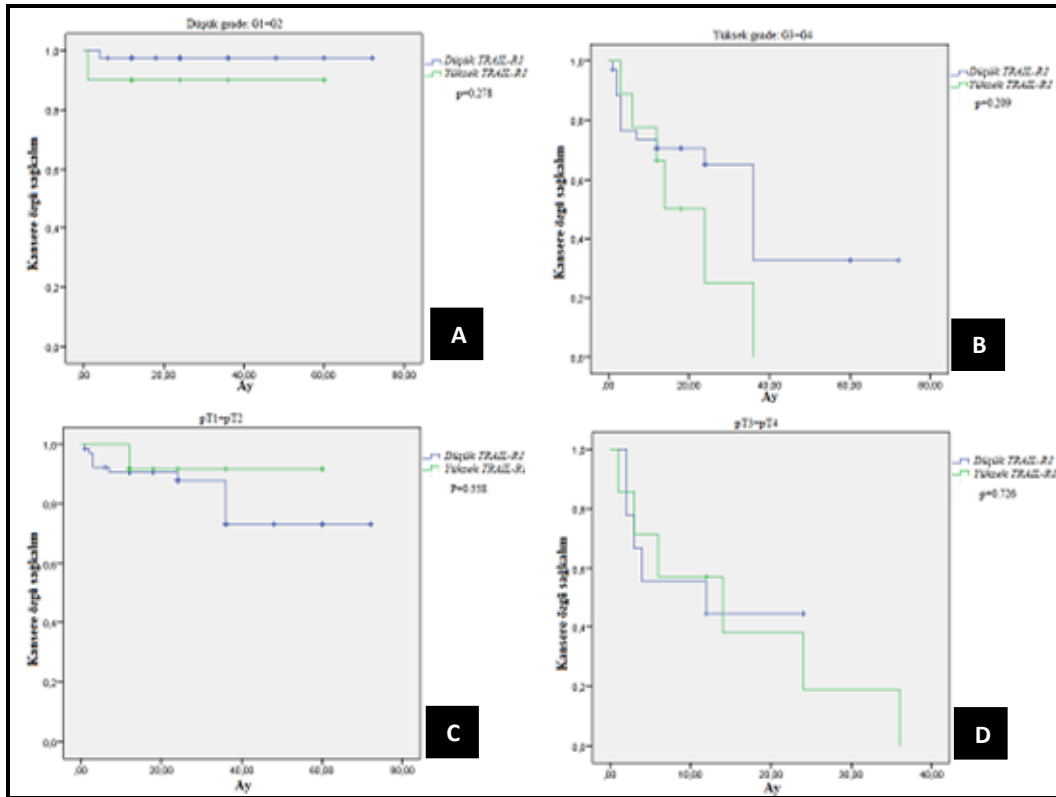
TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyelerinin kansere özgü sağkalıma etkisi, pT evresi, nükleer grade ve histolojik tipe göre yapılan alt grup analizlerinde de incelenmiştir.

TRAIL ekspresyon seviyesinin, nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi incelendiğinde, düşük gradeli tümörlerde (grade 1 ve grade 2) altı yıllık kansere özgü sağkalım oranları düşük TRAIL ekspresyonunda %93; yüksek TRAIL ekspresyonunda %100 (p=0.236) iken; bu oranlar yüksek gradeli tümörlerde sırasıyla %58.3 ve %50 olarak bulunmuştur (p=0.931). Benzer şekilde pT1/pT2 tümörlerde kansere özgü sağkalım oranı düşük TRAIL ekspresyonunda %86.7, yüksek TRAIL ekspresyonunda %84.4 (p= 0.871) iken, pT3/pT4 tümörlerde bu oranlar sırasıyla %25 ve %37.5 (p=0.231) bulunmuştur. Dolayısıyla düşük grade (G1,G2), yüksek grade, düşük pT evresi ve yüksek pT evresi için yapılan alt grup analizlerinde, TRAIL ekspresyon seviyesi ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (Şekil 4.3.).



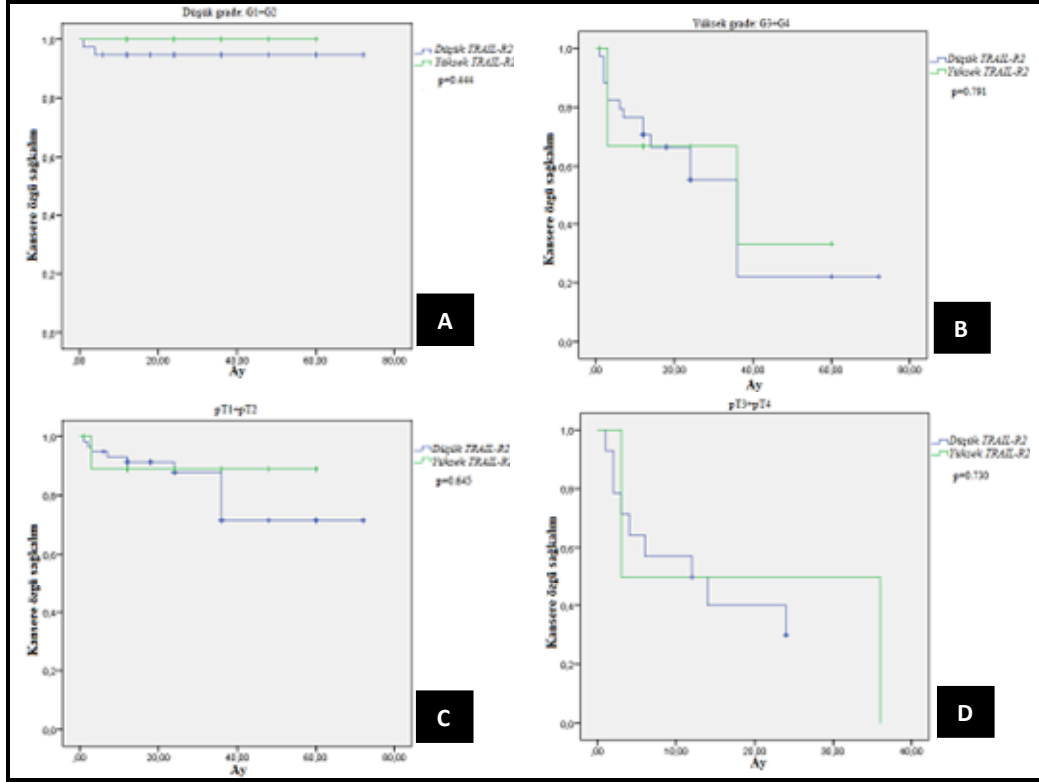
**Şekil 4.3.** TRAIL'in nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; düşük grade **B**; yüksek grade **C**; düşük pT evresi **D**; yüksek pT evresi.

TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin, düşük grade (grade 1, grade 2) ve yüksek grade (grade 3, grade 4) alt gruplarında kansere özgü sağkalımla arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (p değeri sırasıyla 0,278 ve 0.209'dur) (Şekil 4.4). Kansere özgü sağkalım oranları düşük pT evresi grubunda düşük TRAIL-R1 ekspresyonu için %84.6, yüksek TRAIL-R1 ekspresyonu için %91.7; yüksek pT evresi grubunda ise düşük TRAIL-R1 ekspresyonu için %44.4 ve yüksek TRAIL-R1 ekspresyonu için %14.4 bulunmuştur Düşük pT evresi (pT1 ve pT2) grubunda 6 yıllık takip süresi için kansere özgü tahmini ortalama sağkalım süresi ise düşük TRAIL-R1 ekspresyonu gösterenlerde 58.9 ( $\pm 3.7$ ) ay; yüksek TRAIL-R1 ekspresyonu gösterenlerde 56 ( $\pm 3.8$ ) ay iken bu süreler yüksek pT evresi (pT3 ve pT4) grubunda düşük TRAIL-R1 ekspresyonu için 13.2 ( $\pm 3.3$ ) ay ve yüksek TRAIL-R1 ekspresyonu için 15.2 ( $\pm 5.4$ ) ay bulunmuştur. pT evresi alt grup analizlerinde, düşük pT evresi (p=0.558) ve yüksek pT evresinde (p=0.726) TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişkisi bulunmamıştır (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.4.** TRAIL-R1'in nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; düşük grade, **B**; yüksek grade, **C**; düşük pT evresi, **D**; yüksek pT evresi.

TRAIL-R2 ekspresyon seviyesinin de düşük gradeli ( $p= 0.444$ ) ve yüksek gradeli ( $p= 0.071$ ); düşük pT evreli ( $p= 0.645$ ) ve yüksek pT evreli ( $p=0.730$ ) hastalarda kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişkisi bulunmamıştır (Şekil 4.5.).

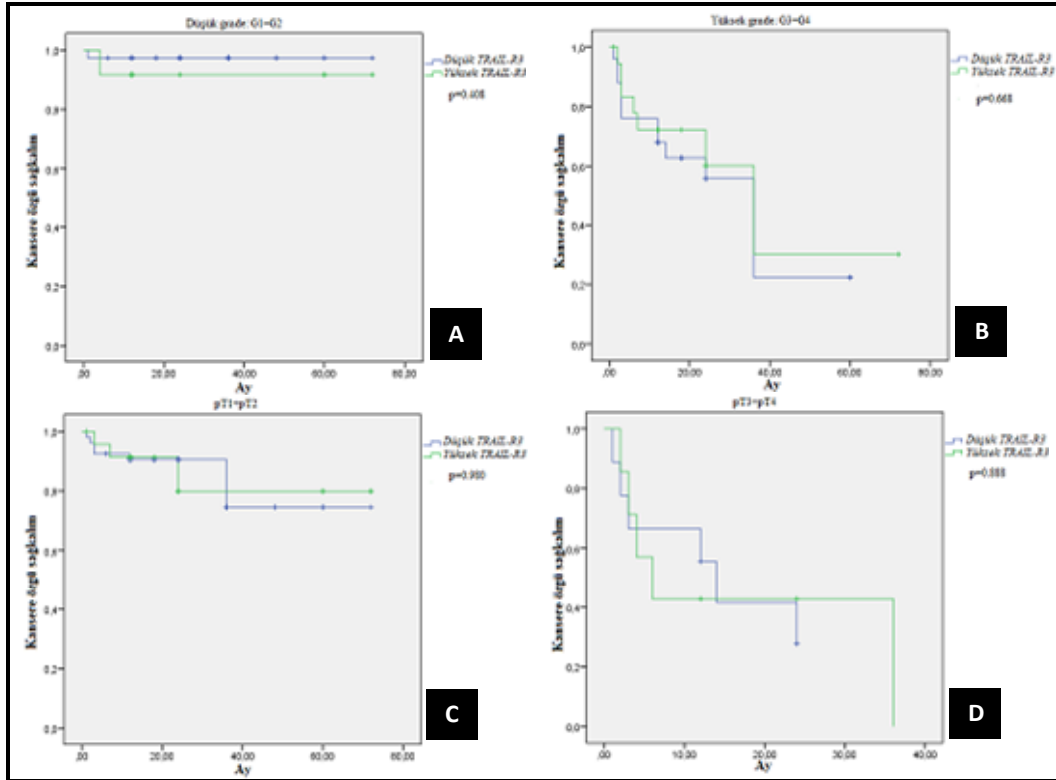


**Şekil 4.5.** TRAIL-R2'nin nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi. A; düşük grade, B; yüksek grade, C; düşük pT evresi, D; yüksek pT evresi.

Düşük gradeli (G1, G2) hastalarda düşük ve yüksek TRAIL-R3 ekspresyonu varlığında 6 yıllık takip için tahmini ortalama kansere özgü sağkalım süresi düşük ekspresyon varlığında 70 ( $\pm 1.9$ ) ay, yüksek ekspresyon varlığında 66.3 ( $\pm 5.4$ ) ay bulunmuştur. Kansere özgü sağkalım oranları ise sırasıyla %97.3 ve %91.7 bulunmuştur. Yüksek gradeli hastalarda (G3, G4) ise tahmini ortalama kansere özgü sağkalım süresi düşük ekspresyon varlığında 29.3 ( $\pm 4.9$ ) ay, yüksek ekspresyon varlığında 36.5 ( $\pm 9.5$ ) ay bulunmuştur. Bu hasta grubunda kansere özgü sağkalım oranları ise düşük ekspresyon gösterenlerde %48, yüksek ekspresyon gösterenlerde %63,2 saptanmıştır. Nükleer grade baz alınarak yapılan analizlerde TRAIL-R3 ekspresyon seviyesi, ne düşük gradeli ( $p= 0.408$ ), ne de

yüksek gradeli ( $p=0.668$ ) hastalarda kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişki içindedir (Şekil 4.6).

Düşük pT evreli (pT1, pT2) hasta grubunda düşük ve yüksek TRAIL-R3 ekspresyon varlığında kansere özgü sağkalım oranları benzer bulunmuştur (%84.9 vs %87.5). Yüksek pT evreli (pT3, pT4) hasta grubunda da bu oranlar düşük ve yüksek TRAIL-R3 ekspresyon varlığında benzerdir (%33.3 vs %28.6). Dolayısıyla düşük pT evreli ve yüksek pT evreli hastalarda TRAIL-R3 ekspresyon seviyesi ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.980 ve 0.888'dir) (Şekil 4.6).

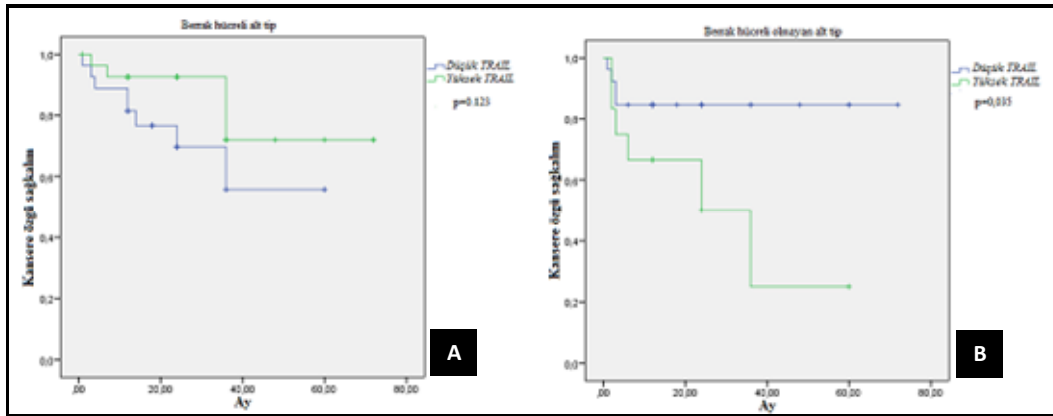


**Şekil 4.6.** TRAIL-R3'ün nükleer grade ve pT evresine göre kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; düşük grade, **B**; yüksek grade, **C**; düşük pT evresi, **D**; yüksek pT evresi.

TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyelerinin, histolojik alt tipe göre berrak hücreli olanlar ve berrak hücreli olmayanlarda kansere özgü sağkalımla ilişkisi de araştırılmıştır. Düzenli kontrole gelen ve sağkalım analizine dahil edilen 93 hastanın 55 tanesi (%59.1) berrak hücreli alt tip grubunda, 38 tanesi (%40.9) ise berrak hücreli olmayan alt tip grubundadır.

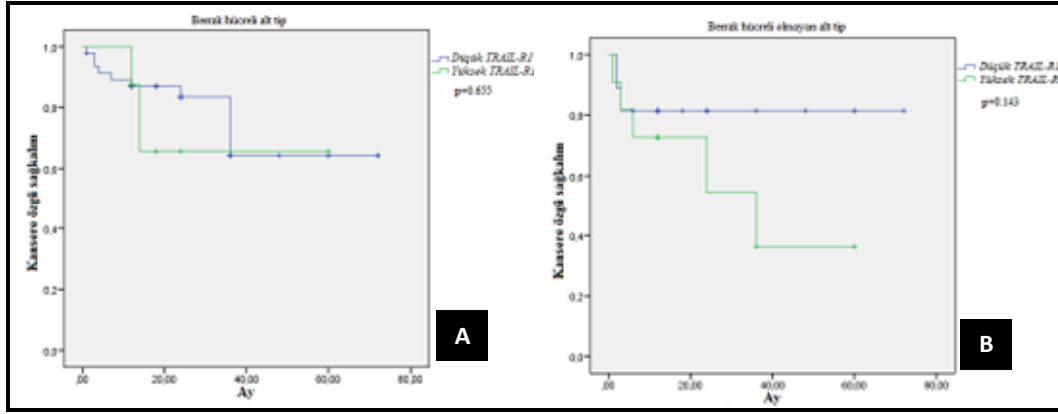
Histolojik alt tip gruplarında TRAIL ekspresyon seviyesi için yapılan sağkalım analizlerinde; berrak hücreli alt tip grubunda düşük TRAIL ekspresyonu için 6 yıllık kansere özgü sağkalım oranı %70.4, yüksek TRAIL ekspresyonu içinse bu oran %85.7'dir. Altı yıllık takip için kansere özgü tahmini ortalama sağkalım süreleri ise düşük TRAIL ekspresyonu için 42 ( $\pm 5.2$ ) ay; yüksek TRAIL ekspresyonu içinse 59.6 ( $\pm 5.4$ ) aydır. Berrak hücreli alt tipte, TRAIL ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişkisi bulunmamıştır ( $p=0.123$ ) (Şekil 4.7.)

Berrak hücreli olmayan alt tiplerin oluşturduğu alt grupta ise 6 yıllık kansere özgü sağkalım oranı düşük TRAIL ekspresyonu için %84.6; yüksek TRAIL ekspresyonu içinse %50'dir. Altı yıllık takip sonucu kansere özgü tahmini ortalama sağkalım süresi ise düşük TRAIL ekspresyonu için 61.2 ( $\pm 4.9$ ) ay; yüksek TRAIL ekspresyonu içinse 29 ( $\pm 7$ ) aydır. Berrak hücreli olmayan alt tip grubunda, yüksek TRAIL ekspresyon düzeyi daha düşük kansere özgü sağkalım oranıyla anlamlı olarak ilişkilidir ( $p=0.035$ ) (Şekil 4.7.).

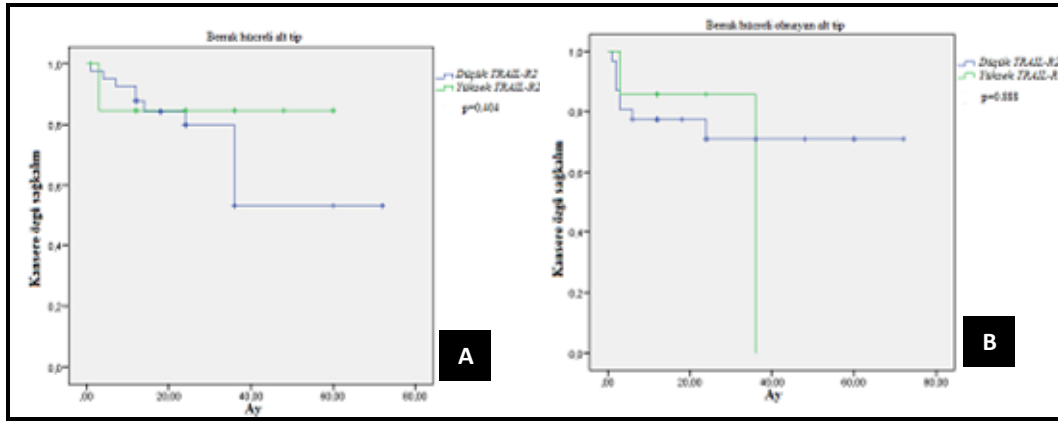


**Şekil 4.7.** Histolojik alt tipe göre TRAIL ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi. A; Berrak hücreli alt tip B; Berrak hücreli olmayan alt tip.

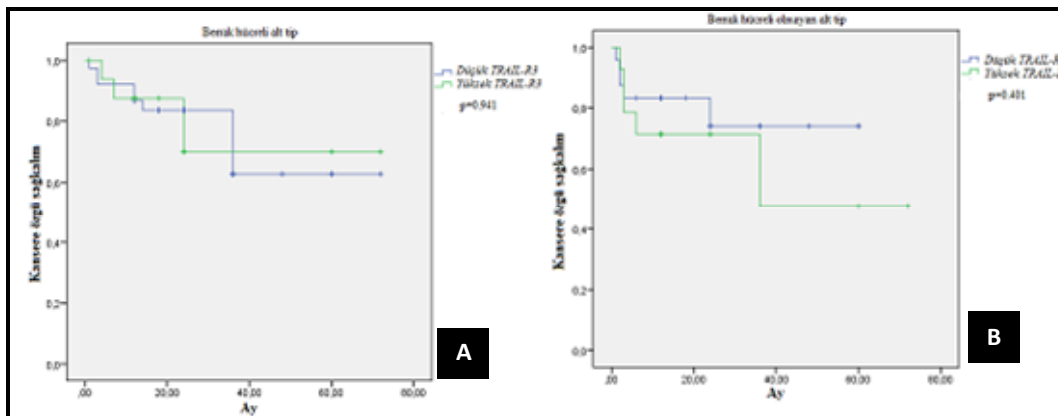
Histolojik alt tipe göre yapılan analizlerde, berrak hücreli olanlarda ve berrak hücreli olmayanlarda TRAIL-R1, TRAIL-R2 ve TRAIL-R3 ekspresyon seviyeleri ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (Şekil 4.8, 4.9, 4.10).



**Şekil 4.8.** Histolojik alt tipe göre TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; Berrak hücreli alt tip, **B**; Berrak hücreli olmayan alt tip.



**Şekil 4.9.** Histolojik alt tipe göre TRAIL-R2 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; Berrak hücreli alt tip, **B**; Berrak hücreli olmayan alt tip.



**Şekil 4.10.** Histolojik alt tipe göre TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin kansere özgü sağkalıma etkisi. **A**; Berrak hücreli alt tip, **B**; Berrak hücreli olmayan alt tip.

## 5. SONUÇLAR

- Yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin, erkek hastalarda kadın hastalara göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü (%48.8 vs %27.2);
- Yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin berrak hücreli alt tipte, berrak hücreli olmayanlara göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü (%51.3 vs %26);
- Berrak hücreli olmayan alt tip grubunda, yüksek TRAIL ekspresyon düzeyinin, düşük kansere özgü sağkalım oranıyla ilişkili olduğu;
- Yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin berrak hücreli olmayan alt tip grubunda berrak hücreli alt tipe göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü (%28 vs %11.8);
- Yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin, yüksek pT evresi (pT3, pT4) ile anlamlı olarak ilişkili olduğu;
- Yüksek TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin, yüksek pT evresi (pT3/pT4) ile anlamlı olarak ilişkili olduğu;
- Yüksek TRAIL-R3 reseptör ekspresyon seviyesinin yüksek nükleer grade ile anlamlı olarak ilişkili olduğu;
- TRAIL-R2 ekspresyon seviyesinin klinik ve patolojik prognostik faktörlerle anlamlı ilişkisinin olmadığı;
- TRAIL-R4'ün, hastaların sadece %6.3'ünün tümör dokusunda ve genel olarak zayıf boyandığı;
- Tek değişkenli sağkalım analizinde TRAIL, TRAIL-R1, TRAIL-R2 ve TRAIL-R3'ün ekspresyon seviyesinin tüm RHK hastaları için, kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişkisinin olmadığı bulunmuştur.

## 6. TARTIŞMA

Renal hücreli karsinom (RHK), böbrek kanserlerinin en yaygın formudur ve tüm böbrek kanseri vakalarının %90'ına yakını oluşturur (2). İlk tanı anında, hastaların yaklaşık %70-80'i lokal hastalığa sahiptir ve cerrahi tedavi bu hastaların çoğunda etkilidir (2). Bununla birlikte, hastaların yaklaşık 1/3'ü ise metastatik hastalık ile başvurmaktadır (3,4). Metastatik RHK ise kemoterapiye oldukça dirençlidir (5).

Kemoterapi direnci nedeniyle metastatik RHK tedavisinde farklı modaliteler geliştirilmiştir. IL-2 ve IFN-alfa'nın kullanıldığı immünoterapi uzun dönem bu hastaların tedavisinde birinci seçenek olmuştur. RHK biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla beraber hedefe yönelik tedaviler gündeme gelmiş ve VEGF, mTOR gibi yolakları hedef alan moleküller günümüzde immünoterapinin yerini almıştır.

RHK'de hastaların %20-30'u tanı anında metastatiktir (110). Tanıda metastatik olmayanların da %20-40'ında izlemde metastaz gelişir (103,116). Metastatik hastalıkta ise geliştirilen yeni ilaçlara rağmen tedavi başarı oranları %15-20'yi geçmemektedir (110). Bu nedenle, hastaların tanı anında prognozlarının öngörülmesi ve özellikle ileri evre hastaların zaman kaybetmeden bu sınırlı ve çok etkin olmayan tedavi rejimlerine alınması oldukça önemlidir (110).

Genel olarak, patolojik evre, tümör çapı, nükleer grade ve histolojik alt tip gibi tümörle ilişkili faktörler, bağımsız olarak prognozu öngörmeye en fazla yararlı faktörlerdir (40). Bununla birlikte, çok değişkenli analizlerde birçok faktörü entegre eden bütünleştirici bir yaklaşımın en güçlü faktör olduğu ortaya konmuştur (117).

Bahsedilen faktörlerle birlikte üzerinde çalışılan, RHK için prognostik değeri olabilecek birçok moleküler belirteç bulunmaktadır (40). VHL geni tarafından regüle edilen CA-IX bunlardan biridir (14). Ki-67 olarak belirlenen artmış proliferatif indeksin berrak hücreli RHK'da azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13,15). Diğer prognostik değeri olabilecek moleküller ise tümör supresör TP-53, VEGF ailesinin üyelerinin de arasında bulunduğu çeşitli büyüme faktörleri ve adezyon molekülleridir (129).

Son yıllarda hem prognostik bir faktör, hem de hedefe yönelik tedavi için TRAIL ve reseptörleri üzerinde çalışılmaktadır.

TRAIL ve reseptörleri immün yanıtta ve tümör oluşumunda düzenleyici göreve sahip moleküllerdir.

Fare modeli üzerinde yapılan bir çalışma TRAIL'in karaciğer NK (natural killer) hücreleri yoluyla tümör metastazında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (173).

RHK hücreleri üzerinde yapılan birçok çalışma, TRAIL'in tümör gelişimiyle fonksiyonel ilişkisini ortaya koymaya çalışmıştır (174,175).

Biz bu çalışmada TRAIL ve reseptörlerinin, tümör oluşum sürecine bilinen potansiyel etkileri nedeniyle RHK'da, TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonunu ve bu moleküllerin prognostik faktörlerle ilişkisi üzerinden klinik etkilerini araştırdık.

Daha önce yapılan çalışmalardan Bin Teh ve ark.'nın bulduğu sonuçlara göre, berrak hücreli RHK vakalarında, normal dokuya göre tümörlü dokuda daha yüksek oranda TRAIL ve TRAIL-R2 ekspresyonu izlenmiştir. Ancak TRAIL ve TRAIL-R2 mRNA ekspresyon seviyeleri ile klinik sonuçlar arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Başka kanser tipleri üzerine de bu konuyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Meme kanserli ve küçük hücre dışı akciğer kanserli hastalarda yüksek TRAIL-R2 ekspresyonunun kötü prognozla anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (176,177). Evre 3, adjuvan tedavi alan kolon kanserlerinde ise yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyeleri daha kötü hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım süreleri ile ilişkili bulunmuştur (178). Bununla birlikte bir başka çalışmada ise kolon kanserinde yüksek TRAIL-R1 ekspresyonunun hastaliksız sağkalım ile pozitif korelasyon gösterdiği açıklanmıştır (179). Glioblastomda ise yüksek seviyede TRAIL-R2 ekspresyonu ve iyi prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur (180). Bu sonuçlar TRAIL ve reseptörlerinin prognostik öneminin malignitenin tipine göre değişkenlik gösterebildiğini işaret etmektedir.

Macher-Goeppinger ve arkadaşlarının yaptıkları, TRAIL ve reseptörlerinin RHK'da prognostik değerini araştıran bir çalışmada, artmış TRAIL-R2 ekspresyon seviyeleri yüksek grade RHK ile ilişkili bulunmuş ve ileri evre (T3, T4) hastalarda

güçlü bir prognostik faktör olduğu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada yüksek TRAIL-R4 ekspresyon seviyeleri ise daha küçük tümör çapları ve uzak metastazın olmamasıyla ilişkili bulunmuştur. TRAIL ekspresyon seviyesinin ise klinik ve patolojik özelliklerin hiçbirisiyle anlamlı bir ilişki içinde olmadığı ancak düşük gradeli (grade 1, grade 2) ve düşük evreli (T1, T2) hastalarda kanser spesifik sağkalım için anlamlı bir prognostik faktör olarak bulunmuştur. Bahsedilen çalışmada TRAIL-R1 ve TRAIL-R3, tümörlü dokuda saptanmadığı veya çok az eksprese edildiği için değerlendirilememiştir (181).

Bizim çalışmamızda ise TRAIL, TRAIL-R1, TRAIL-R2 ve TRAIL-R3 değerlendirilmiş ancak TRAIL-R4 için internal kontrolde boyanma olmasına rağmen, tümör dokusu için yalnızca 8 hastada (%6.3); normal böbrek parankimi içinse yalnızca 22 hastada (%21.5) ve genel olarak zayıf boyanma olmuştur. Bu nedenle istatistiksel çalışmaya alınmamıştır. Bununla birlikte TRAIL-R4'ün boyanmamasının daha yüksek hasta sayılı serilerde değerlendirilmesi gereklidir. Çünkü overekspresyonunda antiapoptotik genleri indükleyen NF- $\kappa$ B'yi aktive ettiği öne sürülen TRAIL-R4'ün tümörlü dokuda gerçekten düşük oranda eksprese ediliyor olması, TRAIL-R4'ün hücre içi sinyal yollarında da bir sorun olabileceğini gösterebilir.

Çalışmamızda yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesi ile yüksek pT evresi (pT3/pT4) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Çalışmamızdaki sonuç ile uyumlu olabilecek bir sonuç van Geelen ve ark.'nın evre 3 kolon kanserli hastalar üzerinde yaptığı çalışmada ortaya konulmuştur. Bu çalışmada yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin daha kötü hastalısız sağkalım ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (178). TRAIL-R1, ölüm reseptörü olarak tanımlandığı ve TRAIL ile uyarılması sonucu apoptozu indüklediği için yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinde yüksek pT evresi beklenmemektedir. Bununla birlikte TRAIL, oldukça güçlü bir apoptoz aktivatörü olmakla birlikte çalışmalardan elde edilen kanıtlar TRAIL'in NF- $\kappa$ B, JNK (Janus kinaz) ve ERK yolları ile nonapoptotik sinyaller gönderdiğini de göstermektedir (171). Moleküler çalışmalar TRAIL'in reseptörlerine bağlanmasından sonra DISC kompleksi hariç ikinci bir sinyalizasyon kompleksi oluşturduğunu göstermektedir (171). Oluşan bu ikinci kompleks Nf- $\kappa$ B ve ERK yollarını aktive etmektedir

(170). TRAIL tarafından NF- $\kappa$ B aktivasyonunun, apoptoz sınırlaması, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu ve TRAIL ile indüklenen apoptoza dirençli kanser hücrelerinde invazyon ile sonuçlandığı düşünülmektedir (170). TRAIL, ayrıca bu sekonder kompleks yoluyla hücre migrasyonu, proliferasyonu ve differansiasyonunda görevli MAPK (mitogen activated protein kinases), Akt/PKB (protein kinase B) ve ERK yolaklarını da aktive etmektedir (172). Yüksek TRAIL-R1 reseptör ekspresyonunda beklenenin aksine yüksek pT evresi görülmesi, bu karmaşık hücre içi sinyal yollarında nonapoptotik ve proliferatif süreç lehine gelişen bir bozukluğu gösterebilir ve dolayısıyla apoptoza ve TRAIL-R1'i hedef alan ilaçlara karşı gelişen direnci açıklayabilir.

Yüksek TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin ise yüksek pT evresi ve yüksek nükleer grade ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin olduğu gösterilmiştir. TRAIL-R3, intrasitoplazmik ölüm domeini içermediği için tuzak reseptör olarak görev yapar ve apoptozda görevi yoktur. Bu nedenle yüksek ekspresyon düzeylerinde TRAIL-R3'ün apoptozu engelleyerek daha büyük tümör boyutlarına ve daha yüksek nükleer gradeli tümör oluşumuna neden olması beklenen bir sonuçtur.

Ölüm reseptörü olarak görev yapan TRAIL-R2'nin ise klinik ve patolojik prognostik faktörlerle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Ayrıca yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin, berrak hücreli alt tip grubunda berrak hücreli olmayanlara göre daha sık görüldüğü; bununla birlikte yüksek TRAIL-R1 ekspresyon düzeylerinin TRAIL'in aksine berrak hücreli olmayan alt tip grubunda berrak hücreli alt tip grubuna göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü bulunmuştur. Ancak berrak hücreli olmayan alt tiplerin oluşturduğu grup tümör davranışı açısından homojen olmayan histolojik tiplerden oluştuğu için bu sonuçların daha yüksek hasta sayılı çalışmalarda doğrulanması gerekebilir. Benzer şekilde yüksek TRAIL ekspresyon seviyesi ile erkek cinsiyet arasındaki ilişki de daha geniş çalışmalarda değerlendirilmelidir.

Tek değişkenli sağkalım analizi sonucunda tüm RHK hastaları için TRAIL, TRAIL-R1, TRAIL-R2 ve TRAIL-R3'ün kansere özgü sağkalım üzerine anlamlı etkisi bulunmamıştır. Ancak histolojik tipe göre yapılan alt grup analizlerinde berrak hücreli olmayan histolojik tiplerin oluşturduğu grupta, yüksek TRAIL

ekspresyon düzeyi daha kötü kansere özgü sağkalım oranlarıyla anlamlı ilişkili bulunmuştur. Bu sonuç, berrak hücreli olmayan histolojik tiplerde TRAIL'e verilen reseptör yanıtının nonapoptotik ve proliferatif süreç lehine olduğunu ve bu grup hastalarda TRAIL'in, hedefe yönelik tedavinin bir parçası olabileceğini gösterebilir. Ancak bu grubun, tümör davranışı açısından heterojen olan histolojik tiplerden oluştuğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak, her ne kadar kansere özgü sağkalımla anlamlı ilişkisi bulunmasa da TRAIL-R1 ve TRAIL-R3'ün, pT evresi ve nükleer grade ile anlamlı ilişkisinin bulunması, RHK'nin sistemik tedavisi için geliştirilmekte olan hedefe yönelik tedavi modalitelerinde bu reseptörlere yoğunlaşılmasını sağlayabilir. Yüksek TRAIL-R1 ekspresyonunun yüksek pT evresi ile anlamlı ilişkisinin olması hücre içi sinyal yolları düzeyinde, apoptoza ve TRAIL-R1'i hedef alan ilaçlara karşı gelişen direnci açıklayabilir. Histolojik alt tipe göre TRAIL'in sağkalıma etkisi daha yüksek hasta sayılı çalışmalarla değerlendirilmelidir. Aynı şekilde TRAIL ve reseptörlerinin sağkalıma etkisi daha yüksek hasta sayılı, uzun takip süreli, prospektif çalışmalarla değerlendirilmelidir.

## 7. ÖZET

### **Renal Hücreli Karsinomda Tümör Nekroz Faktör İlişkili Apoptoz Uyarıcı Ligand (TRAIL) ve Reseptörlerinin Ekspresyonu**

Renal hücreli karsinom (RHK), metastatik hastalık ve mortalite riski yüksek bir kanserdir. Ayrıca metastatik hastalık kemoterapiye dirençlidir. Bu yüzden, yüksek riskli hastaları belirleyebilecek prognostik değeri olan ve hedefe yönelik tedavide yer alabilecek moleküller üzerinde çalışmalar devam etmektedir. TRAIL ve reseptörleri immün yanıtta ve tümör oluşumunda apoptotik yollar üzerinden etkileri olan moleküllerdir. Bu çalışmada RHK hastalarında TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonu ve klinik ve patolojik olarak prognostik değeri olan faktörlerle ilişkisi değerlendirilmiştir.

RHK tanısı olan 137 hastanın verileri retrospektif olarak incelenmiştir. Hastaların parafin blokları, tümör ve çevresindeki normal böbrek dokusunu da kapsayan kesitler halinde hazırlanmıştır. Hastaların 11 tanesi bloklarda yetersiz doku bulunması nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır. TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyesi immünohistokimya yöntemiyle araştırılmış ve prognostik faktörlerle ve sağkalımla ilişkisi incelenmiştir. TRAIL-R4, yalnızca 8 hastanın tümör dokusunda boyandığı için istatistiksel çalışma dışında tutulmuştur.

Analizler sonucunda yüksek TRAIL-R1 ekspresyon düzeyinin, yüksek pT evresi (pT3/pT4) ile ( $p=0.043$ ); yüksek TRAIL-R3 ekspresyon seviyesinin ise yüksek pT evresi ( $p=0.042$ ) ve yüksek nükleer grade (G3/G4) ( $p=0.006$ ) ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin olduğu bulunmuştur. Yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin, berrak hücreli alt tip grubunda, berrak hücreli olmayanların oluşturduğu alt tip grubuna göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü ( $p=0.005$ ); yüksek TRAIL-R1 ekspresyon seviyesinin ise aksine berrak hücreli olmayan alt tiplerde berrak hücrelilere göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü bulunmuştur ( $p=0.033$ ). Ayrıca Yüksek TRAIL ekspresyon seviyesinin, erkek hastalarda kadın hastalara göre anlamlı olarak daha sık görüldüğü saptanmıştır ( $p=0.019$ ). TRAIL-R2 ekspresyon seviyesinin ise değerlendirilen klinik ve patolojik özelliklerle arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tek değişkenli

sağkalım analizleri, tüm RHK hastaları için TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon seviyeleri ile kansere özgü sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadığını göstermiştir. Ancak alt grup analizlerinde, berrak hücreli olmayan histolojik tiplerin oluşturduğu grupta, yüksek TRAIL ekspresyon seviyesi daha düşük kansere özgü sağkalım oranıyla anlamlı ilişkili bulunmuştur (p= 0.035). Bu bulgu, TRAIL'e verilen reseptör yanıtının berrak hücreli olmayan grupta antiapoptoz lehine olduğu şeklinde yorumlanabilir ve bu grup hastaların hedefe yönelik tedavi stratejilerine yön verebilir. Ayrıca TRAIL-R4'ün çok düşük oranda bulunması daha geniş serilerde değerlendirilmelidir. Çünkü overekspresyonunda antiapoptotik genleri indükleyen NF- $\kappa$ B'yi aktive ettiği öne sürülen TRAIL-R4'ün tümörlü dokuda gerçekten düşük oranda eksprese ediliyor olması TRAIL-R4'ün hücre içi sinyal yollarında da bir sorun olabileceğini gösterebilir.

Sonuç olarak yüksek TRAIL-R1 düzeyinin, yüksek pT evresi ile ve yüksek TRAIL-R3 düzeyinin yüksek pT evresi ve yüksek nükleer grade ile ilişkili olması, RHK'nin hedefe yönelik tedavi stratejilerinde bu reseptörlerin önemine işaret etmektedir. TRAIL ve reseptörlerinin sağkalıma olan etkileri ise daha geniş serilerde ve prospektif çalışmalarla değerlendirilmelidir.

**Anahtar kelimeler:** RHK, TRAIL, TRAIL reseptörleri, prognostik faktör.

## **8. ABSTRACT**

### **Expression of Tumor Necrosis Factor Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) and TRAIL Receptors in Renal Cell Carcinoma**

Renal cell carcinoma (RCC) is a cancer with a very high risk of metastatic disease and mortality. Also, it's resistant to chemotherapy in case of metastasis. So, several studies are going on to search out new molecules which have prognostic value to detect high risk patients and which can be used for targeted therapy in metastatic cases. TRAIL and its receptors have a regulation role on immune surveillance and tumor development by using apoptotic pathways. In this study, we analyzed the expression of TRAIL and its receptors and their possible affect on the clinical and pathological prognostic factors in patients with RCC.

We examined the data of 137 patients retrospectively who had RCC diagnosis. Tissue samples, containing tumor and corresponding normal tissue were prepared from the paraffin blocks. Eleven of the patients were excluded from further analysis because of insufficient tumor tissue in paraffin blocks. Expression levels of TRAIL and its receptors were searched by immunohistochemistry method. Then the association of TRAIL's and its receptors' expression level with the prognostic factors and survival was examined. Because of staining weakly and only in eight patient's tumor tissue, TRAIL-R4 was excluded from statistical analysis.

Analyses results have shown that, high TRAIL-R1 expression levels were significantly associated with high pT stages (pt3/pT4) ( $p=0.043$ ) and high TRAIL-R3 expression levels were significantly associated with high pT stages ( $p=0.042$ ) and with high nuclear grades (G3/G4) ( $p=0.006$ ). High TRAIL expression levels were significantly more common in clear cell subtypes compared to group which consists of other subtypes ( $p=0.005$ ) and contrarily high TRAIL-R1 expression levels were significantly more common in the group of other subtypes compared to clear cell subtypes ( $p=0.033$ ). Also high TRAIL expression levels were significantly more common in the males compared to females ( $p=0.019$ ). TRAIL-R2 expression levels were not associated with any of

the clinical and pathological features. For all RCC patients univariate survival analyses showed that the expression levels of TRAIL and TRAIL receptors were not associated with cancer specific survival. But in subgroup analyses, it was shown that high TRAIL expression levels were significantly associated with lower cancer specific survival rates in the subgroup of non-clear cell histological subtypes ( $p=0.035$ ). This finding can be interpreted as the answer of the receptors to TRAIL is in favor of antiapoptosis in non-clear cell histological subtypes of RCC and it can give direction to targeted therapy strategies of this group of patients. Staining of TRAIL-R4 only in a small proportion should be evaluated in larger series. Because an actual low expression of TRAIL-R4 (the receptor which induces antiapoptotic genes by NF- $\kappa$ B in case of overexpression) may point a problem for intracellular signal pathways of TRAIL-R4.

As a result, the association of high TRAIL-R1 expression levels with high pT stage and the association of high TRAIL-R3 expression levels with high pT stage and high nuclear grade, points the importance of these receptors in targeted therapy strategies. The effect of TRAIL and its receptors on survival should be evaluated in larger series and in prospective studies.

**Key words:** RCC, TRAIL, TRAIL receptors, prognostic factor.

## 9. KAYNAKLAR

1. National Cancer Institute of Canada. Canadian Cancer Statistics 2012. Toronto, Canada (<http://www.cancer.ca>). Accessed 23 May 2013.
2. Nelson EC, Evans CP, Lara PN Jr. Renal cell carcinoma: current status and emerging therapies. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 299–313.
3. Najjar Y, Rini B, Novel agents in renal carcinoma: a reality check. *Ther Adv Med Oncol* 2012; 4(4): 183–94.
4. Stadler W. Targeted agents for the treatment of advanced renal cell carcinoma, *Cancer* 2005; 104(11): 2323–33.
5. Mattei D, da Silva RD, Sehr D, Molina WR, Kim FJ. Targeted therapy in metastatic renal carcinoma. *J Can Let* 2014; 343: 156-60.
6. Iacovelli R, Alesini D, Palazzo A, Trenta P, Santoni M, Marchis LD, et al. Targeted therapies and complete responses in first line treatment of metastatic renal cell carcinoma. A meta-analysis of published trials. *Cancer Treatment Reviews* 2014; 40: 271-5.
7. Berg W, Divgi C, Nanus D, Motzer R. Novel investigative approaches for advanced renal cell carcinoma, *Semin Oncol* 2000; 27(2): 234–9.
8. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 289-96.
9. McDermott DF, Regan MM, Clark JI. Randomized phase III trial of high-dose interleukin-2 versus subcutaneous interleukin-2 and interferon in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(1): 133-41.
10. Atkins M. Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 3714–21.
11. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 427–34.
12. Sternberg CN, Hawkins RE, Wagstaff J, Salman P, Mardiak J, Barrios CH, et al. A randomised, double-blind phase III study of pazopanib in patients with advanced and/or metastatic renal cell carcinoma: final overall survival results and safety update. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1287–96.

13. Parker AS, Leibovich BC, Lohse CM. Development and evaluation of BioScore: a biomarker panel to enhance prognostic algorithms for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2009; 115(10): 2092–103.
14. Bui MH, Seligson D, Han K. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 802–11.
15. Klatte T, Selligson DB, LaRochelle J. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 894–900.
16. Almasan A, Ashkenazi A. Apo2L/TRAIL: apoptosis signaling, biology and potential for cancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003; 14(3-4): 337-48.
17. Kruyt FAE. TRAIL and cancer therapy. *J Can Let* 2008; 263: 14-25.
18. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon, France: IARC Press; 2004.
19. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO Classification of the Renal Tumors of the Adults. *Euro Urol* 2006; 49: 798 - 805.
20. Parkin CM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas D. Cancer Incidence in Five Continents. IARC Scientific Publications No. 155. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, vol. VIII, 2002
21. SEER Program Public Use Data Tapes 1973–2002, November 2004 Submission. Bethesda: National Cancer Institute, Division of Cancer Control and Population Science, Surveillance Program, Cancer Statistics Branch 2005.
22. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics: 1999. *CA Cancer J Clin* 1999; 49: 8–31.
23. Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166: 1611–23.
24. Garcia JA, Cowey CL, Godley PA. Renal Cell Carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2009; 21(3): 266-71.
25. Russo P, Huang W. The medical and oncological rationale for partial nephrectomy for the treatment of T1 renal cortical tumors. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 635–43.

26. Carrizosa DR, Godley PA. Epidemiology and screening of renal cell carcinoma. In: Rini BI, Campbell SC, editors. Renal cell carcinoma. Shelton (CT): People's Medical Publishing House 2009; 15–24.
27. Jemal A, Siegel R, Ward E. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225–49.
28. Ferlay J, Parkin, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer* 2010; 46(4): 765-81.
29. Wallen EM, Pruthi RS, Joyce GF. Kidney Cancer. *J Urol* 2007; 177: 2006–19.
30. DeCastro GJ, McKiernan JM. Epidemiology, clinical staging and presentation of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 581–92.
31. Woldrich JM, Mallin K, Ritchey J. Sex differences in renal cell cancer presentation and survival: an analysis of the National Cancer Database, 1993–2004. *J Urol* 2008; 179(5): 1709–13, discussion 1713.
32. Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni Jr JR. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA* 1999; 281: 1628–31.
33. Kummerlin IP, Ten Kate FJ, Wijkstra H. Changes in the stage and surgical management of renal tumors during 1995–2005: an analysis of the Dutch national histopathology registry. *BJU Int* 2008; 102(8): 946–51.
34. Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JW. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1345–89.
35. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 115: 2893–917.
36. Ljunberg B, Campbell SC, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, Kiemeny LA. The epidemiology of renal cell carcinoma. *J Eur Urol* 2011; 60: 615-21.
37. Freedman AL, Vats TS, Stewart T. Renal cell carcinoma in children: the Detroit experience. *J Urol* 1996; 155: 1708–10.
38. Asanuma H, Nakai H, Takeda M. Renal cell carcinoma in children: experience at a single institution in Japan. *J Urol* 1999; 162: 1402–5.
39. Broecker B. Non-Wilms' renal tumors in children. *Urol Clin North Am* 2000; 27(3): 463–9.

40. Campbell SC, Lane BR. Malignant renal tumors. In: Kavoussu LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, eds. *Campbell-Walsh Urology*. 10th ed. Philadelphia: Saunders; 2012; 1413-74.
41. Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK. The epidemiology of renal cell carcinoma. *J Urol* 2006; 176: 2353–8.
42. Störkel S. Classification of renal cancer: Correlation of morphology and cytogenetics. In: Vogelzang NJ, Scardino PT, Shipley WU, Coffey DS, editors. *Comprehensive textbook of genitourinary oncology*, 2<sup>nd</sup> ed. Baltimore: Williams&Wilkins 1996; 179–86.
43. Oyasu R. Renal cancer: Histologic classification update. *Int J Clin Oncol* 1998; 3: 125–33.
44. Pantuck AJ, Zisman A, Beldegrun A. Biology of renal cell carcinoma: changing concepts in classification and staging. *Semin Urol Oncol* 2001; 19: 72–9.
45. Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: metaanalysis of 24 studies. *Int J Cancer* 2005; 114(1): 101-8.
46. McLaughlin JK, Lindblad P, Mellemegaard A. International renal cell cancer study: I. Tobacco use. *Int J Cancer* 1995; 60: 94–198.
47. McLaughlin JK, Lipworth L. Epidemiologic aspects of renal cell cancer. *Semin Oncol* 2000; 27: 115–23.
48. Bergstrom A, Hsieh CC, Lindblad P, Lu CM, Cook NR, Wolk A. Obesity and renal cell cancer—a quantitative review. *Br J Cancer* 2001; 85: 984.
49. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev* 2004; 4: 579.
50. Klinghoffer Z, Yang B, Kapoor A, Pinthus JH. Obesity and renal cell carcinoma: epidemiology, underlying mechanisms and management considerations. *Expert Rev Anticancer Ther* 2009; 9(7): 975-87.
51. Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr, Järholm B. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med* 2000; 343(18): 1305-11.
52. Chow WH, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol* 2010; 7(5): 245-57.
53. Miller LR, Soffer O, Nasser VH, Kutner MH. Acquired renal cystic disease in end stage renal disease: an autopsy study of 155 cases. *Am J Nephrol* 1989; 9: 322–8.

54. Port FK, Ragheb NE, Schwartz SH, Hawthorne VM. Neoplasms in dialysis patients: a population-based study. *Am J Kidney Dis* 1989; 14: 119–23.
55. Yuan JM, Gago-Dominguez M, Ross RK, Yu MC. Hypertension, obesity and their medications in relation to renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 1998; 77: 1508–13.
56. Vogelzang NJ, Yang X, Goldman S, Vijayakumar S, Steinberg G. Radiation induced renal cell cancer: a report of 4 cases and review of the literature. *J Urol* 1998; 160(6 Pt 1): 1987-90.
57. Gago-Dominguez M, Castelao JE, Yuan JM. Family history and risk of renal cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(9): 1001–4.
58. Coleman JA. Familial and hereditary renal cancer syndromes. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 563–72.
59. Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol* 2009; 16(5): 432-43.
60. Nathanson KL, Stephenson AJ. Diagnosis and management of inherited renal cancer. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People’s Medical Publishing House 2009; 25–40.
61. Neumann HP, Zbar B. Renal cysts, renal cancer, and von Hippel-Lindau disease. *Kidney Int* 1997; 51: 16–26.
62. Meister M, Choyke P, Anderson C, Patel U. Radiological evaluation, management, and surveillance of renal masses in Von Hippel-Lindau disease. *Clin Radiol* 2009; 64(6): 589-600.
63. Vira MA, Novakovic KR, Pinto PA. Genetic basis of kidney cancer: a model for developing molecular-targeted therapies. *BJU Int* 2007; 99: 1223–9.
64. Merino MJ, Torres-Cabala C, Pinto P, Linehan WM. The morphologic spectrum of kidney tumors in hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma (HLRCC) syndrome. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(10): 1578-85.
65. Grubb RL 3<sup>rd</sup>, Franks ME, Toro J, Middleton L, Choyke L, Fowler S, et al. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: a syndrome associated with an aggressive form of inherited renal cancer. *J Urol* 2007; 177(6): 2074-9.
66. Cohen D, Zhou M. Molecular genetics of familial renal cell carcinoma syndromes. *Clin Lab Med* 2005; 25: 259–77.
67. Pavlovich CP, Walther MM, Eyler RA, Hewitt SM, Zbar B, Linehan WM, et al. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(12): 1542-52.

68. Hansel DE, Rini BI. Molecular genetics of hereditary renal cancer: new genes and diagnostic and therapeutic opportunities. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8: 895–905.
69. Chapman AE, Goldstein LJ. Multiple drug resistance: biologic basis and clinical significance in renal cell carcinoma. *Semin Oncol* 1995; 22: 17–28.
70. Shuch B, Li Z, Belldegrun AS. Carbonic anhydrase IX and renal cell carcinoma: prognosis, response to systemic therapy, and future vaccine strategies. *BJU Int* 2008; 101(Suppl. 4): 25–30.
71. McKiernan JM, Buttyan R, Bander NH, et al. The detection of renal carcinoma cells in the peripheral blood with an enhanced reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for MN/CA9. *Cancer* 1999; 86: 492–7.
72. Kim HL, Sun X, Subjeck JR. Evaluation of renal cell carcinoma vaccines targeting carbonic anhydrase IX using heat shock protein 110. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56(7): 1097–105.
73. Divgi CR, Pandit-Taskar N, Jungbluth AA. Preoperative characterization of clear-cell renal carcinoma using iodine-124-labelled antibody chimeric G250 (124I-cG250) and PET in patients with renal masses: a phase 1 trial. *Lancet Oncol* 2007; 8: 304–10.
74. Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin Cancer Res* 2007; 13(2 pt 2): 709–15.
75. Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(49): 17174–9.
76. Oliver RTD, Nethersell ABW, Bottomley JM. Unexplained spontaneous regression and alpha-interferon as treatment for metastatic renal carcinoma. *Br J Urol* 1989; 63: 128–31.
77. Vogelzang NJ, Priest ER, Borden L. Spontaneous regression of histologically proved pulmonary metastases from renal cell carcinoma: a case with 5-year follow-up. *J Urol* 1992; 144: 1247–8.
78. Finke JH, Rayman P, George R. Tumor-induced sensitivity to apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma: role of nuclear factor-kappaB suppression. *Clin Cancer Res* 2001; 7(3S): 940–6.
79. Ling W, Rayman P, Uzzo R. Impaired activation of NFkB in T cells from a subset of renal cell carcinoma patients is mediated by inhibition of

- phosphorylation and degradation of the inhibitor, I $\kappa$ B $\alpha$ . *Blood* 1998; 92: 1334–41.
80. Rini BI, Small EJ. Biology and clinical development of vascular endothelial growth factor-targeted therapy in renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(5): 1028–43.
  81. Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J Urol* 2003; 170: 2163–72.
  82. Kim WY, Armstrong AJ, George DJ. mTOR pathway biology in renal cell carcinoma. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People's Medical Publishing House 2009; 225–34.
  83. Lieubeau-Teillet B, Rak J, Jothy S. von Hippel-Lindau gene-mediated growth suppression and induction of differentiation in renal cell carcinoma cells grown as multicellular tumor spheroids. *Cancer Res* 1998; 58: 4957–62.
  84. Paul R, Necking U, Busch R. Cadherin-6: a new prognostic marker for renal cell carcinoma. *J Urol* 2004; 171: 97–101.
  85. Amin MB, Tamboli P, Javidan J, Stricker H, de-Peralta Venturina M, Deshpande A, et al. Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(3): 281-91.
  86. Ficarra V, Brunelli M, Cheng L, Kirkali Z, Lopez-Beltran A, Martignoni G, et al. Prognostic and therapeutic impact of the histopathologic definition of parenchymal epithelial renal tumors. *Eur Urol* 2010; 58: 655-68.
  87. Gontero P, Ceratti G, Guglielmetti S. Prognostic factors in a prospective series of papillary renal cell carcinoma. *BJU Int* 2008; 102: 697–702.
  88. Störkel S, Ebie JN, Adlakha K. Classification of renal cell carcinoma: workgroup no.1 Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997; 80: 987–9.
  89. Rosner I, Bratslavsky G, Pinto PA. The clinical implications of the genetics of renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2009; 27: 131–6.
  90. Pavlovich CP, Schmidt LS. Searching for the hereditary causes of renal cell carcinoma. *Nature Reviews* 2004; 4: 381–93.
  91. Beck SD, Patel MI, Snyder ME. Effect of papillary and chromophobe cell type on disease-free survival after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(1): 71–7.
  92. Kılıçaslan I. Böbrek tümörlerinde patoloji. *Türkiye Klinikleri J Urology-Special Topics* 2011; 4(1): 18-25.

93. Klatte T, Han KR, Said JW. Pathobiology and prognosis of chromophobe renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2008a; 26: 604–9.
94. Swartz MA, Karth J, Schneider DT. Renal medullary carcinoma: clinical, pathologic, immunohistochemical, and genetic analysis with pathogenetic implications. *Urology* 2002; 60(6): 1083–9.
95. Carter MD, Tha S, McLoughlin MG, Own DA. Collecting duct carcinoma of the kidney: a case report and review of the literature. *J Urol* 1992; 147: 1096–8.
96. Tokuda N, Naito S, Matsuzaki O. Collecting duct (Bellini duct) renal cell carcinoma: a nationwide survey in Japan. *J Urol* 2006; 176: 40–3.
97. Kobayashi N, Matsuzaki O, Shirai S. Collecting duct carcinoma of the kidney: an immunohistochemical evaluation of the use of antibodies for differential diagnosis. *Hum Pathol* 2008; 39: 1350–9.
98. Suzigan S, López-Beltrán A, Montironi R, Drut R, Romero A, Hayashi T, et al. Multilocular cystic renal cell carcinoma: a report of 45 cases of a kidney tumor of low malignant potential. *Am J Clin Pathol* 2006; 125(2): 217-22.
99. Truong LD, Shen SS. Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135(1): 92-109.
100. Cheville JC, Lohse CM, Zincke H. Sarcomatoid renal cell carcinoma: an examination of underlying histologic subtype and an analysis of associations with patient outcome. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(4): 435–41.
101. Zhou M. Pathology of renal cell carcinomas. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People’s Medical Publishing House; 2009; 1–14.
102. Zisman A, Chao DH, Pantuck AJ. Unclassified renal cell carcinoma: clinical features and prognostic impact of a new histological subtype. *J Urol* 2002a; 168: 950–5.
103. Palapattu GS, Kristo B, Rajfer J. Paraneoplastic syndromes in urologic malignancy: The many faces of renal cell carcinoma. *Rev Urol* 2002; 4(4): 163-70.
104. Schwarzberg AB, Michaelson MD. Supportive care in metastatic renal cell carcinoma. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People’s Medical Publishing House 2009; 273–9.
105. Moein MR, Dehghani VO. Hypertension: a rare presentation of renal cell carcinoma. *J Urol* 2000; 164: 2019.
106. Young AN, Master VA, Paner GP. Renal epithelial neoplasms: diagnostic applications of gene expression profiling. *Adv Anat Pathol* 2008; 15: 28–38.

107. Bach AM, Zhang J. Contemporary radiologic imaging of renal cortical tumors. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 593-604.
108. Leveridge MJ, Bostrom PJ, Koulouris G, Finelli A, Lawrentschuk N; Medscape. Imaging renal cell carcinoma with ultrasonography, CT and MRI. *Nat Rev Urol* 2010; 7: 311-25.
109. Bassignani MJ. Understanding and interpreting MRI of the genitourinary tract. *Urol Clin North Am* 2006; 33: 301–17.
110. Yazıcı S, Kızılöz H, Özen H. Böbrek kanserlerinde tanı yöntemleri, evrelendirme ve prognostik faktörler. *Türkiye Klinikleri J Urology-Special Topics* 2011; 4(1): 32-47.
111. Tuncali K, van Sonnenberg E, Shankar S, Morteale KJ, Cibas ES, Silverman SG. Evaluation of patients referred for percutaneous ablation of renal tumors: importance of a preprocedural diagnosis. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183(3): 575-82.
112. Choyke PL, Pavlovich CP, Daryanani KD. Intraoperative ultrasound during renal parenchymal sparing surgery for hereditary renal cancers: a 10 year experience. *J Urol* 2001; 165: 397–400.
113. Polcari AJ, Gorbonos A, Milner JE, Flanigan RC. The role of cytoreductive nephrectomy in the era of molecular targeted therapy. *Int J Urol* 2009; 16(3): 227-33.
114. Waalkes S, Becker F, Schrader AJ, Janssen M, Wegener G, Merseburger AS, et al. Is there a need to further subclassify pT2 renal cell cancers as implemented by the revised 7<sup>th</sup> TNM version? *Eur Urol* 2011; 59: 258-63.
115. Dilioğlugil Ö. Genitoüriner Kanserlerde Evrelendirme Prensipleri. 1.Baskı. İstanbul: Deonta Yayıncılık 2001; 5-12.
116. Devesa SS, Silverman DT, McLaughlin JK, Brown CC, Connelly RR, Fraumeni JF Jr. Comparison of the descriptive epidemiology of urinary tract cancers. *Cancer Causes Control* 1990; 1: 1133-41.
117. Isbarn H, Karakiewicz PI. Predicting cancer-control outcomes in patients with renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol* 2009; 19: 247–57.
118. Kanao K, Mizuno R, Kikuchi E. Preoperative prognostic nomogram (probability table) for renal cell carcinoma based on TNM classification. *J Urol* 2009; 181: 480–5.
119. Lane BR, Kattan MW. Prognostic models and algorithms in renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 613–25.

120. Bertini R, Roscigno M, Freschi M. Renal sinus fat invasion in pT3a clear cell renal cell carcinoma affects outcomes of patients without nodal involvement or distant metastases. *J Urol* 2009; 181: 2027–32.
121. Uzzo RG, Cherullo EE, Myles J. Renal cell carcinoma invading the urinary collecting system: implications for staging. *J Urol* 2002; 167: 2392–6.
122. Klatte T, Chung J, Leppert JT. Prognostic relevance of capsular involvement and collecting system invasion in stage I and II renal cell carcinoma. *BJU Int* 2007a; 99: 821–4.
123. Klatte T, Pantuck AJ, Riggs SB. Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension. *J Urol* 2007b; 178(4 Pt.1):1189– 95; discussion 1195.
124. Wotkowicz C, Wszolek MF, Libertino JA. Resection of renal tumors invading the vena cava. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 657–71; viii.
125. Zini L, Destrieux-Garnier L, Leroy X. Renal vein ostium wall invasion of renal cell carcinoma with an inferior vena cava tumor thrombus; prediction by renal and vena caval vein diameters and prognostic significance. *J Urol* 2008; 179: 450–4.
126. Thompson RH, Chevillie JC, Lohse CM. Reclassification of patients with pT3 and pT4 renal cell carcinoma improves prognostic accuracy. *Cancer* 2005a; 104: 53–60.
127. Rini BI, Campbell SC, Escudier B. Renal cell carcinoma. *Lancet* 2009; 373:1119–32.
128. Patard JJ, Dorey FJ, Cindolo L. Symptoms as well as tumor size provide prognostic information on patients with localized renal tumors. *J Urol* 2004a; 172: 2167–71.
129. Parker AS, Kosari F, Lohse CM. High expression levels of surviving protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2006; 107: 37–45.
130. Nguyen CT, Campbell SC, Novick AC. Choice of operation for clinically localized renal tumor. *Urol Clin North Am* 2008a; 35: 645–55.
131. Russo P, Huang W. The medical and oncological rationale for partial nephrectomy for the treatment of T1 renal cortical tumors. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 635–43.
132. O'Malley RL, Godoy G, Kanofsky JA. The necessity of adrenalectomy at the time of radical nephrectomy: a systematic review. *J Urol* 2009a; 181: 2009–17.

133. Siemer S, Lehmann J, Kamradt J. Adrenal metastases in 1635 patients with renal cell carcinoma: outcome and indication for adrenalectomy. *J Urol* 2004; 171: 2155–9.
134. Leibovich BC, Blute ML. Lymph node dissection in the management of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 673–8.
135. O'Malley RL, Godoy G, Taneja SS. Radical nephrectomy for localized renal cell carcinoma. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People's Medical Publishing House; 2009b; 115–29.
136. Theodorescu D, Rabbani F, Donat SM. Follow up of genitourinary malignancies for the office urologist: a practical approach: II. Kidney cancer and germ cell cancer of the testis. *Am Urol* 2004; 23: 310–5.
137. Levy DA, Slaton JW, Swanson DA, Dinney CPN. Stage specific guidelines for surveillance after radical nephrectomy for local renal cell carcinoma. *J Urol* 1998; 159: 1163–7.
138. Novick AC. Management of small renal masses: partial nephrectomy. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People's Medical Publishing House 2009; 95–101.
139. Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. *J Urol* 1999; 162: 1930.
140. Matin SF, Ahrar K. Management of small renal masses: energy-ablative therapy for small renal masses. In: Rini BI, Campbell SC, editors. *Renal cell carcinoma*. Shelton (CT): People's Medical Publishing House 2009; 81–94.
141. Blute ML, Leibovich BC, Lohse CM. The Mayo Clinic experience with surgical management complications and outcome for patients with renal cell carcinoma and venous tumour thrombus. *BJU Int* 2004b; 94: 33–41.
142. Wood C, Srivastava P, Bukowski R. An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSPPC-96; vitespen) versus observation alone for patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: a multicentre, open-label randomized phase III trial. *Lancet* 2008; 372: 145–54.
143. Murthy SC, Kim K, Rice TW. Can we predict long-term survival after pulmonary metastasectomy for renal cell carcinoma? *Ann Thorac Surg* 2005; 79: 996–1003.
144. Göksu SS, Özdoğan M. Metastatik böbrek kanserlerinde güncel yaklaşımlar ve hedefe yönelik tedaviler. *Türkiye Klinikleri J Urology-Special Topics* 2011; 4(1): 79-86.

145. Coppin C, Porzsolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 25(1): CD001425.
146. Rosenberg SA, Yang JC, White DE, Steinberg SM. Durability of complete responses in patients with metastatic cancer treated with high dose interleukin-2: identification of the antigens mediating response. *Ann Surg* 1998; 228: 307–19.
147. Srinivasan R, Linehan WM. Treatment of advanced renal cell carcinoma. In: Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, eds. *Campbell-Walsh Urology*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders 2012; 1475-91.
148. Furge KA, MacKeigan JP, Teh BT. Kinase targets in renal-cell carcinomas: reassessing the old and discovering the new. *Lancet Oncol* 2010; 11(6): 571-8.
149. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2): 115-24.
150. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Oudard S, et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(22): 3584-90.
151. Escudier B, Eisen T, Stadler WM. Sorafenib for treatment of renal cell carcinoma: final efficacy and safety results of the phase III treatment approaches in renal cancer global evaluation trial. *J Clin Oncol* 2009a; 27: 3312–8.
152. Thomas GV, Tran C, Mellinghoff IK. Hypoxia-inducible factor determines sensitivity to inhibitors of mTOR in kidney cancer. *Nat Med* 2006; 12: 122–7.
153. Rudin CM and Thompson CB. Apoptosis and disease: regulation and clinical relevance of programmed cell death. *Annu Rev Med* 1997; 48: 267-81.
154. Çelik O. Varikosel ile indüklenen testiküler hasarın patogeneğinde TNF related apoptosis inducing ligand (TRAIL) ve reseptörlerinin rolü. *Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Antalya* 2009.
155. Gren DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science*; 1998; 281: 1309-12.

156. Duiker EW, Mom CH, deJong S, Willems PHB, Gietema JA, van der Zee AGJ, de Vries EGF. The clinical trial of TRAIL. *European Journal of Cancer* 2006; 42: 2233-40.
157. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995; 6: 673-82.
158. Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem* 1996; 271: 12687-90.
159. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997; 276: 111-3.
160. Holoch PA, Griffith TS. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): A new path to anti-cancer therapies. *European Journal of Pharmacology* 2009; 625: 63-72.
161. MacFarlane M. TRAIL-induced signaling and apoptosis. *Toxicology Letters* 2003; 139: 89-97.
162. Pai SI, Wu GS, Ozören N, Wu L, Jen J, Sidransky D, El-Deiry WS. Rare loss of function mutation of a death receptor gene in head and neck cancer. *Cancer Res* 1998; 58(16): 3513-8.
163. Meng RD, McDonlad ER, Sheikh MS, Fornace AJ Jr, el-Deivery WS. The TRAIL decoy receptor TRUNDD (DcR2, TRAIL-R4) is induced by adenovirus-p53 overexpression and can delay TRAIL, p53 and KILLER/DR5-dependent colon cancer apoptosis. *Mol Ther* 2000; 1 (2): 130-44.
164. Hu WH, Johnson H, Shu HB. tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand receptors signal NF-kappaB and JNK activation and apoptosis through distinct pathways. *J Biol Chem* 1999; 274 (43): 30603-10.
165. Kimberley FC, Screaton GR. Following a TRAIL: update on a ligand and its five receptors. *Cell Res* 2004; 14(5): 359-72. Review.
166. Zhang XD, Franco AV, Nguyen T, Gray CP, Hersey P. Differential localization and regulation of death and decoy receptors for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in human melanoma cells. *J Immunol* 2000; 164(8): 3961-70.
167. Chaudhary PM, Eby M, Jasmin A, Bookwalter A, Murray J, Hood L. Death receptor 5, a new member of the TNFR family, and DR4 induce FADD-

- dependent apoptosis and activate the NF-kappaB pathway. *Immunity* 1997; 7(6): 821-30.
168. Danial NN, Korsmeyer SJ, Cell death: critical control points. *Cell* 2004; 116: 205–19.
169. Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 139–63.
170. Martinez-Lostao L, Marzo I, Anel A, Naval J. Targeting the Apo2L/TRAIL system for the therapy of autoimmune diseases and cancer. *Biochemical Pharmacology* 2012; 83: 1475-83.
171. Varfolomeev E, Maecker H, Sharp D, Lawrence D, Renz M, Vucic D, Ashkenazi A. Molecular determinants of kinase pathway activation by Apo2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, *J Biol Chem* 2005; 280: 40599–608.
172. Falschlehner C, Emmerich CH, Gerlach B, Walczak H. TRAIL signalling: decisions between life and death. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 1462–75.
173. Takeda K, Hayakawa Y, Smyth MJ. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nat Med* 2001; 7: 94-100.
174. Seki N, Hayakawa Y, Brooks AD. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis is an important endogenous mechanism for resistance to liver metastases in murine renal cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 207-13.
175. Smyth MJ, Cretney E, Takeda K. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon g-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *J Exp Med* 2001; 193: 661-70.
176. McCarthy MM, Sznol M, DiVito KA, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM. Evaluating the expression and prognostic value of TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5188-94.
177. Spierings DC, de Vries EG, Timens W, Groen HJ, Boezen HM, de Jong S. Expression of TRAIL and TRAIL death receptors in stage III non-small cell lung cancer tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3397-405.
178. van Geelen CM, Westra JL, deVries EG. Prognostic significance of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and its receptors in adjuvantly treated stage III colon cancer patients. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4998-5004.

179. Strater J, Hinz U, Walczak H. Expression of TRAIL and TRAIL receptors in colon carcinoma: TRAIL-R1 is an independent prognostic parameter. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3734-40.
180. Kuijlen JM, Mooij JJ, Platteel I. TRAIL-receptor expression is an independent prognostic factor for survival in patients with a primary glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2006; 78: 161-71.
181. Macher-Goeppinger S, Aulmann S, Tagscherer KE. Prognostic value of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and TRAIL receptors in renal cell cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 650-9.