

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RENAL PARANKİMAL TÜMÖRLERE GENOMİK YAKLAŞIMLAR

Dr. KUDRET ESEN GÜMÜŞLÜ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı İçin Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2013

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RENAL PARANKİMAL TÜMÖRLERE GENOMİK YAKLAŞIMLAR

Dr.ESEN GÜMÜŞLÜ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı İçin Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yard.Doç.Dr. Naci ÇİNE

Destekleyen Kurum: KOÜ Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi Proje No: 2012/48
100.000,00 TL

KOCAELİ
2013

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

- Tez adı: Renal Parankimal Tümörlere Genomik Yaklaşımlar
 - Tez yazarı: Kudret Esen GÜMÜŞLÜ
 - Tez savunma tarihi: 26 Nisan 2013
 - Tez Danışmanı: Yard.Doç.Dr. Naci ÇİNE
-
- İşbu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

• JÜRİ ÜYELERİ		• İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:	Doç. Dr. Hakan Savlı	
ÜYE (DANIŞMAN):	Yrd. Doç. Dr. Naci Çine	
ÜYE:	Prof.Dr.Kürşat Yıldız	
ÜYE:	Prof.Dr.Doğan Gülkaç	
ÜYE:	Doç.Dr.Burçak Vural	

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../2013

Prof.Dr. Tuncay ÇOLAK

Enstitü

Müdürü

ÖZET

RENAL PARANKİMAL TÜMÖRLERE GENOMİK YAKLAŞIMLAR

Böbrek kanserleri bütün kanserlerin %2'sini oluşturur ve bütün dünyada her yıl 250.000 den fazla yeni kanser vakaları bildirilmektedir. Görüntüleme yöntemlerinin yaygın kullanımıyla birlikte böbrek tümörlerinin görülme sıklığı artmaktadır. Böbrek tümörlerinin tek tip olmadığı gün geçtikçe daha iyi anlaşılakta, tümör sınıflandırmasında değişiklikler yaşanmaktadır. Farklı morfolojideki tümörlerin varlığı yanında, moleküler genetik incelemeler böbrek tümörlerinde histopatolojik sınıflandırmanın sürekli güncellenmesini gerektirmektedir. Son yıllarda erişkin böbrek tümörlerinin alt türleri üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. Bu tümörlerin morfolojik ve sitogenetik özelliklerinin saptanması, bu bilgilerin sınıflamada da kullanılmasını sağlamıştır. Halen geçerli olan 2004 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırmasında böbrek tümörlerinin histopatolojisine ilaveten moleküler yapısı da sınıflandırmada majör kriter olarak kabul edilmektedir. DSÖ histopatolojik tümör alt tiplerini klinik özellikleri ve genetik yapılarındaki değişikliklere göre sınıflandırmaktadır. DSÖ 2004 sınıflamasında böbrek hücreli kanserler, berrak hücreli (konvansiyonel), papiller, kromofob ve sınıflandırılmayan alt türleri ile toplayıcı kanal kanseri olarak sınıflandırılmıştır.

Erişkinlerde böbrek kanserlerinin çoğunluğu böbrek hücreli kanserler (BHK) dir. Böbrek hücreli kanserler (BHK) biyolojik yapıları ve klinik bulguları birbirinden farklı olan heterojen kanser grubudur. Böbrek tubulus epitelinden gelişirler. Böbrek tümörlerinin somatik mutasyonları iyi bir şekilde araştırılmıştır. Bu tümörlerin hepsindeki genetik değişiklikler türe özgü olup primer veya metastatik böbrek tümörlerinin ayırıcı tanısında kullanılabilirler. BHK'nin prognozunu belirlemek ve tedavi planını yapmak için histopatolojik sınıflandırma çok önemlidir. Bir prognostik belirleyici, ideal şartlarda özgün, duyarlı ve tekrarlanabilir olmalı, literatürle iyi desteklenmiş ve hasta takip ve tedavisinde kullanılabilir olmalıdır. Klinik anlam ifade etmeli ve bağımsız prognostik önemi olmalıdır. Bu nedenle, böbrek hücreli kanserlerde en önemli prognostik faktörler, patolojik evre, derece ve histopatolojik tür olarak görülmektedir. Bunların dışında, üzerinde çalışılmakta olan birçok anatomik, mikroskobik, sitogenetik ve moleküler belirleyiciler ileride kullanılabilir hale gelebilir. Ancak bunların yeterli klinik ve patolojik çalışma ile değerlerinin kanıtlanması gerekir.

Yeni tümör tiplerinin tarif edilmesi ve ufak hacimdeki biyopsilerin değerlendirilmesindeki ilerlemeler immünohistokimya yanında gen ekspresyon çalışmalarının da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gen ekspresyon profili çalışmaları ile bulunan yeni belirteçler ile kötü prognozlu hastaların tanımlanmasın yanı sıra hedefe yönelik tedavi temellerinin de saptanması sağlanmıştır. Bundan dolayı, gen ekspresyonuna dayanan sınıflamalar BHK'da tanı, prognoz tayini ve tedaviyi planlamada şart olmaya başlamıştır. DNA mikro-dizilim çalışmaları ile BHK da özgün gen ekspresyon profili olan alt grupların tanımlanması, tanı ve prognozda kullanılacak yeni biyo-belirteçlere gereksinim olduğunu göstermiştir. Mikro-dizilim çalışmaları, böbrek tümörlerinin patogenezi, prognozu ve tedavisi hakkındaki bilgilerimizi artırmıştır. Kalıtsal BHK hastalığı olan kişilerde renal veya renal olmayan primer tümör riski daha fazladır ve bu olgularda yapılan moleküler genetik testler, bir sonraki kuşakta ve yakınlarında tümör riskini doğru olarak tahmin etmemizi sağlayabilir .

Array CGH teknolojisi insanda genetik bozukluklara neden olan DNA kopya sayısı değişikliklerinin analizi için kullanılan bir yöntemdir. Yaptığımız çalışmada berrak hücreli BHK tanısı alan hastaları yeni bir teknoloji olan array CGH yöntemi ile değerlendirdik. Bu amaçla çalışmamızda berrak hücreli karsinom tanısı konan 33-76 yaş arası, cinsiyet farkı gözetilmeksizin, 31 hastadan alınan 31 adet formalin fikse - parafine gömülü bloklar ve Hematoksilen Eozin boyalı preparatlar kullanılmıştır. Toplam 31 adet berrak hücreli renal karsinomlu hastada array-CGH yöntemi kullanılarak genetik hasar saptama çalışması yapılmıştır. Renal tümörlerde genetik anomalilerin belirlenmesi daha doğru teşhis konulmasını sağlayacak ve bu verilerin klinik, anatomik, patolojik kriterler ve moleküler belirleyici bulgular ile birleştirilmesi, yakın gelecekte daha iyi bir prognostik bilgiye ulaşılmasını ve tümöre özgü tedavi uygulanmasını sağlayabilecektir. Böbrek tümörlerinde genetik ve moleküler çalışmalar patogenezin anlaşılmasına katkıda bulunurken tümör tipinin belirlenmesinde de kullanılabilir. Renal neoplazmalarda moleküler ve sitogenetik tekniklerin uygulanması, tümörün başlaması ve gelişmesinden sorumlu olan moleküler mekanizmaların anlaşılmasına olanak sağlayacak ve aynı zamanda bireye özgü ve hedefe yönelik tedaviye ışık tutacaktır.

Anahtar kelimeler: Berrak Hücreli Böbrek Hücreli Karsinom, Genetik, Array -CGH

ABSTRACT

GENOMIC APPROACH TO RENAL PARENCHYMAL TUMORS

Kidney cancer accounts for about 2% of all cancers and more than 250,000 new cases of kidney cancer are diagnosed worldwide each year. Renal tumour incidence has a positive correlation to widely use of radiological imaging methods. It is clearly understandable that renal tumours are a wide spectrum of tumors and not an unique entity day by day and histopathological classification is changing intime. Molecular and genetic studies, besides the realization of tumours with different morphology, leads to current classifications. Recently, there has been much interest in the morphologic subtypes of adult renal epithelial neoplasia. Knowledge of the specific morphologic and cytogenetic characteristics has led to the integration of this information into the classification systems. In the current 2004 World Health Organization (WHO) classification, the molecular background of a renal tumor has become, in addition to histopathology, a major criterion for tumor classification. WHO system defines histopathologic tumor subtypes with distinct clinical behavior and underlying genetic alterations. Renal cell carcinomas are classified as clear cell (conventional), papillary, chromophobe, and unclassified subtypes, and collecting duct carcinoma according to the recent 2004 WHO classification system.

Renal cell carcinoma (RCC) is the most common form of adult kidney cancer. RCCs comprise a heterogeneous group of epithelial neoplasms with diverse biologic potential and variable clinical outcomes. They arise from the epithelium of the renal tubules. The pattern of somatic mutations in kidney tumors has been extensively investigated. Genetic changes in the development of each of these histologic subtypes are generally unique to each tumor type, and may be useful for molecular diagnosis of renal primary or metastatic tumors. Histopathologic classification is critical for determining the prognosis and clinical management of RCC. A prognostic marker, ideally, should have high specificity, sensitivity, and reproducibility, well supported in the literature, and used regularly to manage patients. They should be clinically relevant and have an independent prognostic significance. In this regard, the pathologic prognostic markers in renal cell carcinomas are pathological stage, grade, and histopathologic type. Besides these parameters, a wide variety of anatomic, microscopic, cytogenetic, and molecular markers

have been evaluated and given promising information. But, these data must be fully proven and supported by clinicopathologic studies.

Besides immunohistochemistry, gene expression studies came to insight as a result of the recognition of novel tumor subtypes, and development of procedures yielding small diagnostic biopsies. Gene expression profile studies also provided new markers that identify patients with a poor prognosis as well as identifying potential therapeutic targets. Therefore, classification systems based on gene expression are likely to become essential for diagnosis, prognosis and treatment of renal carcinomas. DNA micro-array studies have shown that clinically relevant renal tumor subtypes are characterized by distinct gene expression profiles, which are useful for discovery of novel diagnostic and prognostic bio-markers. Micro-array studies have advanced our knowledge of renal tumor pathogenesis, prognosis and therapy. Individuals with inherited forms of RCC are generally at increased risk of further renal or non-renal primary tumours and in these cases molecular genetic testing could provide accurate estimates of tumour risks in the proband and their relatives.

Technology of array CGH is a method which analysis DNA copy number variations that cause genetic deformities in human. In our clinic we evaluate clear cell RCC patients by using array CGH. In this way, we aimed to scan these diseases by the most sensitive molecular cytogenetic approach. Thus, we used 31 formalin fixed-paraffine embaded and Hematoxylin Eosine died slides supplied from 31 male/female patient with clear cell RCC between 33-76 ages for CGH array in our study. Genetic deformities were detected by array-CGH method in 31 patient with clear cell RCC.

Identification of genetic anomalies may lead to more accurate diagnosis in renal tumors and corporation of these data with clinical, anatomic, pathologic criteria, and molecular marker expression may help to a better prognostic evaluation and to plan a tumor-specific therapy. Genetic and molecular methods are also used to classify tumors while giving clues for understanding the pathogenesis of renal tumours. The application of molecular and cytogenetic techniques to the study of renal neoplasms will improve our understanding of the molecular mechanisms responsible for tumor initiation and progression and also will highlight the available targeted therapies in near future.

Key words: Clear Cell Renal Cell Carcinoma, Genetics, CGH-array

TEŞEKKÜR

Akademik eğitimime başladığım ilk günden itibaren bilimsel bilgi birikimini ve deneyimlerini özenle paylaşan ve büyük desteklerini gördüğüm, bugünlere gelmemi sağlayan hocam **Doç. Dr.Hakan Savlı'ya,**

Kendisinden çok şey öğrendiğim, üzerimde büyük emekleri olan,Yüksek Lisans ve Doktora tez çalışmam sırasında gösterdiği özen, çaba, enerji ve desteği için danışman hocam **Yard.Doç.Dr.Naci Çine'ye ,**

Doktora çalışmamın her aşamasında bilimsel deneyimlerini ve patoloji bilgilerini benimle paylaşan, beni destekleyen hocam **Prof.Dr.Kürşat Yıldız'a** teşekkürlerimi sunuyorum.

Desteğini doğduğum günden beri hissettiğim ve onların kızı olmaktan gurur duyduğum annem **Prof. Dr. Güner ve babam Op.Dr. Mustafa Ulak'a,** her zaman yanımda olan eşim **Dr. Bora Gümüşlü'ye;**

Bilgi ve dostlukları ile bana her zaman destek veren bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Saygılarımla.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xivv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Böbrek Embriyolojisi	4
2.2. Böbrek Histolojisi	6
2.3. Böbrek Anatomisi	6
2.4. Böbrek Tümörlerinin Sınıflandırılması	7
2.5. Histopatolojik Sınıflandırmaya Göre Böbrek Karsinomlarında Sitogenetik Özellikler	16
2.5.1. Berrak Hücreli (Konvansiyonel) Böbrek Hücreli Karsinom	16
2.5.1.1. İnsidans ve Epidemiyoloji	17
2.5.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörler	17
2.5.1.3. Makroskopik Özellikler	19
2.5.1.4. Mikroskopik Özellikler	19
2.5.1.5. Klinik Etmenler	20
2.5.1.6. Ayırıcı Tanı	21
2.5.1.7. Moleküler ve Prognostik Faktörler	22
2.5.1.8. Tedavi	26
2.5.1.9. Anjiogenez	27
2.5.2. Papiller Böbrek Hücreli Karsinom	28
2.5.3. Kromofob Böbrek Hücreli Karsinom	29
2.5.4. Sarkomatoid Böbrek Hücreli Karsinom	29
2.5.5. Toplayıcı Kanal Karsinomu (Bellini Ductus Karsinomu)	29
2.5.6. Diğer Malign ve Benign Karsinomlar	30
2.5.6.1. Xp11.2 Translokasyonu İle İlgili Karsinom	30

2.5.7. Edinsel Kistik Hastalıkla İlişkili Böbrek Hücreli Karsinom.....	30
2.5.8. Müsinöz Tübüler ve İgşi Hücreli Karsinom.....	30
2.5.9. Kalıtsal Böbrek Hücreli Karsinom Sendromları.....	30
2.6. Germline varyantlar ve böbrek hücreli karinoma predispozisyon.....	32
2.7. Böbrek Hücreli Karsinomda Somatik, Genetik ve Epigenetik değişiklikler.....	32
2.7.1. Sitogenetik Anomaliler ve DNA kopya sayısındaki bozukluklar.....	32
2.8. Somatik Mutasyonlar.....	36
2.9. Böbrek Hücreli Karsinomun Epigenetiği.....	38
2.9.1. 3p TSGs Kromozomu.....	41
2.9.2. Kalıtsal olarak Geçen BHK Genlerinin Epigenetik Olarak Susturulması.....	41
2.10. Gen Ekpresyon Çalışmaları ve Emerging Belirleyiciler.....	41
2.10.1. Karbonik Anhidraz IX.....	43
2.10.2. VHL Proteinin böbrek kanserindeki Fonksiyonunun Anlaşılması.....	44
2.10.3. Onkogenler.....	45
2.11. BHK un Teşhis ve Tedavisinde Genetiğin Rolü.....	45
2.12. Klasik CGH (Comparative Genomic Hybridization) Tekniği.....	46
2.13. Array-CGH teknolojisi (Array Comparative Genomic Hybridization).....	51
2.13.1. DNA nın işaretlenmesi.....	56
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	62
3.1. Yöntem.....	62
3.2. DNA İzolasyonu.....	62
3.3. DNA Lekeleme.....	64
3.4. Pürifikasyon.....	64
3.5. Hibridizasyon.....	65
3.6. Yıkama.....	65
3.7. Alet ve Cihazlar.....	66
3.8. Sarf Malzemeler.....	66
3.9. Array-CGH Hibridizasyonu.....	67
3.10. Veri Analizi.....	70
3.11. Sonuçların Konfirmasyonu.....	70
4. BULGULAR.....	71
4.1. Hastaların Dağılımı.....	71
4.2. Aberasyon Bölgeleri.....	71
4.3. CGH Array Analiz Sonuçları.....	78

5. TARTIŞMA.....	82
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	89
ÖZGEÇMİŞ.	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

WHO-DSÖ	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
CGH	Comparative Genomic Hybridization (Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon)
aCGH	Array Comparative Genomic Hybridization
BHK	Böbrek Hücreli Karsinom
TSG	Tümör Supressör Genleri
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
VHL	Von Hippel Lindau

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Böbreğin anatomik yapısı.....	7
Şekil 2.2. Böbrek hücreli karsinomda hücre kökeni,tümör alt tipi ve genetik değişiklikler ilişkisi.....	36
Şekil 2.3. CGH mikroarray.....	47
Şekil 2.4. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH).....	49
Şekil 2.5. CGH Metafaz Plağı.....	50
Şekil 2.6. CGH Karyotip.....	50
Şekil 2.7. CGH ile belirlenebilen kromozom anomalileri.....	51
Şekil 2.8. 2010 da güncel bilimde kullanımda olan Array Slide Formatları.....	52
Şekil 2.9. Array Slide Formatları.....	53
Şekil 2.10. Probların Genel Görünümü.....	53
Şekil 2.11. CGH Analiz Programı Görünümü.....	54
Şekil 2.12. CGH ve A-CGH tekniklerinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi.....	55
Şekil 2.13. Array CGH Şematik Gösterimi.....	56
Şekil 2.14. Nick translasyon yöntemi ile DNA'nın işaretlenmesi.....	57
Şekil 2.15. Rastgele primerler kullanarak DNA'nın işaretlenmesi.....	58
Şekil 3.1. DNA ölçümünde kullanılan spektrofotometre.....	64
Şekil 3.2. DNA hibridizasyon fırını.....	68
Şekil 3.3. Slide yıkama küveti.....	68
Şekil 3.4. Agilent Scanner.....	69
Şekil 3.5. Slide yüklenmesi.....	69
Şekil 3.6. Veri Analizi Görünümü.....	70
Şekil 4.1. 18q2.3 Delesyon Bölgesi.....	78
Şekil 4.2. 3p26.3 Delesyon Bölgesi.....	79
Şekil 4.3. 3p13.13 Delesyon Bölgesi.....	80
Şekil 4.4. 5q13.2 Duplikasyon Bölgesi.....	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Böbreğin Epitelyel Tümörlerinin Sınıflandırılması.....	9
Çizelge 2.2. 2004 DSÖ Böbrek Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması.....	10
Çizelge 2.3. Dünya Sağlık Örgütü Klasifikasyonunda Yer Alan Renal Hücreli Tümörler.....	13
Çizelge 2.4. Histopatolojik Sınıflandırmaya Eklenmesi Önerilen Böbrek Tümör Tipleri.....	14
Çizelge 2.5. Böbrek Tümörlerinde Prognozu etkileyen Faktörler.....	26
Çizelge 2.6. Böbrek epitelyal tümörlerinde genetik değişiklikler.....	35
Çizelge 2.7. Böbrek Hücreli karsinomda (en azından 30 tümörde) Metilasyona Uğrayan Aday Supresör Gen örnekleri.....	39
Çizelge 2.8. Böbrek Tümörlerinde sık görülen genetik bulgular.....	42
Çizelge 2.9. BAC Array-Oligo Array Karşılaştırılması.....	60
Çizelge 2.9. BAC Array-Oligo Array Limitasyonları.....	61
Çizelge 4.1. Berrak Hücreli Renal Karsinomlu Hastalarda Aberasyon Bölgeleleri.....	72
Çizelge 4.2 Berrak Hücreli Renal Karsinomlu Hastalarda Aberasyonların Görülme Sıklığı.....	77

1. GİRİŞ

Böbrek kanserleri, histolojisi, klinik seyri ve yapılan tedaviye verdiği yanıt bakımından hastalar arasında farklılık gösteren karmaşık bir hastalıktır. Böbrek kanserleri, görülme sıklığı bakımından tüm dünyada 1. Avrupa'da ise 10. sırada gelmektedir (Ljungberg et al. 2011). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2008'de tüm dünyada 271.000 yeni olgu saptanmıştır. Kuzey Amerika ve Avrupa'da daha sık görülmektedir. Avrupa Birliği ülkelerinde görülme sıklığı erkeklerde 100.000'de 15,8, kadınlarda 7,1 olarak bulunmuştur. Aynı verilere göre mortalite oranı erkeklerde 100.000'de 6,5, kadınlarda 2,7'dir (Ferlay et al. 2008). Amerikan verilerine göre 2011 yılı için bildirilen rakamlar, 60920 yeni olgu ve 13120 adet hastalığa bağlı ölümdür (Segel et al. 2011). Böbrek tümörlerinin %90'nı renal parankimden kaynaklanan böbrek hücreli karsinom (BHK) oluşturur (Chow et al. 2010). BHK, tüm ürolojik tümörlerin %3'ünü oluşturmaktadır (Jemal et al. 2010). Eldeki verilerin büyük bölümü BHK ile ilgilidir. Üriner sistem kaynaklı tümörlere bağlı ölümlerde BHK, %40'ın üzerinde ölüm oranı ile ölümcül mortalitesi en yüksek ürolojik kanserdir. Prostat ve mesane kanserinden sonra görülme sıklığı en fazla olan genitoüriner kanserdir. Böbreğin kompensatuvar mekanizması nedeni ile böbrek kanserinin erken fazında hastalar genellikle semptom vermezler ve olguların büyük bir kısmında BHK teşhisi başka bir amaçla yapılan radyolojik tetkikte tesadüfen konur (Amato 2000; Amato 2005; Curti 2004). BHK olgularının %25'de uzak mesafede metastaz vardır. Olguların %50'sinde de hastayı izlem süresince, primer tümörün tedavisine rağmen metastaz gelişir veya lokal olarak tümör tekrarlar (Thyavihalley et al. 2005). Metastaz yapmış BHK'da ortalama yaşam süresi yaklaşık 4 aydır ve hastaların sadece %10'u 1 yıl yaşarlar. Son zamanlarda moleküler mekanizmasının anlaşılması ile ilgili hızlı gelişme ve buna bağlı olarak çok etkili kemoterapötik ajanların bulunmasına rağmen, metastaz yapmış BHK'un tedavisi halen yoktur ve ölümcül bir hastalıktır (Bullock et al. 2010). Bu nedenle metastaz yapmış BHK'un kontrol altına alınmasında daha etkili terapötik ajanlar gereklidir. Dolayısıyla BHK'un gelişmesinde ve ilerlemesinde rol oynayan önemli moleküllerin hedef alınması önemlidir. Bu konuda ümit verici bir molekül transkripsiyon faktörü, nükleer faktör kapp B (NF- κ B)'dir. NF- κ B'nin bütün kanser türlerindeki onkojenik rolü çok iyi bilinmesine rağmen, BHK daki rolü ile ilgili yeterli bilgi yoktur. Son zamanlarda incelenen olgulara göre NF-

κB, BHK da da anahtar rolü oynamaktadır ve bu hastalığın tedavisi amacıyla geliştirilecek olan ilaçlar için hedef moleküldür (Morais et al. 2011).

Gectiğimiz yirmi yıl içinde böbrek kanseri insidansında görülen artış, son yıllarda duraklamış, hatta bazı Avrupa ülkelerinde inişe geçmiştir (Ljungberg et al. 2011). Bununla birlikte saptanan böbrek kanseri olgularının %20-30'unun metastaz yapmış olması, ve tanı konulup nefrektomi yapılan olguların yaklaşık %20'sinin daha sonra nüks ve metastazla tekrar ortaya çıkması böbrek kanserlerinin yaşamı tehdit eden ciddi bir sorun olmaya devam ettiğini göstermektedir.

BHK tek bir kanser olmayıp, histolojik olarak farklı alt grupları olan heterojenik bir kanser grubudur. BHK'da histolojik alt grupları ortak karakter göstermekle birlikte, biyolojik yapıları ve tedaviye verdikleri yanıt birbirinden oldukça farklıdır. Bunun nedeni, ortaya çıkmalarına neden olan karsinogenik yolların farklı olmasıdır. Eskiden hastalığın klinik olarak kontrol altına alınmasında doğru histopatolojik sınıflandırma oldukça önemli olduğu halde, günümüzde yeni moleküler ve sitogenetik belirleyicilerin bulunması nedeniyle BHK'lar birçok alt gruba ayrılmıştır (Eble et al. 2004). Herhangi bir böbrek karsinomunun sitogenetik ve moleküler özellikleri; karsinogenetik yolağı, hücresel orijini ve kalıtsal biyolojik özelliklerine bağlıdır. BHK sporadik olarak (kalıtsal olmayan) veya ailesel olarak (kalıtsal olan) ortaya çıkar ve her ikisinde de farklı gen mutasyonları rol oynayabilir. BHK'un en az 16 farklı alt grubu bildirilmiştir (Eble et al. 2004; Lopez-Beltran et al. 2006). Bunların 10 tanesi sporadik olarak, 6 tanesi ailesel sendrom olarak sınıflandırılmıştır. Sporadik BHK, hücrenin orijini (kaynağı) esas alınarak sınıflara ayrılmıştır. Berrak hücreli karsinom en sık görülen sporadik alt grup olup BHK'lerin %70-80 nini oluşturur (Curti 2004).

İlerlemiş olan BHK'un tedavisi zordur. Metastaz yapmamış lokalize BHK'da, diğer böbreğin sağlam olması koşulu ile, radikal nefrektomi bir tedavi seçeneği olabilir. Aksi takdirde, mümkün olduğu sürece parsiyel nefrektomi yapılabilir. BHK, diğer tümörler ile karşılaştırıldığında radyoterapiye kısmen dirençlidir ve tedaviye bağlı olarak birçok yan etki görülür (DiBiase et al. 1997; Onufrey and Mohiuddin 1985).

Böbrek tümörlerinde sitogenetik yapı ve histopatolojik özellik arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Modern karsinogenez teorisine göre tümörler, kök hücrelerde genetik değişikliklerin birikmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Gen mutasyonları, kromozom delesyonları, instabilite, sayısal veya yapısal değişiklikler, anormal DNA metilasyonları, ve gen kodlamadaki anomaliler, tümör genetiğinde şekil değiştirebilen olaylardır (Cheng et al.2008). Moleküler belirleyiciler, belirli bir böbrek tümörünün biyolojik özelliklerini

gösterirler ve hastanın tedaviye vereceği yanıtı ve hastalığın prognozunu tahmin etmede etkilidirler; hatta terapötik ajan olarak da kullanılabilirler (Cohen 2005; Jones et al.2005; Iliopoulos 2006; Brugarolas et al.2007; Cheng et al.2008).

Son yıllarda sitogenetik ve moleküler genetik alanında yapılan çalışmalar BHK de fenotip ve genotipler üzerine dikkati çekmiştir. Bu iki farklı sitogenetik yolak esas alınarak yapılan araştırmalar, bu kromozomal anomalilere bağlı moleküler değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Bunların sonucunda, berrak hücreli BHK da von Hippel-Lindau geni (VHL) gibi önemli supresör genler ve hücre siklusunun düzenlenmesinde ve farklılaşmasında rol oynayan onkogenler belirlenmiştir. Renal karsinogenizde rol oynayan sitogenetik özelliklerin moleküler yolakların anlaşılması, spesifik olarak anormal şekilde aktive olan yolak molekülünü hedefleyen rasyonel bir tedavinin yapılmasına olanak sağlayacaktır.

Denelerimizde kullanılan 'array CGH' yöntemi, mikrodizilim slaytları kullanılarak, kromozomal DNA'da meydana gelen değişikliklerin saptanması esasına dayanır. Bu yöntem; tüm kromozomdan, tek bir bantın ince bir parçasındaki artıştan veya azalmadan kaynaklanan genetik dengesizliği, aynı anda birçok lokusu inceleyerek belirleyen bir yöntemdir. Array CGH yöntemi, klasik karşılaştırmalı genomik melezleştirme yönteminin (CGH) avantajları ile, ileri bir teknoloji olan mikroarray'in birleştirilmesi ile ortaya çıkmış bir yöntemdir. Array CGH tüm genom boyunca DNA dizisindeki kopya sayısı değişimleri incelenir. Bu teknik, kazanım (duplikasyon, insersiyon veya amplifikasyon) veya net kayıp (materyalde delesyon) gibi kromozom anomalilerinin sınıflandırılmasına olanak sağlar. Birden fazla genomun birbirleri ile karşılaştırılabilmesine olanak sağlaması, az miktarlarda DNA örneğinin yeterli olması, metafaz plağı gerekli olmaması, yüksek kararlılık ve verim sağlaması, DNA üzerindeki tek baz değişikliklerinin bile saptanabilmesi bu yöntemin sağladığı avantajları arasındadır (Bruder et al. 2004; Vissers et al. 2003; Oostlander et al. 2004).

Söz konusu çalışmamız, bir insan tüm genom tarama çalışmasıdır. Grupta berrak hücreli karsinom tanısı konan 33-76 yaş arası, cinsiyet farkı gözetilmeksizin, 31 hastadan alınan 31 adet formalin fikse - parafine gömülü Hematoksilen ve Eozin boyalı preparatlarda array-CGH yöntemi kullanılarak genetik hasar saptama çalışması yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı berrak hücreli böbrek hücreli kanserlerin ayırıcı tanısında array-CGH teknolojisinin geçerliliğini değerlendirmektir. Bu ve benzeri çalışmalar sonucunda yeni tanı ve tedavi belirleyicileri tanımlanabilir. Bu olasılık nedeniyle tam genom analizlerinin güncel bilim açısından eşsiz bir önemi bulunmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Böbrek hücreli kanser (BHK) renal tübüler hücrelerden kaynaklanan, genetik ve histopatolojik olarak heterojen bir kanser grubunu ifade eder. Dünya Sağlık Örgütü 2004 sınıflamasında böbrek hücreli kanserler, berrak hücreli (konvansiyonel), papiller, kromofob ve sınıflandırılmayan alt gruplar ile toplayıcı duktus kanseri olarak sınıflandırılmıştır. Bu tümörlerin hepsindeki genetik değişiklikler türe özgüdür ve primer veya metastatik böbrek tümörlerinin ayırıcı tanısında kullanılabilirler. BHK'un en sık görüleni berrak hücreli/konvansiyonel BHK (olguların yaklaşık %75 i) ve bunu takiben papiller BHK (~%15) dir (Mancin et al. 2008). Böbrek kanseri biyolojisinde histopatolojik alt grupların belirlenmesi oldukça önemlidir; örneğin von Hippel-Lindau (VHL) tümörü supresör gen (TSG) mutasyonu sporadik berrak hücreli BHK'un ortaya çıkmasında en yaygın genetik olgu olduğu halde, berrak hücreli olmayan BHK alt gruplarında her zaman görülmez (Foster et al. 1994; Gnarra et al. 1994; Banks et al. 2006).

BHK'un erken teşhis edilmesi zordur. Böbrek kanserlerinin klinik belirti ve semptomları genellikle prognozun kötü olduğu hastalığın geç döneminde ortaya çıkar. Kalıtsal BHK hastalığı olan kişilerde renal veya renal olmayan primer tümör riski (spesifik hastalığa bağlı olarak) daha fazladır ve bu olgularda yapılan moleküler genetik testler, bir sonraki kuşakta ve yakınlarında tümör riskini doğru olarak tahmin etmemizi sağlayabilir (Maher et al. 2011). BHK'un moleküler yapısı ile kliniği arasındaki ilişkinin ortaya konması, bu hastalıkta kişiye özgü tedavinin yapılabilmesine olanak sağlayacaktır.

2.1. Böbrek Emriyolojisi

İntrauterin yaşam boyunca birbirinden farklı üç böbrek sistemi peşpeşe oluşur: Pronefroz, mezonefroz ve metanefroz (Sadler 1990).

Pronefroz : İnsan embriyosunda pronefroz servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre topluluğu tarafından temsil edilir (Sadler 1990).

Mezonefroz : Pronefrik sistem gerilerken, mezonefroza ait ilk boşaltım tübülleri belirmeye başlar. Bu tübüllerin boyu hızla uzar, S şeklini alır ve medial uzantılarının ucunda bir uç belirir. Tübülün bu ucundan Bowman kapsülü de gelişir. Kapsül ve birlikte renal korpuskülü meydana getirir. Tübülüs diğer uca, mezonefrik veya Wolffian kanalı olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanalla birleşir. İkinci ayın ortasında mezonefroz orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ haline gelir. Bu sırada gelişmekte olan gonad da mezonefrozun medialinde yer aldığından bu iki organ tarafından oluşturulan

doku kabarıklığına ürogenital şişkinlik adı verilir. Kaudaldeki tübüller farklanmaya devam ettiğinden kranial tübüller ve glomerüller dejeneratif değişiklikler gösterir ve 2. ayın sonunda tümüyle yokolur. Kaudal tübüllerin bir kısmı vemezonefrik kanal erkeklerde kalabilirse de kızlarda tümüyle kaybolur (Sadler 1990).

Metanefroz veya kalıcı böbrek: 5. haftada belirir. Metanefrik mezodermden gelişir (Sadler 1990).

Toplayıcı sistem : Kalıcı böbreğin toplayıcı sistemi mezonefrik kanalın kloakaya giriş yerinde bir çıkıntı halinde bulunan üreter tomurcuğundan gelişir. Üreter tomurcuğu metanefrik doku içine penetre olur. Penetrasyon sonrasında genişleyen üreter tomurcuğu primitif renal pelvisi oluşturur. Daha sonra da kranial ve kaudal parçalara ayrılarak gelecekteki major kaliksleri meydana getirir. Metanefrik dokuya penetre olan her kaliksten iki yeni tomurcuk gelişir. Bu tomurcuklar 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmeye devam ederler. Bu tübüllerin distalinden de 5. ayın sonuna kadar yeni jenerasyon tübüller oluşmaya devam eder. İkinci jenerasyondaki tübüller genişleyerek 3 ve 4. jenerasyon tübülleri absorbe eder ve renal pelvisin minör kalikslerini oluşturur. Gelişimin daha sonraki evrelerinde 5 ve daha sonraki jenerasyon toplayıcı tübüller boyca uzar ve minör kaliksler içine doğru toplanarak renal piramitleri meydana getirir. Özet olarak üreter tomurcuğundan, renal pelvis, majör ve minör kaliksler ve yaklaşık 1-3 milyon arasında toplayıcı tübül gelişir (Sadler 1990).

Boşaltım Sistemi : Yeni oluşan her kollektör tübülün distal ucu metanefrik bir doku ile örtülüdür. Bu metanefrik doku içindeki hücrelerden daha sonra küçük tübüller ve renal vezikül olarak bilinen küçük kesecikler meydana gelir. Bu tübüller glomerüllerle birlikte nefronu veya boşaltım birimini oluşturur. Nefronun proksimal ucunda glomerül tarafından yaylandırılmış Bowman kapsülü yer alır. Tübülün distal ucu ise, toplayıcı kanalla ilişkide olacak şekilde açıktır. Glomerülden toplayıcı kanallara bu açıklık yoluyla geçiş vardır. Boşaltıcı tübüllerin uzamaya devam etmesi sonucu proksimal tübüller, Henle halkası ve distal tübüller meydana gelir.

Özet olarak böbrek iki farklı kaynaktan (a) boşaltım birimlerinin oluştuğu metanefrik mezoderm ve (b) toplayıcı sistemin kaynaklandığı üreter tomurcuğundan oluşur. Doğumda böbrekler lobule görünümündedirler. Sayıca artmasalar da nefronların büyümeye devam etmesi ile bebeklik döneminde bu lobüle görünüm kaybolur (Güçer 2006).

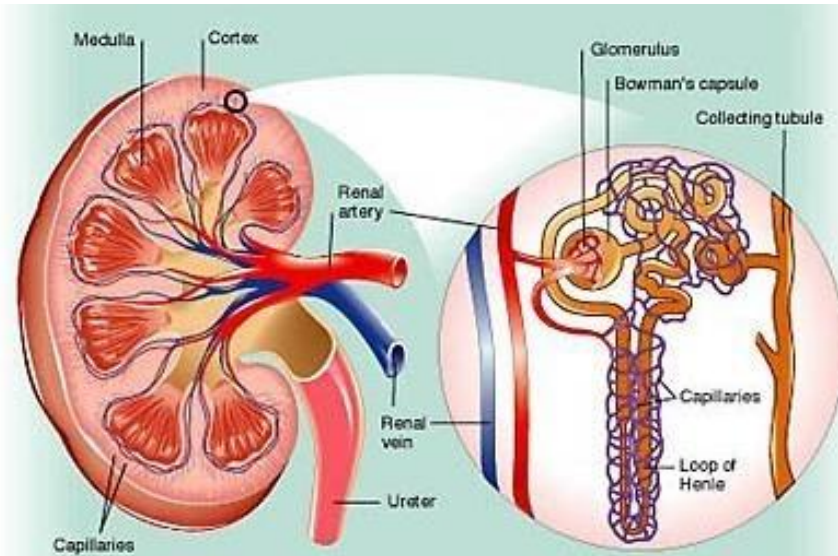
2.2. Böbrek Histolojisi

Normal böbrek parankimi kan damarları, glomerüller, tübüller ve interstisyum olmak üzere dört kısımdan oluşur. Renal kan damarları yapısal olarak vücudun diğer bölgelerinde görülenlere benzer. Glomerüller kalın bir bazal membran etrafında dizilen özelleşmiş endotelyal, epitelyal ve mezangial hücrelerin meydana getirdiği kompleks yapılardır. Jukstaglomerüler apparatus vasküler düz kaslar, ekstaglomerüler mezangiumun granüler ve agranüler hücreleri ve distal tübülün makula densasından oluşan, glomerülün vasküler kutbunun bir parçasıdır. Kompleks tübüler sistem üriner kutuptan başlar ve renal papillaya uzanır. Bu sistem proksimal tübül, Henle ansı, distal tübül ve toplayıcı tübüllerden oluşur. Proksimal tübül asidofilik sitoplazmalı uzun kolumnar hücrelerle döşelidir. Sitoplazması, aktif sıvı transportu için gerekli bazal kıvrımlanmalar, yoğun mikrovilluslar, endositik vakuoller ve mitokondrilerden zengindir. Henle kulpu, ince inen ve kalın çıkan kısımlardan oluşur. Değişken miktarlarda mikrovillus ve sitoplazmik organel içeren küboidal ve kolumnar hücrelerle döşelidir. Distal tübül proksimal tübülden daha dar ve kısadır. Mikrovillus ve organel sayısı daha azdır. Özelleşmiş hücelere ve jukstaglomerüler apareyin makula densasına sahiptir. Toplayıcı tübüller, santral yerleşimli nükleus ve soluk asidofilik sitoplazmaya sahip küboidal hücrelerle döşelidir. Sitoplazmik lipofuskin granülleri belirgin olabilir. Toplayıcı tübüller Bellini terminal duktuslarıyla birleşirler. 10-25 adet terminal duktus meduller papillanın area kribrozasına açılırlar. İnterstisyum ise özelleşmiş interstisyel hücreler ve bağ dokusu elemanlarından oluşur (Murphy et al.1994; Güçler 2006).

2.3. Böbrek Anatomisi

Fasulye şeklinde, retroperitoneal yerleşimli bir organ olan böbrek T12 – L3 vertebraları boyunca sağlı sollu yer alırlar. Her bir böbrek ortalama 12x6x2.5 cm.dir. Ağırlığı erkeklerde 125-170 g, kadınlarda 115-155 g dır. Her biri meduller piramidin oluşturduğu 8-18 adet lob ve komşuluğundaki korteks tabakasından meydana gelir. Bu lobar yapı yenidoğanlarda genellikle belirgindir. Yetişkin böbreğinde lobasyon kaybolur ve dış yüzey düzgün bir görünüm kazanır. Böbreğin dış yüzeyi nefronlardan zorlukla ayrılan ince fibroblastik tabaka ve onun da dışında künt diseksiyonla kolayca ayrılan daha kalın tabakadan oluşan kapsülle örtülüdür. Böbrek kapsülü Gerota fasya ile çevrilidir (Murphy et al.1994). Böbreğin medial yüzünde konkav yapıdaki hilus bulunur. Tümör yayılımının ana yolu ve değerlendirmesinde sınır taşıdır. Hilus, renal kaliksler, pelvis, böbreği besleyen ana vasküler oluşumlar ve nöral yapıları içerir. Tüm bu yapılar yoğun vaskülarizasyona

sahip konnektif doku ile çevrilidir (Murphy et al.1994). Normal böbreğin vaskülarizasyonu değişkendir. Pek çok böbrek tek bir renal arter ve venle kanlanır. Lenfatikler renal kortekste çok sayıda olup medullada yer almazlar. Renal sinüs yoluyla hiler ya da aorta ve vena kava komşuluğundaki rejyonel lenf nodlarına direne olurlar. Böbrekler çölyak pleksustan gelen adrenerjik sinir lifleriyle innerve olurlar. Sinirler vasküler yapıları takip eder ve renal parankim içerisine dağılır (Murphy et al. 1994). Korteks kalınlığı 0.7-1 cm. arasında değişir. Medulladan konfigürasyonu, pozisyonu ve rengiyle kolayca ayrılır. Kortikal doku meduller piramidler arasına değişken şekillerde uzanır ve genellikle Bertini kolonları olarak adlandırılır. Açık inspeksiyonla korteksten medulla içerisine radial uzanan meduller yollar gösterilir. Bu yollar toplayıcı tübüller, proksimal ve distal tübüller ve kan damarlarını içerir. Her bir böbrek 1-2 milyon nefron içerir (Murphy et al. 1994).



Şekil 2.1. Böbreğin anatomik yapısı

2.4. Böbrek Tümörlerinin Sınıflandırılması

Böbrek tümörleri istatistiklerde tek bir kanser başlığı olarak yer almakla birlikte tek tip olmadığı gün geçtikçe daha iyi anlaşılmaktadır. Hem lokalize hem de ileri evre tümörlerde farklı histopatolojik türlere klinik yaklaşım ve uygulanacak tedavi farklı olabileceğinden sınıflandırma çabaları önem kazanmaktadır (Leibovich et al. 2010; Sun et al. 2010; Flanigan et al. 2011). Benign ve malign tümörlerin ayırd edilmesi, farklı prognozlara sahip alt tiplerin belirlenmesi bakımından böbrek tümör dokusunun histopatolojik incelemesi önemlidir. Son yıllarda patolojik ve ana kanser araştırmalarına göre değişik renal tümörler belirlenmiştir (Kovasc et al. 1997; Algaba et al. 2010).

Tümörün yerleşim yeri, kapsül varlığı, çevre böbrek dokusu ilişkisi, bazı durumlarda tipinin belirlenmesinde önemli ipuçları verebilir. Metastatik böbrek tümörleri veya küçük böbrek kitleleri olan hastalarda uygulanan iğne biyopsileri değerlendirilirken böbrek tümörlerindeki çeşitlilik göz önüne alınmalıdır (Yıldız 2011).

Alışılmamış morfolojideki tümörlerin immunohistokimyasal incelemesi histopatolojik sınıflandırmaya yardımcı olmaktadır. Genetik ve moleküler çalışmalar patogenezin anlaşılmasına katkıda bulunurken tümör tipinin belirlenmesinde de kullanılabilir. Bunun yanı sıra genetik ve moleküler çalışmalar bireye özgü ve hedefe yönelik tedaviye de ışık tutacaktır (Volpe et al. 2010; Sun et al. 2011).

Erişkin böbrek kitlelerinin büyük çoğunluğunu epitelyal tümörler oluşturur. Herhangi bir organ veya sisteme ait tümör sınıflandırması yapılırken klinik davranışları, morfolojileri, moleküler ve genetik yapıları dikkate alınmalı ve tümörlerin ayırt edici özellikleri iyi tanımlanmalıdır. Dolayısı ile histopatolojik sınıflandırmanın klinik seyirle bağlantısı ile farklı tümör türlerinin moleküler ve genetik yapılarının farklı olduğunun gösterilmesi önemlidir. Bazı çalışmalarda böbrek tümörlerinin histopatolojik tipinin böbrek hücreli karsinomun klinik seyrini öngörmeye bağımsız değişken olduğu gösterilmiştir (Leibovich et al. 2010). Ancak bir başka çalışmada da histolojik tipin evrelendirmede anlam taşıdığı vurgulanmaktadır (Sun et al. 2011). Uluslararası kılavuzlar, BHK alt tipi ile tümörün sarkomatoid özellikler içerip içermediğinin belirtilmesini önermektedir.

Renal neoplazilerin çoğu epitelyal kökenli ve malign karakterlidir. Böbrek içerisindeki adrenal kalıntılardan geliştiği düşünülürse de, ultrastrüktürel özelliklerinden dolayı bu tümörlerin adrenal kalıntılardan çok renal hücrelerden geliştiğini bildirilmiştir. Yakın bir zamana kadar BHK'ların tek bir hastalık olduğu düşünülmüşse de histolojik, sitogenetik ve moleküler çalışmalar BHK'ların tek bir tümör grubu olmadığını göstermiştir (Reuter et al. 2004).

Sınıflama çalışmaları, 1981 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) böbreğin epitelyal neoplazilerini hücre tipi özellikleri, yapısal özellikler ve orjinlerine göre gruplandırmasıyla başlar. 1985 yılında Thoenes ve ark. BHK'un kromofob tipini tanımladıktan sonra 1986 yılında aynı çalışma grubu tümör hücre sitoplazmasında izlenen morfolojik, histokimyasal ve elektron mikroskopik özelliklere göre Mainz sınıflamasını yapmışlardır. 1993 yılında sitogenetiği temel alan, 1997 yılında moleküler genetiği temel alan Heidelberg-Rochester sınıflaması kabul edilmiştir. Heidelberg-Rochester sınıflaması yeniden gözden geçirilerek DSÖ 1998 sınıflaması, Kovacs ile başlayan moleküler araştırma sonuçlarının yeniden incelenmesiyle de DSÖ 2004 sınıflaması yapılmıştır.

Sınıflandırmaların kronolojik sırası Çizelge 2.1’de gösterilmiştir. Güncel olan 2004 DSÖ renal kanser sınıflandırmasına göre morfolojik ve genetik özellikler birleştirilmiş ve değişik immünofenotipi olan renal kanserler veya klinik uygulamaya bağlı moleküler değişiklikler tanımlanmıştır (Eble et al. 2004). Bu alt grup tümörlerin prognozları farklıdır (Cheville et al. 2003; Moch et al. 2000) ve tedaviye verdikleri yanıt da farklı olabilir (Motzer et al.2006).

Çizelge 2.1. Böbreğin epitelyal tümörlerinin sınıflandırılması (Güçer 2006)

DSÖ 1981	MAİNZ 1986	SİTOGENETİK 1993
1. Adenom 2. Renal hücreli karsinom a-Berrak hücreli tip b-Granüler hücreli tip c-İğsi hücreli tip 3. Diğer Bellini’nin duktal karsinomu	1. Adenom 2. Renal hücreli karsinom a-Berrak hücreli tip b-Kromofilik tip Bazofilik Eozinofilik Duofilik c-Kromofob hücreli tip Tipik Eozinofilik d-Toplayıcı kanal tipi 3. Onkositom	1. Papiller tümörler a-Adenom b-Karsinom 2. Berrak hücreli tümörler 3. Kromofob tümörler 4. Onkositom 5. Tanımlanmamış tümör grupları
HEİDELBERG- ROCHESTER 1997	DSÖ 1998	DSÖ 2004
1. Benign a-Papiller adenom b-Onkositom c-Metanefrik adenom- adenofibrom 2. Malign (BHK) a-Berrak hücreli karsinom b-Papiller karsinom c-Kromofob karsinom d-Toplayıcı kanal karsinomu e-Sınıflandırlamayan	1. Renal hücreli adenom a-Metanefrik tip b-Papiller tip c-Onkositik tip 2. Renal hücreli karsinom a-Berrak hücreli tip b-Papiller tip c-Kromofob tip d-Nöroendokrin tip e-Sınıflandırlamayan	A-Benign 1-Papiller adenom 2-Onkositom B-Malign 1.Berrak hücreli BHK 2.Multiloküler berrak hücreli BHK 3. Papiller BHK 4.Kromofob BHK 5.Bellini’nin toplayıcı kanal karsinomu 6. Renal medüller karsinom 7.Xp11translokasyon karsinomu 8.Nöroblastom sonrası gelişen karsinom 9.Müsinöz tübüler ve iğsi hücreli karsinom 10. Sınıflandırlamayan BHK

Böbrek tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması, Dünya DSÖ tarafından oluşturulan çalışma gruplarının sürekli güncelleyerek karara bağladığı dinamik bir süreçtir. Malign tümörlerinin %90'dan fazlasını BHK oluşturmaktadır. Benzer morfolojiye sahip olmakla birlikte, antijenik özelliklerinin farklı olması nedeniyle birbirinden ayrılarak isimlendirilen tümörler için tanı koymada immünohistokimyasal inceleme çoğu zaman yararlı ve yeterlidir. Ancak özellikle gelişmiş ülkelerde böbrek tümörlerine giderek daha sık rastlanırken değişik histolojik biçimlerde karşımıza çıkan tümörlerin sınıflandırılmasında güçlükler yaşanmaktadır. BHK alttiplerinin hepsi solid, alveoler, papiller büyüme biçimleri gösterebilmektedir. Hücre düzeyinde incelemede de berrak veya granüler sitoplazmalı olanların yanı sıra sarkomatoid nitelikte hücreler BHK'ların her alt tipinde görülebilmektedir (Young et al. 2008). Bunun sonucu böbrek tümörlerinde giderek genişleyen bir "sınıflandırılmayan" kategorisinin ortaya çıkması ve DSÖ tarafından tanı başlıklarından biri olarak listeye konulması önerilmiştir (Eble et al. 2004). Sınıflandırılmayan kümede de benzer biçimde gelişmiş tümörler ayrı ayrı öbekler oluşturmaktadır. Tüm ortam farklılaşmadığından, ya da birden çok grubun özelliklerini taşıdığından bu olgular daha önce tanımlanmış bir kategoriye konulamamaktadır.

Böbrek tümörlerinin histopatolojik çeşitliliği son yirmi beş yılda gün geçtikçe daha fazla farkedilmektedir. 1986 Mainz, 1997 Heidelberg ve 1998 DSO sınıflandırmalarının ardından 2004 DSO sınıflandırmasıyla farklı alt tipler belirlenmiştir (Çizelge 2.2) (Eble et al. 2004; Lopez-Beltran et al. 2006).

Çizelge 2.2. 2004 DSÖ böbrek tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması (Yıldız 2011'den alınmıştır).

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
 - Mikst mezenkimal ve epitelyal tümörler**
 - Kistik nefroma
 - Mikst epitelyal ve stromal tümör
 - Sinovyial sarkom
 - 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
-

Aynı ailenin bireyleri arasında görülen veya bir sendromun parçası olarak saptanan böbrek tümörlerinde başlayan genetik araştırmalar, DSÖ sınıflandırmasında ayrı başlıklar oluşturan tümörlerin her birinde farklı genetik kusurlar olduğunu göstermiştir. Örneğin berrak hücreli BHK olguları 3. kromozomun 3p25 noktasında saptanan VHL (von Hippel-Lindau) gen bölgesinde mutant genlere sahipken, papiller tipte böbrek hücreli karsinom olgularında 1. kromozom kusurları, 7 ve 17. kromozom triploidileri ve Y kromozom kaybı bulunur (Zbar et al. 1998; Dal Cin 2003; Nagashima et al. 2004; Young et al. 2006; Young et al. 2008; Cheng et al. 2009).

Geçmiş dönemde papiller ve non papiller BHK, papiller adenom ve papiller karsinomları birbirinden ayırd etmek amacıyla yapılan çalışmalar giderek daha yaygın uygulama alanı bulmuştur. Papiller adenomlarda görülen 7 ve 17. kromozomlardaki trizomiye ek olarak papiller karsinomlarda 16, 20 ve 12. kromozomlarda da trizomi saptanması dikkat çekmiştir (Zbar et al. 1998). Çalışmalar ilerledikçe yeni karyotipik değişiklikler saptanmış, morfolojik görünümüleriyle karşılaştırılarak bu değişikliklerle tümörler eşleştirilmeye çalışılmıştır (Kovacs et al. 1994). Sonraki çalışmalarda, sadece

tümör boyutuna bakılarak yapılan papiller adenom ve papiller karsinom ayrımını, genetik temele oturtulmaya çalışılmıştır (Kovacs et al. 1994; Wilhelm et al. 1995).

Tip 1 papiller BHK 7, 12, 16, 17 ve 20.kromozomlarda trizomi ile karakterize iken tip 2 papiller BHK daha heterojen bir genomik yapıdadır. Müsinöz tübüler karsinomda 1, 4, 6, 8, 9, 13, 14, 15 ve 22. kromozomlarda kayıp vardır. Kromofob hücreli karsinomun genetik profili 1,2,6,10,13,17 ve 21. Kromozomlarda kayıp olması ile onkositomdan ayrılmaktadır. Çocukluk çağında ortaya çıkan BHK'da MiTF/TFE ailesinde, Xp11.2'de yer alan TFE3 ile 6p21'de bulunan TFEB genleri arasında translokasyonlar göstermektedir (Couturier et al. 2008).

Böbrek tümörlerinde somatik mutasyonlar ayrıntılı olarak araştırılmış ve günümüzde histopatoloji yanında sınıflandırmada ana kriter haline gelmiştir. Ayrıca böbrek tümörleri, von Hippel-Lindau hastalığı (VHL) gibi birçok kalıtsal kanser sendromu zemininde de gelişebilmektedir. Moleküler ve sitogenetik tekniklerin böbrek hücreli tümörlerde uygulanmasıyla 4 alt tür saptanmış, bunlarda görülen tipik genetik değişiklikler tanımlanmıştır.

Çizelge 2.3. Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasında yer alan renal hücreli tümörlerin özellikleri (Şen ve Sarsık, 2010)

RHK alttip	Sıklık	Gelişim	Hücresel Özellik	Büyüme paterni	Prognoz
Kortikal adenom	İnsidental	Multisantrik, bilateral veya tek	Bazofilik	Papiller	Benign
Metanefrik adenom	Nadir	Tek	Bazofilik	Solit, papiller	Benign
Onkositom	%3,2-7	Tek	Eozinofilik sitoplazmalı	Solit	Benign
Berrak hücreli	%75	Tek, Nadiren multisantrik ve iki taraflı	Berrak sitoplazmalı, arasıra eozinofilik sitoplazmalı	Solit, tübüler, kistik nadiren papiller	Grade ve evre ile ilişkili
Multiloküler kistik	Nadir	Tek, nadiren bilateral	Berrak sitoplazmalı nükleer derece	Pür kistik	İyi
Papiller	%10-15	Multisantrik, bilateral veya tek	Tip 1 (bazofilik) Tip 2 (eozinofilik)	Tübülo-papiller nadiren solit	Grade ve evre ile ilişkili

Kromofob	%3,6-11	Tek	Soluk eozinofilik granüler sitoplazma, büyük hücreler	Solit	Mortalite %10
Bellini, Toplayıcı duktus	%1	Tek	Eozinofilik sitoplazma	Düzensiz kanallar, papiller	Kötü – 2 yıl içinde 2/3 hasta ölümü
Medüller	Nadir	Tek	Eozinofilik sitoplazma	Retiküler patern	Kötü-tanı sonrası 3-4 ay
Xp11 translokasyon	Nadir	Tek	Berrak veya eozinofilik sitoplazma	Tübülo-papiller	İyi
Nöroblastom sonrası	Nadir	Tek	Eozinofilik hücreler onkositik özellikli	Solit	Grade ve evre ile ilişkili
Musinöz tübüler ve işsi hücreli	Nadir	Tek	Tübüller, ekstrasellüler mukus ve işsi hücreler	Solit	Nadiren metastaz
Sınıflandırılmayan	%2-7	Tek	Değişken ve sarkomatoid özellikler	Solit	Yüksek mortalite

Sınıflandırılmayan BHK

Güncel olan DSÖ sınıflandırmasında tanımlanmamış olan bir renal kanser terimidir. BHK ların %5'den azını oluşturur. Bu olguların çoğunda tanımlanmayan epitel elementleri, musin salgılanması veya tanımlanamayan hücre tipleri olan sarkomatoid morfoloji vardır (Srigley et al. 2009). Renal tümörlerin sarkomatoid karsinomlar olarak yeniden ortaya çıkmaları ile ilgili bir veri olmadığından, bu tip bahsedilmemiştir. Sınıflandırılmayan BHK lerin çoğunun biyolojik yapısı agresiftir ve klinik sonucu kötüdür. Sınıflandırılmayan tümörlerde elektron mikroskopisinin de tanıda yeri varsa bile uygulamada kolay ve ucuz bir yöntem değildir (Picken et al. 2005)

Sınıflandırmada Yeni Öneriler

2004 DSÖ sınıflandırmasından sonra morfolojik özellikleriyle farklı beş ayrı tümör kümesinin daha sınıflamaya eklenmesi gündemdedir (Çizelge 2. 4) (Algaba et al. 2011; Yıldız 2011). Bunların en önemlisi tübülokistik karsinom ve tiroid follikülü benzeri böbrek karsinomu olup her iki grubunda klinik seyri iyidir.

Çizelge 2.4. Histopatolojik sınıflandırmaya eklenmesi önerilen böbrek tümör tipleri (Yıldız 2011).

-
- Tübülokistik karsinom
 - Tiroid follikülü benzeri böbrek karsinomu
 - Edinsel kistik hastalıkla ilişkili böbrek hücreli karsinom
 - Berrak hücreli papiller böbrek hücreli karsinom
 - Leiomyomatöz böbrek hücreli karsinom
-

Tübülokistik karsinom genellikle kapsülsüz tek bir böbrek kitlesi olarak görülüp çoğunluğu pT1 evresindedir. Kesit yüzeyleri beyaz veya gri renkli süngerimsi görünümündedir. Fibroz bir stroma içinde yer yer kistik karakterde tübüler yapılar oluşturan tümör hücreleri küboidal veya kolumnar epitelyum özelliğindedir. Tümör hücrelerinin amfofilik veya eozinofilik genişçe sitoplazmaları, iri çekirdekleri ve belirgin çekirdekçikleri vardır (Yang et al. 2008; Amin et al. 2009; Srigley et al. 2009; Algaba et al. 2011). Ayırıcı tanıda Bellini'nin toplayıcı kanal karsinomu ve papiller tipte BHK düşünülmelidir. İmmunohistokimyasal incelemede sitokeratinler (SK8, SK18, SK19) ile hemen daima pozitif reaksiyon verirken CD10 ve AMACR tümörlerin %90'ında pozitif olarak rapor edilmektedir. Sitokeratin 7 ise değişkenlik gösterir. Genetik çalışmalarda 7 ve 17. kromozomlarda kazanım vardır.

Tiroid benzeri folliküler böbrek karsinomu, az sayıda olgu serileri halinde yayınlanmıştır. Bu olguların izlemlerinde nüks görülmemiştir. Tümör, amfofilik veya eozinofilik sitoplazmalı, çok hafif pleomorfizm gösteren hücrelerden oluşur. Tümör hücreleri mikro veya makrofoliküller oluşturarak tiroid dokusuna benzemekte, içlerinde kolloid benzeri proteinoz sıvıya rastlanmaktadır. Çekirdeklerinde oluklanmalar ve psödoinklüzyonlar bulunabilir. Bu tümörlerin ayırıcı tanısında tiroid metastazı veya teratom zemininde gelişen bir tiroid karsinomu akla getirilmelidir. Bu tümörlerin sitokeratin 7 ve CD10 'a verdikleri reaksiyon değişkenlik gösterir. TTF1, RCC, Vimentin, AMACR, CD56,

CD57 ve WT1 antikorları için negatif yanıt verdikleri bildirilmiştir. Genetik çalışmalarda bir olguda 8q24, 12 ve 16. kromozomlarda kazanım, 1p36.3 ve 9q21.33.kromozomda kayıp gösterilmiştir (Jung et al. 2006; Amin et al. 2009; Srigley et al. 2009; Algaba et al. 2011).

Edinsel kistik hastalıkla ilişkili BHK ayrı bir grup olarak sınıflandırılabilir. Son dönem böbrek hastalarında çoğunlukla birden çok tümör kitlesi bulunmaktadır. Patogenezi uzun süreli hemodiyaliz rol oynadığı düşünülmektedir. Genellikle iyi sınırlıdır ve distrofik kalsifikasyon içerirler. Edinsel kistik hastalıkla ilişkili BHK AMACR ile pozitif, sitokeratin 7 ve parvalbümin ile fokal pozitif reaksiyon verir (Algaba et al. 2011; Tickoo et al. 2006; Rioux-Leclercq et al. 2003; Pan et al. 2009; Nouh et al. 2010). Genetik çalışmalar bu tümörlerde 1, 2, 3, 6, 7, 10, 17. kromozomlarda ve Y kromozomlarında kazanım olduğunu göstermiştir.

Berrak hücreli papiller BHK, sıklıkla yalancı bir kapsülle çevrili ve kistik görünümündedir. Mikroskopik incelemede solid, asiner, kistik veya papiller görünüm vardır. Bazılarında okzalat kristalleri ve kalsifikasyon izlenmektedir. Berrak hücreli papiller BHK olgularının yarısında belirgin kistik bir bileşen görülmektedir. Tümör, berrak sitoplazmalı, papiller yapılar oluşturacak şekilde çıkıntılar oluşturan hücrelerden oluşmakta, yer yer kribriform yapılar içermektedir. Berrak hücreli papiller BHK sitokeratin 7 ile pozitif, AMACR ve parvalbümin ile negatif reaksiyon gösterir. Berrak hücreli papiller BHK'da 3p mutasyonu ve kromozom 7 ve 17 trizomisine rastlanmamıştır (Gobbo et al. 2008; Srigley et al. 2009; Algaba et al. 2011).

Leiomyomatoz BHK yeni tanımlanmış olup bu tümörlerin esas özelliği stromalarının, çevrede daha belirgin olmak üzere düz kas içermeleridir. Yuvalar, kordonlar ve tabakalar şeklinde düzenlenen tümöre ait epitel hücreleri solid, tübüler veya papiller yapılar oluşturmaktadır. Ayırıcı tanıda berrak hücreli BHK, angiomyolipom ve sarkomatoid BHK dikkate alınmalıdır. İmmunohistokimyasal incelemede tümörün epitelyal bileşenleri pansitokeratin, CD10, EMA, vimentin ile pozitif, düz kas aktini ve HMB45 ile negatif reaksiyon vermektedir. Stromasında ise düz kas aktini, kalsdesmon, desmin ve vimentin ile pozitif, HMB45, CD117, CKs, EMA, ER ve PR için negatif reaksiyon görülmektedir. Bu tümörlerde yapılan genetik çalışma sonuçları çelişkilidir (Srigley et al. 2009; Algaba et al. 2011). Onkositik papiller BHK, BHK ilişkili nöroblastom ve renal angiomyoadenomatöz tümör son yayınlarda önerilen diğer yeni histolojik tiplerdir (Ljunberg et al. 2010).

2.5. Histopatolojik Sınıflandırmaya Göre Böbrek Karsinomlarında Sitogenetik Özellikler

2.5.1. Berrak Hücreli (Konvansiyonel) Böbrek Hücreli Karsinom

Böbrek kanserlerinin büyük kısmını (%70-75) oluşturan bu tip tümörler proksimal tübül epitelinden köken alır. Berrak hücreli BHK'larda neoplastik hücreler berrak veya eozinofilik sitoplazmalıdır. Olguların %70-90'ında 3p delesyonu saptanmaktadır. 3. Kromozomda delesyona uğrayan veya etkisizleşen bölümler sıklıkla, 3p12-14 ve 3p25 olarak belirlenmektedir. Berrak hücreli BHK a tamamen spesifik olan 3p25 noktasında saptanan VHL (von Hippel-Lindau) geni tümör baskılayıcı bir gen olup ailesel geçiş gösteren olguların tümünde, sporadik olguların ise %57'sinde gösterilmiştir (Young et al. 2006). VHL proteini hücre döngüsünün denetim ve gen düzenlenmesinde görevlidir. VHL proteini transkripsiyon etkeni olan hipoksiye neden olan etkenin (HIF) düzenlenmesinde kilit rol oynar. HIF'in etkisiyle VEGF, PDGF-beta yeni damar oluşumu; TGF alfa, EGFR ve IGF hücre çoğalması; GLUC1 ve EPO enerji sağlanması; CXCR4 ise metastaz süreçlerini çalıştırır.

Berrak hücreli papiller tipte BHK ile ayırıcı tanı güçlüğü çekildiğinde kromozom analizi yapılırsa 7. kromozom kazanımı ve Y kromozomu kaybı papiller karsinomu destekleyecektir. Xp11.2 translokasyon karsinomu ile ayırıcı tanıda ise karakteristik kromozom değişiklikleri saptanarak tanı konulabilir. Multiloküler kistik BHK değişik kalınlıkta kistik boşluklardan oluşan bir tümördür. Olguların %90'ında DNA diploidisi görülmektedir.

Berrak hücreli BHK de beklenmeyen yerlere ve geç metastazlar sıklıkla görülür. Prognozda en önemli faktörler evre ve derecedir. Berrak hücreli BHK'lar, VHL hastalığının tipik bir bulgusudur ancak başka ailesel BHK sendromlarında da gelişebilir. Çoğu BHK'lar ise VHL hastalığı ile ilişkili değildir ve bu sporadik olguların hemen tamamında 3p delesyonu saptanır (Kovacs et al. 1989). Mikroskopik boyuttaki berrak hücreli BHK larde bile 3p delesyonu gözlenmiştir. Bu nedenle, boyut ne olursa olsun, tümör berrak hücrelerden oluşuyorsa BHK tanısı konmalıdır. Olguların yarıya yakın bölümünde VHL gen mutasyonu (Shuin et al. 1994), %20'sinde DNA metilasyonu (Herman et al. 1994) gözlenir. VHL proteini hipoksiyle -uyarılabilen faktörü negatif yönde düzenler ve bu faktör hücre proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve ekstrasellüler matriks

oluşumunda görevlidir. Bunların dışında 9p ve 14q kromozom kaybı izlenebilir. 9p kromozom kaybının kötü prognoz (Moch et al. 1996), 14q kaybının hem kötü prognoz, hem de ileri evre ve derece ile ilişkili (Schullerus et al. 1997) olduğu bildirilmiştir. Xp11.2 translokasyon/TFE3 gen füzyonlu berrak hücreli BHK, daha çok çocuklarda ve genç erişkinlerde ve ileri evrede izlenir (Eble et al. 2004).

2.5.1.1. İnsidans ve Epidemiyoloji

Böbrek hücreli karsinom (BHK), böbrek tübül epitelinden kaynaklanan malignite grubudur (Eble et al. 2004). Tanısı ortalama 55-60 yaşları arasında konulup, genellikle yetişkinlerde görülür (Murphy et al. 1994; Ordonez et al. 2004; Eble 2003). Yetişkin malignitelerinin yaklaşık %2-3'ü BHK'dur (Murphy et al. 1994; Tavani et al. 1997; Roland et al. 1999; Dekel et al. 2002). Rölatif olarak nadir bir tümör olup her 100.000 insandan 6'sı hastalıktan etkilenir (Dekel et al. 2002). İnsidansı giderek artmaktadır (Roland et al. 1999; Pantuck et al. 2003; Hashimoto et al. 2004). Erkeklerde kadınlara göre daha sık (E/K : 2/1) görülür (Murphy et al. 1994; Dekel et al. 2002; Eble 2003; Ordonez et al. 2004). BHK tüm etnik gruplarda ve coğrafik bölgelerde görülür ve ırklar arasında fark yoktur (Murphy et al. 1994). BHK'lar nadir olarak, erişkindekilere benzer görünüm ve davranışta çocukluk çağında da görülür (Murphy et al. 1994; Eble 2003; Ordonez et al. 2004). Renal korteksten kaynaklanır ve böbrek malignitelerinin %80-85'ini oluşturur (Tavani et al. 1997). Genitoüriner tümörler içerisinde 3. sıklıktadır (Hashimoto et al. 2004). Ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, ve manyetik rezonans gibi noninvaziv abdominal görüntüleme yöntemlerinin artmasıyla tümörün asemptomatik evrede teşhis şansı artmıştır (Pantuck et al. 2003).

2.5.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

BHK'ların etiyojisi ve histogenezi tam olarak aydınlatılmamıştır. Bilinen en önemli etiyojistik faktör sigaradır (Murphy et al. 1994; Eble et al. 2004; Ordonez et al. 2004, Yörükoğlu 2005); erkeklerde %39 olguda etkin olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar obezite ve aile öyküsünün BHK ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Tavani et al. 1997). Hipertansiyon, diyabet, böbrek taşları, infeksiyonları ve travma, bazı meslek gruplarının maruz kaldığı trikloretilen gibi kimyasal maddeler, arsenik ağırmetaller, klorlu solventler, petrokimyasallar, boyalar, aromatik aminler, solventler ve asbestoz BHK riskini artıran faktörler arasındadır (Tavani et al. 1997; Pesch et al. 2000; Eble et al. 2004; Adams et al. 2008). Bazı östrojen muadillerinin hayvanlarda böbrek tümörlerine neden olduğu

gösterilmiştir. Son yıllarda aşırı şişmanlık ile ilişkisi de östrojen hormonları ile ilişkisini düşündürmektedir. Böbrek hücreli kanser riski BMI (body mass index) ile paralellik göstermektedir. Hastalığın nadir familial şekli tanımlanmıştır (Ordonez et al. 2004). Familial BHK gelişiminin, BHK riskini 2-3 kat artırdığı bildirilmiştir (Dominguez et al. 2001). Bu arada edinsel kistik böbrek hastalığının, özellikle uzun süreli hemodiyaliz uygulananlarda kanser gelişiminde önemli bir predispozan etken olduğu kabul edilmektedir. Diyabet ve üriner enfeksiyonların böbrek kanseriyle ilişkisi halen tartışılmaktadır.

BHK ile sıklıkla görülen hastalıklar :

1. von Hippel-Lindau hastalığı (VHL): Otozomal dominant bir hastalık olan VHL populasyonun yaklaşık %50' sinde görülür. Bu hastalardaki RHK çok sayıdadır ve bazıları atipik değişiklikler gösteren kistlerle ilişkilidir. VHL hastalık geni 3p25.5 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır ve VHL hastalığı bu gendeki germ line mutasyon sonucu gelişir (Pantuck et al. 2003; Ordonez et al. 2004).
2. Edinsel kistik hastalık: Edinsel polikistik böbrek hastalığına sahip uzun dönem dialize giren hastaların yaklaşık yarısında renal hücreli adenom ya da karsinom gelişir. Metastaz oranları %5-7'dir (Ordonez et al. 2004).
3. Polikistik böbrek hastalığının erişkin şekli ve multikistik nefroma (multiloküler kist)
4. Tüberoskleroz
5. Birt-Hogg-Dube sendromu: Benign deri tümörleri ile karakterize bir sendromdur. Multipl renal tümörler ve spontan pnömotoraks bu hastalarda sık görülür (Eble et al. 2004).
6. Yapısal kromozom 3 translokasyonu: BHK gelişme riskini artırması ile karakterizedir. Tanı için tek-çok sayıda, tek ya da çift taraflı BHK, aile öyküsü ve yapısal kromozom 3 translokasyonu olmalıdır. Tümörler histolojik olarak berrak hücreli BHK görünümündedir (Eble et al. 2004).
7. Nöroblastom : Nöroblastom nedeniyle tedavi görmüş çocuklarda BHK geliştiğini gösteren birkaç yayın bulunmaktadır. Bu tümörler sitolojik olarak onkositoid görünümlü, yapısal olarak ise papiller gelişim paterni gösterirler.
8. Familial kutanöz leiomyomatozis
9. Malign lenfoma

2.5.1.3. Makroskopik Özellikler

Berrak hücreli BHK'lar tipik olarak böbreğin normal konturlarını oluşturan renal korteksin herhangi bir yerinden gelişen globüler kitleler şeklindedirler. Bununla birlikte arasına diffüz infiltratif de olabilirler. Ancak diffüz infiltrasyon nadirdir. Kesit yüzü genellikle grimsi ödematöz stroma, hemoraji, nekroz, kistik ve kalsifiye alanlar içeren sarı renkte, yumuşak parankimden oluşur (Eble 2003; Eble et al. 2004; Ordonez et al. 2004). Sarı renk yoğun intrasitoplazmik lipide bağlıdır. Derecesi yüksek olan tümörler daha az lipid ve glikojen içerirler ve daha değişken görünümlere sahiptirler (Reuter et al. 2004). Kistler berrak, sarı renkte sıvı ile dolu ya da hemorajik olabilir. Berrak hücreli BHK renal venöz sisteme invaze olabilir, arasına renal veni doldurabilir, vena kava ve sağ atriума kadar uzanabilir. Yaklaşık %5'i sarkomatoid değişiklik gösterebilir. Bu alanlar sert, solid ve beyaz renktedir (Eble 2003).

Nadir olarak, kistik kitleler makroskopik olarak kistik nefroma ve septaları içerisinde berrak epitelyal hücre kümeleri içeren multiloküler kistik BHK'a benzeyebilir. Bu hücreler hemen daima küçük, koyu boyanan nükleuslu ve histolojik olarak nükleer grade 1 BHK'dakilere benzeyen hücrelerdir. Böyle tümörlerde malign davranış görülmesi de multiloküler kistik berrak hücreli BHK olarak adlandırılabilirler (Eble 2003; Ordonez et al. 2004).

2.5.1.4. Mikroskopik Özellikler

Berrak hücreli BHK tipik olarak alveoler kümeler halinde karsinom hücreleri ve bu kümeler arasında küçük kan damarlarının meydana getirdiği ağdan oluşan görünüme sahiptir (Eble 2003). Olguların yaklaşık %50'si solid ve asiner gelişim gösterir (Reuter et al. 2004). Bununla birlikte baskın gelişim paterni karakteristik olarak sinüzoid benzeri damarlara sahip stroma ile birbirinden ayrılan büyük hücre adalarının oluşturduğu solid gelişim paternidir. Diğer olgularda kistik, papiller/pseudopapiller, tübüler ve sarkomatoid gelişim paterni birlikte bulunabilir (Ordonez et al. 2004; Reuter et al. 2004).

Gelişim paterni genel şekilde histolojik derece ile ilişkilidir. Düşük dereceli lezyonlar asiner gelişim paterni gösterirken daha yüksek dereceli olanlar solid, pseudo papiller ya da sarkomatoid gelişim paternine sahiptirler. Pek çok olguda tümör hücreleri poligonal veya küboidal görünümündedir (Reuter et al. 2004). Berrak hücreli BHK'da sitoplazmik volüm orta büyüklükte ya da geniş olabilir. Bununla birlikte tipik olarak tümörün bir alanındaki hücrelerin sitoplazması benzer büyüklüktedir. Hücresel boyutlardaki bu zonal patern kromofob BHK'daki mozaik paterne terstir (Eble 2003).

Hücresel görünüm daha yüksek dereceli lezyonlarda değişkendir. Sarkomatoid alanlardaki iğsi hücreler hastalığın yüksek derecede olduğunu gösterir. Tümörlerin büyük kısmında sitoplazma, berrak ve granüler özellik gösterir. Tümör hücrelerinin berrak görünümü PAS ve Oil Red ile gösterilen anormal glikojen ve yağ depolanması nedeni ile olur. Sitoplazma, hyalen damlacıklar, fagosite edilmiş hemosiderin pigmenti, lizozomal granüller ve Mallory veya melanin benzeri cisimcikler içerebilir. Evre 1 deki lezyonlar berrak sitoplazmaya sahipken yüksek dereceli lezyonlar eozinofilik ve granüler görünüm kazanırlar. 3 ve 4. Evredeki lezyonlardan bazılarında berrak sitoplazma görünmeyebilir. Baskın olarak granüler hücrelerden oluşan tümörler kromofob tümörden farklı şekilde kromofilik olarak isimlendirilirler (Ordonez et al. 2004). Ancak bu tümörler de berrak hücreli BHK olarak sınıflandırılmalıdırlar (Reuter et al. 2004). Nükleus genellikle santral yerleşimlidir. Derecelendirmede kullanılan çap, kromatin paterni ve nükleol görünümü olgudan olguya değişir (Ordonez et al. 2004).

Berrak hücreli BHK'larda papiller yapı nadirdir. Psammom cisimcikleri ve köpüksü makrofajlar papiller karsinomda berrak hücreli BHK'dan daha fazladır. Gerçek fibrovasküler kora sahip papiller yapıların oluşturduğu papiller tipte BHK ile pseudopapiller gelişim paterni gösteren tümörler karıştırılmamalıdırlar.

Berrak hücreli varyantta müsin nadirdir. %75'in üzerinde olguda, dejeneratif değişikliklere ek olarak fokal fibrozis veya hyalinizasyon alanı görülebilir. Bununla birlikte gerçek desmoplazi yok ya da minimaldir. Coğrafik nekroz ve fokal hemoraji sık histolojik bulgulardandır. Genellikle T hücrelerinden lenfositik infiltrat oluşan değişken derecelerde bulunabilir (Reuter et al. 2004; Eble 2003; Ordenez et al. 2004).

2.5.1.5. Klinik Etmenler

Tüm BHK'ların 2/3-3/4'ü berrak hücreli BHK'dur. Tümörlere bu ismin verilmesinin nedeni tümörün bir kısmının ya da tamamının geniş, berrak sitoplazmalı hücrelerden oluşmasıdır. Bununla birlikte bu karsinomların çoğunda tümörü oluşturan hücrelerin çoğu hatta tümü eozinofilik sitoplazmalı olabilmektedir. Son zamanlarda berrak tanımı konvansiyonel ile yer değiştirmiştir. Bazı genetikçiler bu karsinomları non papiller BHK olarak adlandırır, ancak bu terminoloji BHK'ların başka tiplerinin de olması nedeniyle karışıklığa yol açtığından kullanılmamalıdır (Eble 2003).

Berrak hücreli BHK 3p kromozomunda genetik materyal kaybı ile karakterizedir. Bu defekt hipermetilasyonla fonksiyon kaybı olabileceği gibi kromozomun tümünün kaybı şeklinde de olabilir. Kötü prognoz ile ilişkili olarak 14. kromozomda heterozigosite kaybı

gibi diğerk genetik anomaliler siktir. Berrak hücreli BHK kemoterapi ve radyoterapiye dirençlidir. İmmünoterapi de hayal kırıklığı yaratmıştır. Başlıca tedavi cerrahidir. Prognozda evreleme kullanılır. Ayrıca derecelendirme de evrelemeye eklenebilir (Eble 2003).

2.5.1.6 Ayırıcı Tanı

Tipik berrak hücreli BHK'ların tanısı genellikle doğrudan konur (Eble 2003). Bazı berrak hücreli BHK'lar papiller ve kromofob BHK ile karışabilirler. Berrak hücreli tipte gerçek fibrovasküler kora sahip olmayan pseudopapillalar mevcuttur. Ayrıca bu papillalar içerisinde histiositlerin görülmesi olası değildir. Papiller karsinomda sitokeratin 7 eksprese edilirken, bu durum berrak hücreli tipte negatiftir. Kromofob BHK, nadiren, berrak hücreli BHK'da da görülen karakteristik sitoplazmik ve nükleer özelliklere sahiptir. Hale'in kolloidal demir boyası, ultrastrüktürel, sitogenetik ve moleküler genetik çalışmalar ayırıcı tanıda yardımcıdır (Reuter et al. 2004). Epiteloid anjiomyolipom berrak hücreli BHK ile karışabilecek bir diğerk tümördür. Ayırıcı tanıda morfolojik görünüm, immünhistokimya, elektron mikroskopi ve sitogenetik özelliklerden yararlanılabilir. Sarkomatoid değişiklikler sarkomu andırabilir ve tanıda zorluk yaratabilir. Renal sarkomlar nadir olduğundan, tanı dikkatli konulmalıdır. Ultrastrüktürel çalışmalar ve immünhistokimya Hematoksilin-Eozin (H&E) kesitlerde sarkomla karışan alanlarda epitelyal özellikleri ortaya çıkarabilir (Eble 2003). Yetişkinlerde renal pelvisten gelişen ürotelyal karsinomların büyük çapa ulaşmaları ve böbreği yaygın olarak infiltre etmeleri BHK ile karışıklığa neden olmaktadır. Mikroskopik ayırım pelvik tümörün sarkomatoid değişiklikler içermesi halinde iyice zorlaşabilir. Büyük moleküler ağırlıklı sitokeratin (HMWCK) ve karsinoembriyonik antijen (CEA) in pozitif olması tümörün ürotelyal orjinli olduğunu gösterir (Eble 2003).

Ksantogranülatöz pyelonefrit klinik ve patolojik olarak BHK ile karışan nadir bir inflamatuvar hastalıktır. Renal çıkış, genellikle taş yüzünden bazen de üreteropelvik bileşkedeki deformite nedeniyle azdır. Köpüksü makrofaj infiltrasyonu yüzünden mikroskopik olarak BHK ile karışır. Sitoplazmadaki köpüksü görünüm BHK'a benzemez. Ayrıca BHK'daki tipik vasküler patern ksantogranülatöz pyelonefritte izlenmez (Eble 2003).

Başarılı radikal nefrektomilerden yıllar sonra tekrarlayan ya da uzak lokalizasyonlarda primeri bilinmeyen metastazlar şeklinde ortaya çıkan klinik olarak saklı BHK'lar tanısal probleme yol açabilirler. Berrak hücreli BHK'ların büyük bir kısmı sitokeratin ve vimentini birlikte eksprese ederler. Ultrastrüktürel olarak lüminal yüzeylerde veya

interselüler alanlardaki mikrovilluslar ve sitoplazma içerisindeki belirgin glikojen olması BHK'ü akla getirir (Eble 2003). Karşı adrenal beze soliter metastazlar primer adrenal kortikal karsinoma benzeyebilir. Böyle olgularda immünohistokimyasal olarak EMA ve sitokeratin yardımcı olabilir. Çünkü BHK'ların hemen hemen tümü daima EMA ve/veya sitokeratin ile pozitif boyanırken adrenal kortikal karsinomlar EMA negatif olup sitokeratin ile sadece zayıf boyanır (Eble 2003). Tiroide metastaz tiroidin berrak hücreli karsinomunu taklit edebilir. Tiroidin berrak hücreli karsinomunda tiroglobulin pozitifdir. BHK'da ise ultrastrüktürel olarak intrasitoplazmik glikojen olması söz konusudur. Santral sinir sisteminin kapiller hemanjioblastomu ve BHK, H&E kesitlerde birbirleriyle karışabilirler. Her iki neoplazinin de von Hippel-Lindau hastalığı ile ilişkili olması başlıca problemdir. Ayırım EMA ile yapılabilir (Eble 2003).

2.5.1.7. Moleküler Prognostik Faktörler

Hanahan ve Weinberg (2000)'e göre malign fenotip şu özellikleri gösterir: büyüme ulaklarının kendi-kendine yetmesi, büyümeyi inhibe eden ulaklara duyarsızlık, apoptozise direnç, sınırsız kopyalama potansiyeli, sürekli anjiogenez ile dokuya invazyon ve metastaz. Terapötik bakış açısından bakılırsa, bunlardan kemoterapötikleri en çok zorlayan yolak apoptozise direnç, anjiogenez ve çoklu-ilaç direncidir (Morais et al. 2011).

Böbrek hücreli kanserlerde hasta ile ilişkili prognostik faktörler; belirti olması, performansın düşük olması, sedimentasyon, CRP, kilo kaybı, kansızlık, hiperkalsemi, alkalin fosfatazın yükselmesi ve serum ferritin düzeyidir. Tümör ile ilişkili prognostik faktörler; histolojik tip, tümör çapı, evresi, cerrahi sınırları, nükleer derecesi, lenfovasküler invazyon, metastaz, proliferasyon belirleyicileri, p53 v.b. olarak özetlenebilir. BHK'lerin moleküler genetik özelliklerinin ayrıntılarıyla bilinmesi, bireysel hasta prognozunu belirleme ve yeni tedavi yöntemleri bulma açısından önemlidir.

Berrak hücreli BHK en sık görülen renal tümör alt tipidir (Grignon et al. 2004). Bu tümörlerde, sıklıkla hemorajik bölgelerde görülen çok damarlı bir tümör stroması vardır. Tipik olarak görülen sarı tümör yüzeyi hücrelerin lipid içeriğine bağlıdır: kolesterol, nötral yağlar ve fosfolipidler de oldukça sık görülür. Bazı berrak hücreli BHK lar sistik görünümündedirler. Bu, nekrozun oluşmasına bağlı olabilir (psödo-sistit). Tümörün nekroze olması, tümörlerin agresif yapılarının artmasına bağlıdır. Bazı berrak hücreli böbrek kanserleri gerçek neoplastik sistit yaparlar. Tamamen sistik görünümde olan ve solid tümörü olmayan vakalar multioküler sistik böbrek hücreli karsinom olarak tanımlanırlar

(Eble et al. 1998). Bu alt grubun prognozu oldukça iyidir ve malignitesi düşük olan berrak hücreli renal kanser alt grubu olarak bilinir .Berrak hücreli renal karsinomlarda sarkomoid değişiklikler de görülebilir ve bu kötü prognoz ile ilişkilidir (Moch et al. 2000; de Perelta-Venturina et al. 2001). Böbrek hücreli karsinomların çoğu hafif bir inflamatuvar yanıt verir fakat bazen natural killer hücreler ile birlikte yoğun bir lenfositik veya nötrofilik infiltrat vardır (Sconocchia et al. 2009) ve lenfositik infiltrasyonun fazla olması ile sonucun kötü olması arasında bir ilişki vardır (Morra et al. 2011). Berrak hücreli BHK'lar genellikle kan yoluyla vena kava ile primer olarak karaciğere metastaz yaparlar. Paravertebral venler olan vena testikularis/vena ovarii, intra-renal venler boyunca veya üreter boyunca retrograd metastaz da bir metastaz yolu olabilir. Berrak hücreli BHK, 10 yıl ve hatta daha uzun süre sonra olağan dışı bölgelere metastaz yapar. Berrak hücreli böbrek tümörlerinin hepsi, tümörün boyutuna bakılmaksızın malign olarak kabul edilir (Eble et al. 2004).

BHK'da 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %70'tir. Prognozu etkileyen klinikopatolojik parametreler incelenecek olursa (Ordonez et al. 2004):

Cinsiyet ve ırk : Bu faktörlerin tek başlarına prognostik önemi oldukça azdır.

Yaş : Yaş ve prognoz arasındaki ilişki oldukça azdır. 40 yaş altı gelişen BHK ile yaşlılarda gelişenler arasında klinik seyir aynıdır.

Evre :Tanı anında uzak metastazı olmayan hastalara, cerrahi bulgulara göre evre verilir. 4 evre vardır :

Evre I : Tümör böbrekte sınırlı.

Evre II : Tümör perirenal yağlı dokuya infiltre ancak Gerota fasyası içerisinde.

Evre III : Renal ven ya da vena cava tutulumu ya da reyonel lenf metastazı vardır.

Evre IV : Adrenal bez dışı komşu organ tutulumu ya da uzak metastaz vardır

Medeiros ve ark. (1988) yaptıkları çalışmada evre ile hastalısız sağ kalım arasında yakın bir ilişki bulmuşlardır. Nefrektomiye takiben 5 yıllık sağ kalım oranı evre I'de %60-80, evre II'de %40-70, evre III'te %10-40, Evre IV'te ise %5 ya da daha azdır.

Histolojik Derece: BHK'ler için de birçok derecelendirme yöntemi tanımlanmıştır.

Bunlardan en yaygın kullanılanı, çekirdek ve nükleolus özelliklerine dayanan Fuhrman derecelendirmesidir (Fuhrman et al. 1982); hücresel veya yapısal atipiyi kullanmaz. Histolojik derece, metastaz görülmesi ve lokal nüks, patolojik evre ve en önemlisi yaşam süresi ile ilişkilidir (Storkel et al. 1989; Gelb et al. 1993). Aynı evredeki olgular

değerlendirildiğinde de histolojik derece, olguları prognostik gruplara ayırabilmektedir (Amin et al. 2002).

Histolojik Tür: Histolojik türlerin prognozu farklıdır. Prognozu en kötü olan, başta sınıflandırılmayan BHK olmak üzere sırasıyla berrak hücreli, papiller ve kromofob BHK'dir (de Peralta-Venturina et al. 2001; Amin et al. 2002). Toplayıcı kanal kanseri (Bellini'nin duktus kanseri) ise daha agresif seyir gösterir (Chao et al. 2002). Sarkomatoid varyant, artık ayrı bir tür olarak kabul edilmemekle birlikte, daha yüksek dereceli bir tümör anlamına gelmekte ve kötü prognozu işaret etmektedir (de Peralta-Venturina et al. 2001)

Uzak metastaz : Operasyon sırasında uzak metastazın olması en önemli prognostik parametredir.

Tümör çapı : Primer tümör çapı, boyut 3 cm.nin altında ve 12 cm.nin üzerinde ise prognozla ilişkilidir. Ancak bu iki boyut arasında kalan ve büyük paydayı oluşturan tümör grubu için böyle bir ilişki yoktur (Ordonez et al. 2004).

Renal ven invazyonu : Makroskopik olarak renal ven invazyonu varsa kötü prognozu gösterir ve cerrahi evrelemede yerini almıştır. Bununla birlikte son zamanlarda bazı serilerde bu faktörün tek başına az bir öneme sahip olduğu ya da sadece yüksek dereceli tümörlerde sonuçları etkilediği vurgulanmıştır (Medeiros et al. 1988). Bunun aksine mikroskopik ven invazyonu relapsın önemli bir belirleyicisidir (Ordonez et al. 2004).

Renal pelvis invazyonu : Prognostik önemi yoktur .

Mikroskopik derece : Mikroskopik kesitlerde saptanan nükleer derece, sağ kalımın önemli bir belirleyicisidir. 1 ve 2 derece tümörler arasında istatistiksel olarak fark yokken, bu tümörler 3 ve 4 olanlara göre daha iyi sağ kalıma sahiptirler. Ayrıca 3 derece tümörler 4 derece olanlara göre daha az sıklıkta metastaz yaparlar (Medeiros et al. 1988). Nükleer derece, cerrahi evre ile yakından ilişkilidir ve istatistiksel olarak ondan bağımsızdır (Ordonez et al. 2004). Nükleer dereceleme sistemi konvansiyonel ve papiller BHK'larda prognostik değere sahiptir (Montiron et al. 2000).

Berrak-granüler sitoplazma varlığı : Berrak sitoplazmaya sahip tümörler granüler sitoplazmaya sahip olanlardan daha az saldırganlardır. Ancak tümör hücre tipi nükleer dereceden bağımsız değildir. Berrak hücreli tip, mikst hücreli tümörden daha az metastaz yapar. Granüler ve mikst tipte hücreli tümörlerin büyük bir kısmında yüksek derecelidir (Medeiros et al. 1988).

Mikroskopik varyantlar : Papiller ve iğsi hücreli görünüm prognozu kötü yönde etkiler. Ayrıca papiller ve iğsi patern nükleer dereceden bağımsız olarak kötü prognozla ilişkilidir (Medeiros et al. 1988).

Lenfositik infiltrasyon : Artmış T lenfosit infiltrasyonu ile ileri evre ve patolojik derece arasında ilişki bulunmuştur (Ordenez et al. 2004).

DNA ploidi : DNA ploidi ile morfolojik nükleer derece arasında açık bir ilişki bulunmuştur (Ordenez et al. 2004).

Hücre proliferasyonu : Hücre proliferasyonu ile prognoz arasında ilişki bulunmuştur (Ordenez et al. 2004).

p53 overekspresyonu: Erken evre BHK'lu hastalarda p53 immünohistokimyasal pozitifliğinin metastatik hastalık ve kötü sağ kalım ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Ordenez et al. 2004).

CD44s ekspresyonu : CD44S'in immünohistokimyasal ekspresyonu BHK'un rekürrensi ve progresyonuyla ilişkilidir (Ordenez et al. 2004).

Damar dansitesi : Bu tümörlerde tümör içi mikrodamar dansitesinin düzeyi ek prognostik bilgi katkısı sağlamaz (Ordenez et al. 2004).

MUC1 ekspresyonu : İmmünohistokimyasal olarak saptanabilen bu özellik nükleer derece ve tümör progresyonuyla paraleldir (Ordenez et al. 2004).

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü : BHK'lu kadınlar arasında bu molekülün yüksek düzeylerde eksprese edilmesi kötü sağ kalımı gösterir (Ordenez et al. 2004).

Nöral hücre adezyon molekülü : Bu belirleyicinin ekspresyonu düşük sağ kalım oranı ve yüksek metastaz riski ile ilişkilidir (Ordenez et al. 2004).

Tüm kanser türlerinde olduğu gibi böbrek tümöründe de prognoz ve tedaviye cevabın öngörüsü oldukça önemlidir. Günümüzde böbrek tümörü üzerinde yapılan çalışmaların en önemli hedefi, hastalığa özgü sağ kalımın öngörüsünde kullanılacak moleküler ve genetik prognostik faktörlerin ortaya konulmasıdır (Gül et al. 2011). Bu amaçla birçok moleküler belirleyici önerilmiştir.

Çizelge 2.5. Böbrek tümörlerinde prognozu etkileyen faktörler (Gül ve Yayıoğlu 2011).

Tümör ile İlgili Faktörler <ul style="list-style-type: none">-Anatomik özellikler (Evre)-Histolojik özellikler (Furhman derecesi, histolojik tip,sarkomatoid komponent, nükleer morfometri,mikrovasküler invazyon, nekroz)
Moleküler Faktörler <ul style="list-style-type: none">-Hipoksi ile indüklenen moleküller (CaIX, VEGF, IGF-1)-Proliferasyon belirteçleri (Ki-67, PCNA, PTEN)-Hücre döngüsü belirteçleri (p53, Bcl-2, PTEN, Siklin A, p27)-Hücre adhezyonu molekülleri (E-Cadherin, α-Catenin,Cadherin-6)-Diğer (Vimetin, CD44, CA 125)
Hasta ile İlgili Faktörler <ul style="list-style-type: none">-Klinik bulgular (Semptomlar, genel sağlık durumu, kaşeksi)-Laboratuar bulguları (Trombosit sayısı, anemi)
Mekanizmaya Özgü Faktörler <ul style="list-style-type: none">-Tümör vaskülaritesi (BT'de kontrast tutulumu)-Hipertansiyon (Sunitinib ile ilişkili HT)- gen değişiklikleri (?)-Serum VEGF düzeyi(?)

2.5.1.8. Tedavi

BHK da tedavi seçenekleri cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormonal tedavi, immünoterapi ve bunların kombinasyonudur. Cerrahi rezeksiyon, lokalize BHK tedavisinde bilinen en etkili tedavidir. Radikal nefrektomi, lokalize renal karsinom tedavisinde standart prosedür olup böbreğin Gerota fasyası, perirenal yağlı dokusu ve aynı taraf adrenal bezi ile birlikte çıkarılmasıdır. Erken evre BHK'lu hastaların %50'sinden fazlası kür olurken evre IV'de hastalığın sonuçları kötüdür. Kür şansı, evre ve tümör yayılımının derecesi ile direkt bağlantılıdır. Radyoterapi, klinik durumu cerrahi tedaviye uygun olmayanlarda ve yaygın metastatik hastalığı olanlarda palyasyon için primer tedavi olarak kullanılabilir. Metastatik hastalığa sahip seçilmiş hastalar immünoterapiye yanıt verir. Fakat ilerlemiş hastalığa sahip birçok hastaya sadece palyatif tedavi uygulanır. Sistemik tedavi seçenekleri sınırlıdır ve standart olarak kabul görmüş hormonal tedavi yada kemoterapi rejimi yoktur. Tek ya da kombine kemoterapiye yanıt oranları %15'ten azdır. BHK immünolojik bir tümördür ve spontan gerileyen olgular bildirilmiştir.

İnterferon, interleukin-2, bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısı gibi birçok immünmodülatör ajanlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Sachdeva et al. 2002).

2.5.1.9. Anjiogenez

Anjiogenez daha önceden var olan damarlardan yeni kapillerlerin gelişmesidir (Lu et al. 2005; Fox et al. 1997). Günümüzde vaskülogenezis dışında neovaskülarizasyonun fizyolojik ve patolojik formlarının tümünde kullanılmaktadır. Vaskülogenezis ise kan damarlarının de novo oluşumudur (Fox et al. 1997). Fötal gelişim, inflamasyon, yara iyileşmesi, kardiovasküler hastalıklar, diyabet, endometriozis, psöriazis, yağlanma immün reaksiyonlar, neoplaziler gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda indüklenir. Neovaskülarizasyon malign hastalıklarda tümörün büyümesi ve metastazı için gereklidir. Malign tümörlerde, tümör büyümesi ve metastazı ile yüksek mikrodamar yoğunluğu arasında korelasyon gösterilmiştir (Lu et al. 2005; Stanenow et al. 2005; Lorincz et al. 2004). Tümöral anjiogenez, damar gelişimini uyaran ya da baskılayan faktörler arasındaki dengeye bağlıdır (Ribatti 2004). Tümör hücreleri, endotel hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen, anjiogenezi durduran (anjiostatik) ve stimüle eden (anjiogenik) bazı maddeler tanımlanmıştır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), asidik ve bazik fibroblastik büyüme faktör (FGF) en önemli anjiogenik faktörlerdir (Stanenow et al. 2005).

İnsandaki tümörlerin çoğu, saptandığında neovaskülarizedir. Ancak deneysel ve klinik veriler bu tümörlerin aylarca ve yıllarca anjiogenik olmadan kaldığını göstermektedir (Özuysal 2001). Neovaskülarizasyon yoksa tümörlerin çapı 2-3 mm.yi nadiren aşar, nekrotik ve/veya apopitotik bir görünümdedirler, nispeten hareketsiz bir durumdadırlar ve sıklıkla klinik olarak tespit edilemezler (Lu et al. 2005; Wang et al. 2005). Vaskülarizasyonla birlikte replike olan hücrelerin total populasyonu önemli ölçüde artar. Hızlı bir büyüme, invazyon, çevre dokulara bası oluşur. Anjiogenez invazyonu kolaylaştırır ve tümörün genişlemesine izin verir. Yüksek oranda anjiogenik hücreler içeren tümörler daha büyük ihtimalle yaygın metastaz yapar. Klinik veriler metastatik potansiyelin ve prognozun anjiogenez şiddetine bağlı olduğunu desteklemektedir. Bu nedenle anjiogenezin şiddeti belirlenmeye çalışılmaktadır (Özuysal 2001). Edeline ve ark. (2012) berrak hücreli BHK da, düşük ve yüksek olmak üzere iki farklı anjiogenik fenotip olduğunu; ve düşük anjiogenik fenotipin daha agresif prognoz faktörleri ve oldukça düşük düzeydeki gen ekspresyonu (platelet-derived büyüme faktörü-D, N-asetil transferaz 8 ve N-astiltransferaz 8-B) ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

2.5.2. Papiller Böbrek Hücreli Karsinom

Papiller veya tübülo papiller yapı gösteren BHK'lardır. Tüm BHK'ların %10-15'ini oluştururlar. Birçok komplike kromozom anomalisi olan ve alel dengesizliği bulunan, genetik olarak heterojen karsinomlardır. Tip I ve tip II olarak iki alt gruba ayrılırlar (Delahunt et al. 1997). Papiller BHK'lerde en sık 7 ve 17. kromozom trizomisi ile Y kromozomu kaybı gözlenir (Kovacs et al. 1991). Bunların dışında, 12, 16 ve 20. kromozom trizomisi de görülebilir (Kovacs et al. 1991). 5 mm'den küçük, benzer morfolojideki tümörlere papiller adenom denir (Eble et al. 2004). Papiller adenomlarda da papiller BHK'de olduğu gibi Y kromozomu kaybı, 7 ve 17. kromozom trizomisi gözlenmiştir (Kovacs et al. 1991). Bu nedenle de bu lezyonun papiller BHK öncüsü olduğu belirtilmektedir. Papiller adenomlarda izlenen 12, 16 ve 20. kromozom trizomileri ise hastalığın ilerlediğini gösterir. Papiller BHK da prognoz berrak hücrelilere göre daha iyidir.

Tip I tümörlerde 7 ve 17. kromozom trizomileri daha sık görülmektedir. Kalıtsal geçiş gösteren papiller BHK olgularında 7q31 bölgesinde yerleşmiş c-MET geni bulunur (Jeffers et al. 1997; Zhuang et al. 1998; Sanders et al. 2002).Tiroid, over ve kolonun papiller karsinomlarında da görülebilen c-MET hücre çoğalması, yeni damar oluşumu, hücre hareketliliği ve hücre farklılaşmasını tetiklemektedir.

Papiller tipte BHK ile ayırıcı tanı güçlüğü yaşayan olgularda; papiller adenomda da benzer kromozom değişiklikleri görülebildiği için kromozom analizi her zaman ayırd edici olmayabilir. Metanefrik adenom ile ayırıcı tanı amacıyla DNA akım sitometrisi yapıldığında bu tümörlerin diploid histogram verdiği, kromozom paneli uygulandığında da papiller karsinomdan tümüyle farklı olduğu görülmektedir.

Müsinöz tübüler ve işsi hücreli karsinom histopatolojik olarak tip I papiller BHK ile benzerlik gösterebilir. Çok sayıda kromozomu ilgilendiren genetik bozukluklar taşıyan bu tümörlerde papiller BHK'daki 7, 17 ve Y kromozom değişiklikleri görülmemektedir. Berrak hücreli papiller karsinom da aynı nedenle moleküler düzeyde papiller BHK'dan ayrılabilir. Xp11.2 translokasyon karsinomu da morfolojik düzeyde karıştığı papiller BHK'dan tipik kromozom bozuklukları ile ayırd edilebilir. Bu tümörlerde TFE3 proteini immünohistokimyasal yöntemle de gösterilebilir.

2.5.3 Kromofob Böbrek Hücreli Karsinom

Belirgin hücre zarları olan, berrak ama transparan olmayan sitoplazmaya sahip hücrelerden oluşan BHK alt türüdür. Toplayıcı kanalların ‘intercalated’ hücrelerinden köken alan bu tümörler böbreğin epitelyal tümörlerinin %5’ini oluşturur. Kromofob BHK’lerde 1, 2, 6, 10, 13, 17, 21 ve Y kromozom kaybı vardır (Speicher et al. 1994). Onkositom ve onkositozisten ayırıcı tanıda mikro-dizilim (array) yönteminde kromofob karsinomu destekleyen kromozom değişikliklerinin bulunmasıyla sonuca gidilebilir. Diğer türlere göre prognozunun daha iyi olduğu bildirilmiştir (Amin et al. 2002). Moleküler düzeyde p53 mutasyonları (Contractor et al. 1997) ve PTEN geni çevresinde heterozigozite kaybı (LOH) (Sukosd et al. 2001) saptanmıştır.

2.5.4 Sarkomatoid Böbrek Hücreli Karsinom

Böbrek hücreli karsinomun bütün türlerinin farklılaşmamış ortak biçimini temsil etmektedir. Kromofob tipte sarkomatoid böbrek hücreli karsinom 1, 2, 6, 10 ve 17 numaralı kromozomlarda polizomiler gösterebilmektedir. Berrak hücreli sarkomatoid böbrek hücreli karsinom olgularının bazılarında 3p kaybı görülse bile sarkomatoid dönüşüm mekanizmasını harekete geçiren genetik bir değişiklik bilinmemektedir. p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonu ile sarkomatoid morfoloji arasında ilişki olduğunu öne süren çalışmalar vardır (Young et al. 2006). Bu tümörlerin ayırıcı tanısında 3, 7 ve 17. kromozom trizomileri ve 9p21 kayıpları gösteren ürotelyal karsinomlar ile metastatik sarkomlar bulunmaktadır.

2.5.5. Toplayıcı Kanal Karsinomu (Bellini Ductus Kanseri)

Böbreğin malign tümörlerinin %1’den az bir bölümünü oluşturan nadir bir türdür. Patolojik olarak tanısı zordur ve diğer tümörlerin (papiller BHK, böbrek pelvisinin ürotelyal kanseri, metastatik adenokarsinom) ekarte edilmesinden sonra konabilir (Kırkcali et al. 1996). BHK’lere göre yerleşimi daha farklı olan ve daha agresif tümörlerdir. Medullada bulunması nedeni ile yüksek dereceli ürotelyal kanserler ile karışabilir. Az sayıda olgu bulunması nedeni ile sitogenetik özellikleri tam bilinmemektedir. Az sayıda olguda 18 ve 21. kromozom monozomisi ve Y kromozom kaybı bildirilmiştir (Gregori-Romero et al. 1996). 1q, 6p, 13q, 21q kollarında heterozigotluk kaybı (Polascik et al. 1996), 3p kaybı (el-Naggar et al. 1993) saptanmıştır. 8p heterozigotluk kaybının kötü prognoz göstergesi olabileceği bildirilmiştir (Schoenberg et al. 1995).

2.5.6. Diğer Malign Ve Benign Karsinomlar

2.5.6.1 Xp11.2 Translokasyonu İle İlgili Karsinom

Xp11.2 translokasyonu/TFE3 gen füzyonu ile ilişkili *translokasyon karsinomları*, Xp11.2 kromozomu içeren değişik translokasyonlar ile karakterize edilirler ve TFE3 geninin füzyonu ile sonuçlanırlar. Aynı zamanda, diğer füzyonlar gibi PSF ve TFE3 genlerinin füzyonu ile sonuçlanan, ASPL ve TFE3 genlerinin füzyonuna neden olan t(X:1)(p11.2;q21) füzyonu olan t(X: 17)(p11.2;q25) dahil, değişik füzyonlar tanımlanmıştır (Argani et al. 2001; Argani et al. 2002; Argani et al. 2003; Argani et al. 2005). Translokasyon karsinomları esas olarak çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür (Bruder et al. 2004). Ancak translokasyon karsinomları daha ileri yaşlarda da görülebilir (Argani et al. 2007). Histolojik olarak translokasyon karsinomları, eozinofilik sitoplazmaya çok fazla benzeyen berrak hücreleri olan papiller bir yapıya sahiptirler. İmmünoprofil, TFE3 proteini için nükleer immünoaktivite göstermesi ile karakterizedir. İmmünohistokimyasal olarak sadece %50 si sitokeratin ve EMA gibi epitel belirleyiciler ile ortaya konabilir. Erişkinlerde translokasyon karsinomları, genellikle lenf nodüllerinde metastas ile ileri safhada teşhis edilir ve prognozu kötüdür (Moch 2012).

2.5.7 Edinsel Kistik Hastalıkla İlişkili Böbrek Hücreli Karsinom

Edinsel polikistik böbrek hastalığına olan ve uzun süreli dialize giren hastaların yaklaşık yarısında renal hücreli adenom ya da karsinom gelişir. Tümörler küçük, multipl, bilateral ve genellikle konvansiyonel tümörlerden daha düşük bir proliferatif kapasiteye sahiptirler. Metastaz oranı %5-7'dir (Ordenez et al. 2004).

2.5.8 Musinöz Tübüler Ve İğsi Hücreli Karsinom

Musinöz tübüler ve iğsi hücreli kanser, derecesi düşük, prognozu iyi olan bir tümördür. Genomik hibridizasyon ve FISH yöntemleri ile bu tümörde 1, 4, 6, 8, 13 ve 14. kromozomlarda kayıp, 7, 11, 16 ve 17. kromozomlarda kazanım görülmüştür (Eble et al. 2004).

2.5.9 Kalıtsal Böbrek Hücreli Karsinom Sendromları

Böbrek hücreli tümör tiplerinin hemen hemen hepsi sporadik veya kalıtsal olarak ortaya çıkarlar (Linehan et al. 1993). Genellikle hastalarda bilateral veya multipl renal tümörler görülür. Son yıllarda BHK' a dönüşme predispozisyonu olan bazı kalıtsal tümör

sendromları bildirilmiştir. Örneğin Von Hippel-Lindau Sendromu, kalıtsal böbrek hücreli karsinom, kalıtsal leimyomatöz ve böbrek hücreli karsinom, Birt-Hogg-Dube Sendromu gibi. Renal ve ekstrarenal neoplastik mutasyon geçirmiş taşıyıcılarda tümör dokusunun moleküler analizi prediagnostik genlerin tanımlanmasını sağlamıştır. Bu genler VHL, MET, FH, BHD ve HRPT2 dir. Kalıtsal BHK sendromları oldukça nadirdir. VHL hastalığı en sık görülen ailesel böbrek kanseri sendromudur. VHL geninde mutasyon ile VHL kaybı olan berrak hücreli BHK ile ilişkilidir (Neumann et al. 1998). Kalıtsal papiller BHK sendromu olan hastalarda, papiller tip1 histolojisi olan multipl, bilateral papiller BHK'lar vardır. Hastalarda MET pro-onkogene germ line aktive edici mutasyon görülür (Schmidt et al. 1997, Schmidt et al. 1999).

Von Hippel-Lindau Sendromu (VHL)

BHK'lar santral sinir sistemi (genellikle serebellum) ve retinanın hemanjioblastomu, böbrek, karaciğer ve pankreas kistleri, çeşitli lokalizasyonların berrak hücreli karsinomu ve feokromositoma ile karakterize, otozomal dominant bir hastalık olan VHL populasyonun yaklaşık %50 sinde görülür. Bu hastalarda çok sayıda BHK vardır ve bazıları atipik değişiklikler gösteren kistlerle ilişkilidir. Kistler, atipik kistler ve renal tümör benzeri immünohistokimyasal profillere sahiptirler. VHL hastalık geni kromozom 3p25.5 üzerinde tanımlanmıştır ve VHL hastalığı bu gendeki germ line mutasyon sonucu gelişir. BHK'lara eşlik eden belirgin vaskülarizasyon, VHL hastalığına eşlik eden serebellar hemanjioblastomdaki gibi, tümör hücrelerinin hipoksi-indükleyen faktör (HIF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), platelet derived growth faktör (PDGF), transforming growth faktör (TGF- α) ve eritropoietin gibi maddeleri aşırı şekilde üretmeleriyle açıklanabilir (Pantuck et. al. 2003; Ordonez et. al. 2004).

Birt-Hogg-Dube Sendromu

Benign deri tümörleri ile karakterize bir sendromdur. Multipl renal tümörler ve spontan pnömotoraks bu hastalarda sıktır. Tümörler multipl ve bilateral gelişebilir. Onkositom iyi tanımlanmış ve benign olduğu düşünülen bir tümördür. Ayrıca berrak ve eozinofilik hücre popülasyonlarından oluşan adenokarsinomlar diğer histopatolojilerdir. Hastaların yaşı ortalama 50 olup hasta başına düşen ortalama tümör sayısı 5'tir. Metastatik hastalık nadirdir ve tümör çapı 3 cm'yi aştığında gelişir (Eble et. al. 2004)

2.6. Germline Varyantlar Ve Böbrek Hücreli Karsinoma Predispozisyon

BHK'da kalıtsal predispozisyon, seyrek olan yüksek penetranslı varyantlar veya yaygın olan düşük penetranslı polijenik varyantlar ile ortaya çıkar. BHK un sadece az bir kısmı seyrek olan kalıtsal monojenik bozukluk olmasına rağmen (örn.von-Hippel Lindau hastalığı VHL geninde mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar, Birt-Hogg-Dube sendromu (FLCN), kalıtsal leiomyomatöz böbrek hücreli karsinom (FH), kalıtsal papiller BHK (MET), süksinat dehidrojenaz altünite bozuklukları (SDHB, SDHD vs), bu sendromlar hem ailesel hem de sporadik BHK in moleküler patojenezini anlamada kritik öneme sahiptirler (Maher 2011).

Epidemiyolojik çalışmalar ile ilgili bir meta analiz çalışmasına göre, böbrek kanserinde pozitif aile öyküsü, hastalık riskini 2.2 kat artırmaktadır (Clague et al. 2009). Ancak hedefe yönelik gen ile ilgili çalışmalar, yüksek penetranslı kalıtsal BHK genleri için olanlar dahil olmak üzere, bu durumdan sorumlu olan belli bir alleli tanımlamamışken, ilk olarak 'genom wide assosiasyon çalışması' (GWAS) ile, bu özellikte iki bölge gösterilmiştir. Böylece Purdue ve ark. (2011) geniş çaplı genom çalışmasında 2p21 ve 11q13.3 de iki bölgenin BHK'e duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. 11q13.3'deki bölge bilinen bir gen ile eşleştirilmemiştir ve daha önce VHL-ile ilişkili tümör geninde tanımlanmıştır (Zatyka et al. 2001). Son yıllarda yapılan GWAS çalışmalarında, BHK riski ile belirgin olarak ilgisi olan 12p11.23 üzerindeki ITPR2'de iki değişken belirlenmiştir (Wu X et al. 2012).

2.7. Böbrek Hücreli Karsinomda Somatik, Genetik ve Epigenetik Değişiklikler

2.7.1. Sitogenetik Anomaliler ve DNA Kopyalama Sayısındaki Bozukluklar

BHK'da, 3. kromozomda olan değişikliklerin tekrarlandığı ve kalıtsal böbrek karsinomu olan iki ailede 3p kromozomunu içeren yapısal translokasyon olduğu bildirildikten sonra Zbar ve ark. (1987) sporadik BHK da sıklıkla 3. kromozomda alel kaybı olduğunu bildirmiştir. Daha sonra yapılan sitogenetik ve moleküler çalışmalar, 3p alel kaybının anahtar bölgesinin 3p13'ün distalinde olduğunu (Kovacs et al. 1988) ve von Hippel-Lindau hastalığındaki genin 3p25 ile eşleştirildiğini (Seizinger et al. 1988) ortaya koymuştur. Sporadik BHK da 3p kromozom kaybından başka tanımlanan erken sitogenetik anomaliler, 4.kromozom ve sex kromozomlarının kaybı ile trizomi 7'dir (Kovacs et al. 1988; Limon et al. 1990). BHK da 3p alel kaybının detaylı olarak eşleştirilmesinde, alel kaybı ile ilgili kritik bir bölge bildirilmemiştir. Böylece 3p12-p14, 3p21 ve 3p25'de tümör supresör genleri için kanıt bulunmuştur (Lubinski et al 1994;

Sanchez et al. 1994; Wilke et al. 1994; van den Berg et al. 1997). Sporadik berrak hücreli BHT de sıklıkla somatik VHL gen mutasyonlarının bulunması, VHL TSG'yi anahtar 3p BHK TSG olarak göstermesine rağmen daha merkezde olan diğer 3p TSG'lerin de rol oynadığı gösterilmiştir (van der Berg et al.1993; Clifford et al.1998). BHK'da kromozom 3p'de kayıp olduğu gösterildikten sonra, BHK'da sitogenetik değişiklikler ile histopatolojik alt gruplar arasında belirgin bir ilişki olduğu bildirilmiştir; böylece kromozom 3p kaybı berrak hücreli BHK (Hughson et al. 1993), kromozom 7 trizomisi papiller BHK ve kromozom polizomisi kromofob BHK ile ilişkilendirilirken onkositomalar genellikle sitogenetik anormali göstermemiştir (Hughson et al. 1993; Herbers et al. 1997; van den Berg et al. 1997).

Papiller BHK'un nadir olarak görülen bir alt tipinde belirgin olarak somatik bir sitogenetik anomali vardır. Çocuklarda veya genç erişkinde tipik olarak Xp11.2 translokasyonu görülür. Translokasyonun kırılma noktası Xp11.2'de TFE3 genini içerir ve translokasyon TFE3 ile PRCC (papiller böbrek hücreli karsinom (translokasyon-bağlantılı) (1q21), ASPSCR1 (ASPL,alveolar soft part sarcoma chromosome region, candidate 1) (17q25), SFPQ (PSF,splicing factor prolin/glutamat-rich) (1p34), CLTC (clathrin heavy chain) (17q23) dahil değişik partnerler arasında bir füzyon geninin oluşması ile bağlantılıdır. NONO (non-POU domain containing octamer-binding) (Xq12), Xp11.2 translokasyonu pozitif olan kanserler bütün BHK'ların %1'den azını oluştururlar ve agresif yapıdadırlar. Translokasyon, füzyon proteininin çok fazla eksprese edilmesine neden olur ve Xp11.2 translokasyonu nadir olmakla birlikte TFE3 ekspresyonu daha çok görülür ve TFE3 amplifikasyonu sonucu ortaya çıkabilir (Macher-Goeppinger et al. 2011).

Yüksek çözünürlüklü mikroarraylerin bulunması, BHK alt gruplarında kopya sayısındaki anomalilerini gösterme kapasitesini oldukça artırmıştır. Beroukhim ve ark. (2009) berrak hücreli BHK (hem VHL bağlantılı hem de sporadik)'u analiz etmek amacıyla, 250K SNP arrayleri kullanarak kopya-sayısı değişikliği rastgele olmayan 14 bölge tanımlamışlardır: 7 amplifikasyon bölgesi (1q, 2q,5q, 7q, 8q, 12p,ve 20q) ve 7 delesyon bölgesi (1p,3p, 4q,6q, 8p, 9p, ve14q). Kromozom 3p ve 9p delesyon bölgesinde CDKN2A /CDKN2B ve VHL ile 8q amplifikasyon bölgesinde MYC gibi hedefe yönelik spesifik genler değişik bölgelerde gösterilmiş ve vurgulanmıştır. Dalglish ve ark. (2010) Affymetrix 6.0 SNP arraylerini kullanarak yaptığı çalışmada 3p,4, 6q, 8p, 9p,ve 14q kromozomlarında tekrarlayan kayıplar ve 1q, 2, 5p, 7 ve 12 kromozomlarında kazanım olduğunu ve en sık görülen değişikliklerin 3p (olguların %80>) 6q, 8p ve 14q (olguların

%30>) kromozomlarında kayıp ve 5q kromozomunda kazanım (olguların ~%50) olduğunu göstermiştir.

Papiller BHK ların, 100k SNP arrayleri kullanarak yapılan mikroarray analizinde 1, 5p, 6p, 9, 11q, 14q, 19p 21q ve 22q kromozomlarında kayıp ve 2, 7, 12 ve 17q kromozomlarında kopyalama sayısında artış gösterilmiştir (Matsuda et al .2008). Bunun yanı sıra Tip 1 ve Tip 2 papiller BHK'da kopya sayısı da farklı bulunmuştur: Tip 1 papiller BHK'da 3 ve 7 kromozomlarda daha fazla kazanım ve 21q kromozomunda daha fazla kayıp görülmüştür; daha kötü prognozu olan Tip 2 de, 8q kromozomunda daha fazla kazanım ve 6p, 9q ve 13q kromozomunda daha fazla kayıp saptanmıştır (Matsuda et al. 2008).

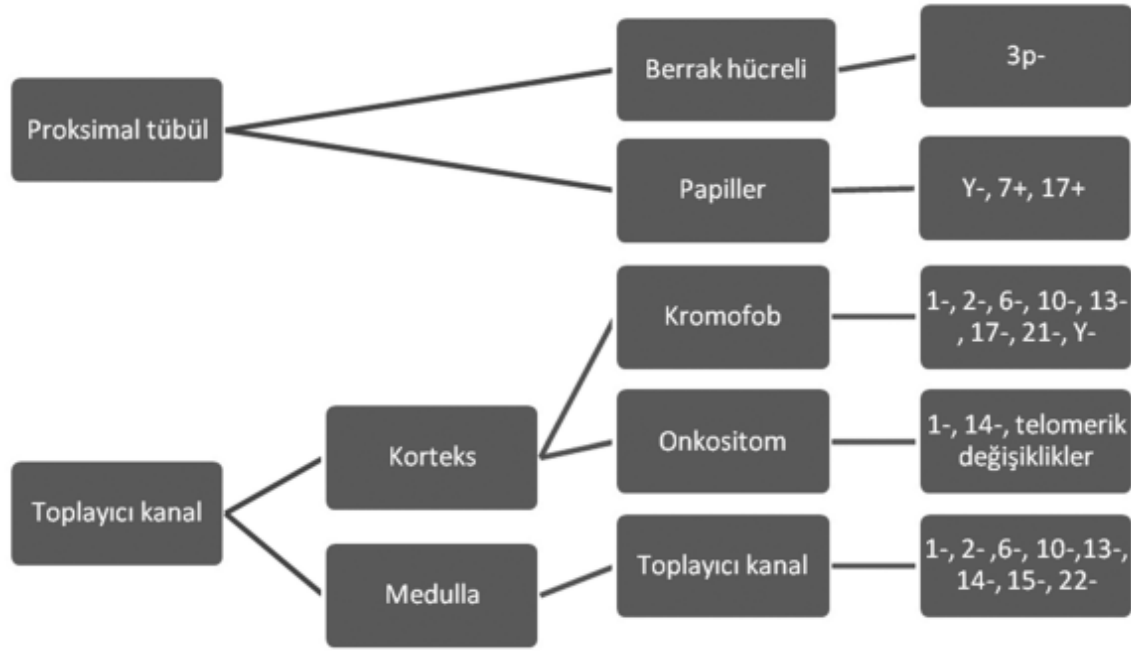
Kromofob BHK ve onkositomaların analizi 250k SNP arrayleri kullanılarak yapılmıştır (Yusenko et al. 2009). Kromofob BHK larda multipl anomaliler görülmüştür (genellikle 1, 2 ve 10. kromozomlarda, fakat aynı zamanda 3, 5, 6, 9, 13, 17 ve 21. kromozomlarda kayıp). Az sayıda tümörde 1p22, 2q22.3-q23.2, 10q11.23-q22.3, 2q13 ve 21q21.3-q22.11 kromozomları dahil değişik bölgelerde homozigot kayıp görülmüştür. Onkositomalarda, olguların üçte birinde 1. kromozom tamamen kaybolmasına rağmen, kopya sayısında değişiklik çok daha az görülür.

Az sayıda çalışmada, ailesel BHK tiplerinde kopyalama sayısında anomali olduğu gösterilmiştir. VHL proteini pozitif olan kişilerde 250K SNP arrayleri kullanılarak yapılan BHK analizinde, beklendiği gibi en sık görülen değişiklik 3p kaybı olup bunu 5q kazanımı izlemiştir (Beroukhim et al. 2009; Shuib et al. 2011). VHL proteini pozitif olan hastalarda, BHK'ların çoğu presemptomatik olarak saptanır ve çapı ~3cm olduğu zaman alınmasına rağmen sporadik BHK ların sadece çok az bir kısmı 3 cm'den küçük olunca saptanabilir. VHL la bağlı olarak ortaya çıkan BHK, sporadik BHK'a göre daha küçüktür ve kopyalama sayısında daha az anomaliteler görülür. Ancak genellikle VHL'a bağlı olarak ortaya çıkan berrak hücreli BHK'da, kopyalama sayısında görülen değişikliklerin çoğu VHL inaktivasyonu olan sporadik berreak hücreli BHK'da da görülür (Shuib et al. 2011). Bunun tersine, kalıtsal germline FH mutasyonu ile ilişkili leiomyomatöz BHK sendromu olan hastaların kopya sayısı incelendiğinde, histopatolojik olarak aynı alt gruptaki sporadik BHK tümörleri ile karşılaştırıldığında çok daha farklı bir kopyalama sayısı profili görülmüştür (13, 14, 18,ve X kromozomlarında kayıp ve 2,7 ve 17 kromozomlarda kazanım) (Koski et al. 2009).

Böbrek karsinomlarının moleküler genetik tanısında kullanılabilen özellikleri Çizelge 2.6. da özetlenmiştir. Şekil 2.2. de ise böbrek hücreli karsinomlarda hücre kökeni, tümör alt tipi ve genetik değişiklikler arasındaki ilişki özetlenmiştir.

Çizelge 2.6. Böbrek epitelyal tümörlerinde genetik değişiklikler (Cheng L et al. 2009).

Tümör tipi	Kromozom	Gen	Mekanizma	Diğer genetik değişiklikler
Berrak hücreli böbrek hücreli karsinom	3p14:2 3p21 3p25	FHIT RASSF1A VHL	Delesyon, mutasyon, metilasyon	+5q22, -6q, -8p12, -9p21, -9q22, -10q, -14q
Papiller böbrek hücreli karsinom	7 17 7q31.1 7q31 Y	? FRA7G c-MET	Trizomi Trizomi Kazanç Kazanç Kayıp	+3q, +8, -9p21, +12, -14q, +16, +17q21 ve +20
Kromofob böbrek hücreli karsinom	1, 2, 6, 10, 13, 17, 21, Y	?	Multipl kromozom kayıpları	-5q22, -8p, -9p23, -18q2
Onkositom	1, 14 11q13	?	Kayıp Translokasyon	-1p, -8p, -11q13, 14q, -19q, -21, -X/Y, der(13)t(13:16)(p11; p11), -1q32, -6p, -8p, -9p, -13q -19q32, -21q
Toplayıcı kanal Karsinomu	1, 2, 6, 10, 13q, 13, 14, 15,22	?	Delesyon	-1q32, -6p, -8p, -9p, -13q, -19q32, -21q
Xp11.2 Translokasyon Karsinomu	1p34 1q21 17q23 17q25 3q23 Xq12	PSF-TFE3 PRCC-TFE3 CLTC-TFE3 ASPL-TFE3 ? NonO-TFE3	t(X;1)(p11.2;p34) t(X;1)(p11.2;p21) t(X;17)(p11.2;q23) t(X;17)(p11.2;q25) t(X;3)(p11;q23) inv(X)(p11.2;q12)	
Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom	1, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 18, 22	?	Multipl kromozom kayıpları	-8p, -9p, -11q, +12q, +16q, +17, +20q
Metanefrik Adenom	2p13 2p	?	Delesyon Kısmi monozomi	inv(9)(p12q13), t(1;22)(q22;q13), t(15;16)(q21;p13)



Şekil 2.2. Böbrek hücreli karsinomda hücre kökeni, tümör alt tipi ve genetik değişiklikler ilişkisi (Yıldız 2009).

2.8. Somatik Mutasyonlar

Berrak hücreli BHK’da sıklıkla 3p kromozom kaybının olması, VHL geninin 3p25 ile eşleştirilmesi ve VHL hastalığı olan kişilerde sporadik vakalarda BHK’un görülme yaşının istatistiksel analizinde çarpıcı olan bir ve iki tümöröenez modeli (retinoblastoma için tanımlandığı gibi) ile karşılaştırılabilir olmasının gözlenmesi (Zbar et al. 1987; Seizinger et al .1988; Maher et al. 1990), VHL tümör supresör geninin tanımlanmasından sonra (Latif et al. 1993), sporadik berrak hücreli BHK’da VHL’nin somatik inaktivasyonunun sıklıkla görüldüğünü ortaya koymuştur (Foster et al. 1994; Gnarra et al. 1994). Daha sonra berrak hücreli BHK da geniş repertuarlı somatik VHL mutasyonları tanımlanmış ve mutasyonları saptama metodolojisindeki değişiklikler ile berrak hücreli BHK’da bildirilen VHL mutasyon sıklığının ~%75 arttığı gösterilmiştir (~%85’de kayıp/mutasyon/promotor metilasyonu yolu ile biallelik inaktivasyon vardır).

BHK’da yapılan mutasyon analizi çalışmalarına göre somatik HIF2A mutasyonu yoktur ancak bazı tümör alt gruplarında HIF1A mutasyonu ve delesyon fonksiyon kaybı bulunmaktadır (Morris MR et al2009; Shen C et al2011). Bu bulgu HIF1 ve HIF2’nin renal

onkojenez üzerine zıt etki gösterdiğinin genetik kanıtıdır ve berrak hücreli BHK da HIF1A'nın, 14q kromozom delesyonunda hedef bölge olduğunun gösterir.

VHL nin tersine, sporadik BHK da kalıtsal olarak geçen diğer BHK genlerinin sıklıkla mutasyona uğradığı bildirilmemiştir. SDHB, FH ve FLCN nin her birinde somatik mutasyon sıklığı %2'den azdır. BHK ile ilişkili, konstitüsyonel kromozomal translokasyon ile bozulmuş, kalıtsal olarak geçmeye aday olan BHK genleri (örn.NORE1A, LSAMP, FBXW7)'nin de nadiren mutasyona uğradığı bildirilmiştir ve epigenetik olarak inaktive olabilirler (Chen et al. 2003; Zhao et al. 2007). MET protoonkogende germline aktivasyona neden olan mutasyonlar, kalıtsal tip1 papiller BHK'da nadir olarak bozukluğa neden olurlar ve somatik MET mutasyonları sporadik papiller BHK'un %2'den azında saptanmıştır (Schmidt et al .1997). 1q kromozomu ile eşleştirilen HRPT2 genindeki germline mutasyonlar; paratiroid adenomlar, çene kemiğinin sertleşen fibromaları ve renal tümörlere (örn.papiller BHK ve Wilm tümörleri) duyarlılık ile karakterize edilen ve otozomal olarak dominant bir şekilde kalıtsal olarak geçen, kalıtsal hiperparatiroidizm-çene tümörleri (HPT-JT) sendromuna neden olurlar. Zhao ve ark. (2007) sporadik böbrek tümörlerinde sıklıkla HPRT2 allel kaybı olduğunu, ancak somatik mutasyonların nadir olduğunu (tümörlerin %2 <) bildirmişlerdir. Cowden ve Cowden-benzeri hastalığı olan kişilerde BHK riski, germline KILLIN metilasyonu olan hastalarda germline PTEN mutasyonu olanlardan daha yüksektir (PTEN ve KILLIN'in transkripsiyon noktaları aynıdır ancak zıt yönlerde transkripsiyona uğrarlar). PTEN, P13K/AKT/mTOR yolağını negatif yönde regüle eder.

Sporadik berrak hücreli BHK'da (VHL'a ilaveten) sıklıkla mutasyona uğrayan genleri tanımlamak amacıyla Sanger Enstitüsünde 2 adet geniş çaplı araştırma yapılmıştır. İlk çalışmada, en azından 101 berrak hücreli BHK'da 3500'den fazla sorumlu gen bulunmuştur. Sıklıkla mutasyona uğrayan daha fazla gen tanımlanmamasına rağmen, araştırılan BHK olgularının %3'ünde kromatin modifikasyonunda rol oynayan üç genin tamamlanmamış mutasyona uğradığı bildirilmiştir: histon 3 lizin demetilazları olan UTX/KDM6A ve JARID1C/KDM5C ve H3 lizin metilazı olan SETD2 (Dalgiesh ve ark. 2010). İkinci çalışmada (Varela et al. 2011) 7 adet berrak hücreli BHK'da görülen şaşırtıcı sonuçlardan sonra 200'den fazla tümörde "potansiyel sorumlular" aranmıştır. Bu çalışmada majör bulgu, SW1/SNF kromatin remodelling kompleksi geni olan PBRM1 nin berrak hücreli BHK'da olguların %41 de tamamlanmamış mutasyon göstermesidir. PBRM1 (ve SETD2), berrak hücreli BHK da sıklıkla allel kaybı olan ve aynı zamanda RASSF1A TSG içeren bir bölge olan 3p21 kromozomu ile eşleştirilir. UTX, BHK'a

ilaveten multipl myelom, kronik myelomonositik lösemi, özofagus ve safra kesesi karsinomlarında da tümör supresör geni olarak bilinmektedir (van Haafte et al. 2009; Gui et al. 2011; Jankowska et al. 2011). UTX/KDM6A, gen-inaktivasyonu yapan H3K27 dimetil ve trimetil bölgelerini yok eder ki bu bölge gen ekspresyonu yapar ve/veya devam etmesini sağlar. UTX/KDM6A'nın bildirilen hedef noktaları, retinoblastoma tümör supresyon yolağıdır (Tsai et al. 2010). JARID1C/KDM5C deki germline mutasyonlar X-kromozomuna bağlı mental retardasyona neden olur (Jensen et al. 2005). SETD2, 3p21 kromozomu ile eşleştirilir ve gen üretimi histon 3 ün lizin 36 trimetilasyonlarının hepsinden sorumludur ve BHK'daki SETD2 mutasyonları kromatin konfigürasyonunda değişiklik ve gen ekspresyonunda bozukluk ile sonuçlanır (Duns et al. 2010).

Berrak hücreli BHK'ların çoğunda VHL inaktivasyonu olmasına rağmen, VHL-wild tipi berrak hücreli BHK'ların patojenezi ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır. Dalgliesh ve ark. (2010), NF2 tümör supresör geninde mutasyon olan az sayıda berrak hücreli BHK alt grubu bildirmişlerdir (NF2'de germline mutasyon akustik schwannoma ve meningiomaya predispozisyon yaratır) fakat ilginç olarak NF2 mutasyonu olan bütün berrak hücreli BHK lar VHL wild-tiptedir.

2.9. Böbrek Hücreli Karsinomun Epigenetiği

Anormal DNA metilasyonu ve histon protein modifikasyonu gibi epigenetik değişiklikler kanser olgularında genellikle görülür ve tümörögenizde önemli bir faktör olarak kabul edilirler. CpG adasının metilasyonu (ve ilişkili histon modifikasyonu ve kromatin remodelling) transkripsiyonal gen susturulması ile sonuçlandığından, TSG inaktivasyonunda en önemli mekanizma tümör supresör geninin, özellikle promotor bölgelerindeki CpG adalarının tekrar metilasyonudur (Kulis et al. 2010). TSG'nin epigenetik olarak inaktive olmasının fonksiyonel etkisi, inaktive edici bir mutasyona benzemesine rağmen önemli bir ayrıcalık farklı mutasyonlar, DNA metilasyonu ve diğer epigenetik değişikliklerin geri dönüşümlü olmasıdır (Issa et al. 2009). Son yıllarda yapılan ve PBRM1, UTX, SETD2 ve JARID1C gibi genlerde mutasyon olan geniş çaplı çalışmalar, BHK'un patojenezinde epigenetik faktörlerin rol oynadığını göstermiştir. Ancak bu araştırmalar, BHK'da tümör supresör geninin promotor metilasyon çalışmaları ile güncelliğini kaybetmiştir. Dolayısı ile VHL, promotor bölgenin metilasyonu ile epigenetik olarak inaktive edilen insan tümör supresör genlerinin ilklerinden biridir (Herman et al. 1994). Sporadik berrak hücreli BHK'da, gen içi somatik mutasyonlar VHL'nin inaktive olmasında en önemli neden olmasına rağmen, genlerin epigenetik olarak

susturulması da önemli bir nedendir (olguların ~%20'si). Daha sonra, BHK'da sıklıkla allel kaybı olan 3p21 bölgesi ile eşleştirilen RASSF1A geninin, sporadik berrak hücreli ve papiller BHK da olguların %30-50'sinde metilasyona uğradığı bildirilmiştir (Morrissey et al. 200; Dreijerink et al. 2001). BHK da RASSF1A allel kaybı ve metilasyon sonucu inaktive olur, ve VHL'den farklı olarak gen içi somatik RASSF1 mutasyonu nadir görülür. Promoter bölgenin metilasyonu sonucu önemli miktarda inaktive edilen BHK TSG'nin RASSF1A olduğu bilindikten sonra, BHK'da epigenetik olarak inaktive edilen bölgenin tanımlanması ilgi odağı olmuştur. BHK olgularının %15'inden fazlasında mutasyona uğrayan tek genin VHL olduğunun bildirildiği 2010 yılında, ayrıca olguların %20'sinden fazlasında metilasyon/mutasyon oranı eşit olan 43 gen bildirilmiştir (Morris et al. 2010). Bu araştırmadan sonra, daha sık olarak metilasyona uğrayan aday BHK TSG'ler tanımlanmış ve kanser genom projeleri olan TCGA (<http://cancergenome.nih.gov/>) ve CAGEKID (<http://www.icgc.org/icgc/cgp/65/812/817>), BHK'un hem mutasyon hem de metilasyon durumunu incelemek amacıyla başlatılmıştır. Böylece yakın zamanda çok miktarda genomik ve epigenomik veri elde edilecektir. Bu veriler özellikle değerli olacaktır çünkü BHK'da olguların çoğunda sadece tek bir çalışma ile metilasyona uğradığı farz edilen 100'den az tümör örneği bulunmaktadır. BHK'da sıklıkla metilasyona uğrayan (tümörlerin en azından 30'da) aday tümör supresör gen örnekleri Çizelge 2.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.7. BHK'da (tümörlerin en azından %30'nda) sıklıkla metilasyona uğrayan aday tümör supresör gen örnekleri (Maher 2011, Morris ve Maher 2010).

Kromozom Lokasyonu	Gen Sembolü	Gen	BHK metilasyon ort.(%)	İncelenen tümör sayısı
1q25.2-25.3	PTGS2	Prostaglandin–endoperoxide synthase	95	65
2q23	RPRM	Reprimo	44	52
3p14.2	FHIT	Fragile histidine triad	53	87
3p21.1	FAM107A/TU3A	Family with sequence similarity 107	39	61
3p21.3	RASSF1A	RAS association domain family	51	735
4p14	UCHL1	Ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1	38	32
4q25	DKK2	Dickkopf 2	58	52

4q31.3	SFRP2	Secreted frizzled related protein 2	53	62
5q31	PDLIM4	Pdz and lim domain protein 4	43	41
7p14-12	IGFBP1	Insulin-like growth factor binding protein 1	30	30
7p14-13	SFRP4	Secreted frizzled related protein 4	53	62
7q21.1	MDRI	Multiple drug resistance gene I	86	65
8p12-11.1	SFRP1	Secreted frizzled related protein 1	47	234
8p22-21.3	DLC1	Deleted in liver cancer 1	35	34
8q24	COL14A1	Collagen 14A1	44	41
9p21	CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	33	299
9q22	COL15A1	Collagen 15A1	53	65
9q34.1	DAPK1	Death-associated protein kinase	35	219
10q11.2	DKK1	Dickkopf 1	44	62
10q24.1	SFRP5	Secreted frizzled related protein 5	57	62
11p15.2	DKK3	Dickkopf 3	50	62
11q13	CST6	Cystatin E/M	46	61
12q14.3	WIF1	Wnt inhibitory factor	73	62
12q23	APAF1	Apoptotic protease activating factor 1	98	170
14q23.2	ESR2	Estrogen receptor 2	53	65
15q24	LOXL 1	Lysyl oxidase-like 1	35	23
15q25	BNC1	Basonuclin 1	46	59
16q22.1	CDH1	E-cadherin	35	229
17p13.2	CXCL 16	Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	42	62
17q21	JUP	Junction plakoglobin	91	54
17q21.2	HOXB13	Homeobox family B 13	30	50
17q21.2	KTN19	Keratin 19	38	66
17q21.31-22	COL1A1	Collagen	57	30
18p11.3	DAL-1/4.1B	Differentially expressed in adenocarcinoma of the lung	45	55
19q13.2	SPINT2	Serine peptidase inhibitor, Kunitz type 2	38	118
21q11.2-21.1	BTG3	B-cell translocation gene 3	70	20
22q12.1-13.2	TIMP3	Tissue inhibitor of metalloproteases 3	51	289

2.9.1. 3p TSGs Kromozomu

Sıklıkla mutasyona uğrayan VHL ve PBRM1, ve DNA metilasyonu ile epigenetik olarak geni susturulan RASSF1A ve VHL'ye ilaveten TSG adayı TU3A (3p21.1'de lokalize)'nin berrak hücreli BHK da olguların % 42'de ve pBHK olguların %25'inde metilasyona uğradığı (Awakura et al .2008) ve DLEC1 (3p22)' in primer BHK'da olguların ~%30'da metilasyona uğradığı (Zhang et al. 2010) bildirilmiştir. BHK'da rol oynayan metilize olmuş diğer bir TSGs adayı, BHK'da olguların ~%50 sinde promoter bölge metilasyonunun gerçekleştiği 3p14 'de, genellikle fragil olan FRA3B bölgesi bulunan FHIT genidir (Kvasha et al. 2008).

2.9.2. Kalıtsal Olarak Geçen BHK Genlerinin Epigenetik Olarak Susturulması

BHK'da, VHL'den farklı olarak, major sendroma neden olan ve kalıtsal olarak geçen BHK genleri (FH, FLCN, MET, SDHB) genellikle epigenetik olarak inaktive edilmezler. Ancak BHK olgularının %30-40'ında da bir MET inhibitörü olan SPINT2/HA12'nin metilasyona uğradığı bildirilmiştir (Morris et al. 2005). BHK'a yatkınlığı olanlarda konstitüsyonel translokasyon sonucu, RASSF grubundan olan NORE1A (RASSF5) geninin ve LSAMP1 geninin bozulduğu bildirildikten sonra, sporadik BHK'da her iki genin de epigenetik olarak inaktive edildiği gösterilmiştir (Chen et al. 2003).

2.10. Gen Ekspresyon Çalışmaları Ve Emerging Belirleyiciler

Sporadik BHK'ların çoğunun patojenezinde VHL'nin inaktive olması, sporadik berrak hücreli BHK un kaderinin hedef genler olan HIF-1 ve HIF-2'nin anormal olarak eksprese edilme şekline bağlı oluşu anlamına gelmektedir. Hipoksi yanıt yolağı anjiogenez, metabolizmayı yeniden düzenleme, hücre ölümü ve proliferasyonu, invazyon ve metastaz, radyasyon direnci ve genetik instabilite ve kök-hücre durumunu kontrol eden binlerce gen (örn.VEGF, CCND1, BNIP3, TGF α , CA9) içerir (Semenza 2011). İnsanlardaki kanserlerin çoğunda intratümoral hipoksi nedeniyle fokal HIF-1/HIF-2 ekspresyon bölgesi bulunmasına rağmen, VHL-mutasyonu olan berrak hücreli BHK'da yaygın bir ekspresyon vardır. BHK'da NF- κ B ve Wnt/ β -katenin yolağı genellikle aktive olur ve bu durum VHL inaktivasyonuna bağlıdır (Choi et al. 2010; Morais et al. 2011). Gordan ve ark. (2008) berrak hücreli BHK'larını VHL inaktivasyonunun olup olmamasına göre ve HIF-1 α ve HIF-2 α nin bulunmasına veya HIF-2 α over

ekspresyonunun olmasına göre alt gruplara ayırmışlardır. VHL inaktivasyonu olmayan tümörlerde ve hem HIF-1 α hem de HIF-2 α ekspresyonu yapan ve VHL inaktivasyonu olan tümörlerde AKT/mTOR ve ERK/MAPK sinyalizasyonunun (ikincisi üzerinden olan daha anjiojeniktir) arttığını bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra VHL inaktivasyonu olan ve sadece HIF-2 α over ekspresyonu olan berrak hücreli BHK da, proliferasyonun ve replikasyon stresine karşı direncin artmasına bağlı olarak c-Myc aktivitesi artar. Berrak hücreli BHK' da yapılan bu sınıflandırmanın tedavide esas oluşturması önerilmektedir.

Berrak hücreli BHK ile papiller BHK'da gen ekspresyon profilleri karşılaştırıldığında, gen ekspresyonunun ilk grupta VHL inaktivasyonuna sekonder olarak hipoksiye yanıt yolağının deregülasyonu, BHK un her iki alt grubunda da AKT yolağının aktivasyonu ve ileri dereceli papiller BHK da MYC yolağının belirgin olarak aktivasyonu ile uyumlu olarak gen ekspresyonlarının farklı olduğunu ileri sürülmüştür (Furge et al. 2007). İleri dereceli papiller BHK'da MYC ekspresyonunun artması , MYC'nin amplifike olması ve kopyalama sayısındaki değişikliklerin entegre edilmiş geniş çaplı gen analizleri ile ilişkilidir. Sporadik ve VHL-hastalığı ile ilişkili berrak hücreli BHK'da gen ekspresyon profili, MYC'nin 8q amplifikasyonu ile uyumlu olarak, overekspresyona uğradığını göstermektedir.

Çizelge 2.8 . Böbrek tümörlerinde sık görülen genetik bulgular (Yörükoğlu 2005).

Patolojik Tür	Sitogenetik Özellikler	Köken
Berrak Hücreli BHK	-3p VHL gen mutasyonu DNA metilasyonu -9p, -14q	Proksimal Nefron
Papiller BHK	+7, +17 -Y +12, +16, +20	Proksimal Nefron(?)
Kromofob BHK	-1, -2, -6, -10, -13, -17, Y	Toplayıcı Duktusun Kortikal İnterkaleri
Toplayıcı Duktus Kanseri	LOH 1q, 6p, 8p, 13q, 21q -1, -6, -14, -15, -22, -8p, -13q	Medüller Toplayıcı Duktus
Böbrek Medüller Kanseri	-11	(?)
Müsinöz Tübüler İğsi Hücreli Kanser	1, -4, -6, -8, -13, -14 +7, +11, +16, +17	(?)
Papiller Adenom	-Y, +7, +17, +12, +16, +20	Proksimal Nefron
Onkositom	-Y, -1, t(11q13)	Toplayıcı Duktusun Kortikal İnterkaler Hücreleri
Metanefrik adenom	Normal, -2p	(?)

2.10.1. Karbonik Anhidraz IX

Karbonik Anhidraz IX (CA IX), G250 veya MN olarak da isimlendirilir ve tümör hücrelerindeki hipoksi esnasında hücrel pH'nin düzenlenmesinde görev alır. CA IX, BHK'lerde normal dokuya göre daha fazla eksprese edilmektedir ve bu ekspresyon daha iyi prognozun göstergesidir (Bui et al.2003). Ekspresyonu yüksek olan olguların, interleukin-2 tedavisine de daha iyi cevap verdiği bildirilmiştir (Atkins et al.2005). CA IX, normal böbrekte eksprese edilmez. Tümörlerde CA IX ekspresyonu, HIF-1 α aracılığıyla hipoksi tarafından yönetilmektedir. VHL tümör supresor geninde fonksiyon kaybında HIF-1 α artışına ve CA IX ekspresyonuna neden olmaktadır (Leppert et al.2005). Hipoksi aracılı bu yolda VEGF, PTEN gibi moleküler proteinler de görev almaktadır. CA IX ve VHL'nin hipoksi aracılı yolaktaki ilişkisi nedeni ile CA IX ekspresyonu daha da önem kazanmaktadır.

CA9, CA12 ve PTEN, hipoksi yolağının kritik elemanlarıdır ve tümörlerin oksijenden fakir ortama uyumunu sağlarlar. CA9 ve CA12 overekspresyonu, VHL mutasyonunun doğrudan bir sonucudur ve berrak hücreli BHK'lerin çoğunda gözlenmiştir. CA9 ekspresyonunun azalması prognozun kötü olacağını gösterir (Maxwell et al.1999). PTEN ise hücre göçü, proliferasyonu ve apoptozda görevli bir fosfatazdır. BHK'de ender görülmesine rağmen PTEN delesyonu varsa prognoz kötüdür (Velickovic et al.2002). Hipoksi aracılı yolağın tüm bu elemanlarını araştıran bir çalışmada, BHK'lerde Ki-67, p53, gelsolin, CA9, CA12, PTEN, EpCAM ve Vimentin ekspresyonu değerlendirilmiş, bu proteinlerin ekspresyonuna dayalı bir model oluşturularak, yaşam süresi ve metastazı belirleyen nomogramlar oluşturulmuştur (Kim et al.2004).

Böbrek tümörlerinde genetik değişiklikler türe özgüdür ve primer veya metastatik böbrek tümörlerinin moleküler tanısında kullanılabilirler. Böbrek hücreli kanserlerde sitogenetik özellikler aynı zamanda prognostik bilgi de verebilmektedir. Sitogenetik özelliklerin daha iyi tanınması, toplayıcı duktus kanseri gibi ayırıcı tanısı zor olan tümörlerin doğru olarak tanınmasını da sağlayacaktır.

2.10.2. VHL Proteininin Böbrek Kanserindeki Fonksiyonunun Anlaşılması

VHL proteini görülen hastaların %24-45'inde berrak hücreli BHK gelişir. VHL geninin germline mutasyonlarının inaktive edilmesi, bu sendromun genetik önemini gösterir ve VHL proteini bulunan hastaların hemem hemen hepsinde bu proteinin mutasyonu vardır. Sporodik berrak hücreli BHK (sporodik böbrek kanserlerinin en sık görüleni) olgularının %70'inde VHL gen delesyonu, mutasyonu veya promotor hipermetilasyon yoluyla inaktivasyonu vardır. Son yıllarda VHL proteinin (pVHL) fonksiyonu araştırılmış ve hücre siklusunun kontrolünde ve gen regülasyonunda rol oynadığı ve fonksiyon gösterebilmesi için transkripsiyona bağlı nükleer-sitoplazmik geçişlerin gerektiği bildirilmiştir. Biyolojik olarak aktif olan iki adet VHL protein izoformu vardır: pVHL(30) ve pVHL(19). pVHL izoformlarının dağılımı renal tümörlerin nükleer ve sitoplazmik kompartmanlarda farklıdır ve subselüler pVHL trafiğindeki değişiklikler berrak hücreli BHK in biyolojik yapısında önemli rol oynar (Moch et al. 2000; Moch 2013).

Berrak hücreli BHK, nörovaskülarizasyonun çok fazla olması ile karakterizedir ve genellikle tümör hücrelerinin etrafında, tümörün neoplastik hücreler tarafından anjiyenez faktörlerini ayrntılarıyla gösteren göze çarpan bir damar ağı bulunmaktadır. Berrak hücreli BHK'da vaskülarizasyonunun fazla olmasının VEGF ekspresyonu ile ilgili olduğu gösterilmiştir ki bu da, VHL proteininin inaktive olması sonucu, bu büyüme faktörünün berrak hücreli BHK tümörlerinin vasküler biyolojisinde rol oynadığını göstermektedir (Schrami et al. 2002). VEGF in vitro endotelial hücre proliferasyonunu stimüle eder ve in vivo anjiyogenik aktivite gösterir.

BHK'da gen ekspresyon çalışması ilk olarak 2001 yılında Young ve ark. tarafından yapılmıştır. Berrak hücreli BHK, kromofob BHK'dan vimentin eksprese edilmesi ile ayırd edilirken galektin-3 ekspresyonu onkositoma/CBHK da daha önemlidir. BHK'da array teknolojisi kullanılarak yapılan bir çalışmada) farklı olarak eksprese edilen birçok gen bulunmuştur ki bunlar günümüzde oldukça önemlidir. Bunun bir örneği, yaşam süresinin kısa olduğunu gösteren stanniokalsin-2 (STC2)'dir.

Berrak hücreli BHK lerin çoğunda VHL tümör supresör geni epigenetik olarak susturulmuş veya mutasyona uğramıştır. VHL protein ekspresyonunun azalması HIF- α nın stabilize olmasına ve daha sonra da proliferasyon, anjiyogenez ve hücre motilitesi gibi

tümör promote edici olaylarda rol oynayan HIF- α aday genlerinin transkripsiyonuna neden olur (Kaelin et al. 2002).

2.10.3. Onkogenler

Hücre siklusunun kontrolünde birçok onkogen ve antionkogen (tümör supresor geni) rol almaktadır. Hücre siklusu üzerinde negatif düzenleyici etkisi olan p53 gen ürünü, hücre siklusunun G1 fazında bloke olmasına neden olarak DNA onarımı veya apoptozisin gerçekleşmesine zaman sağlamış olur. Çoğu kanserde p53 mutasyonu kötü prognoz ile ilişkili iken, BHK'da prognoz ile veya evre, derece, tümör çapı ve histolojik tür ile ilişkisi gösterilememiştir (Bot et al. 1994). Apoptozisin inhibisyonunda görevli bcl-2 onkogeninin ekspresyonunun artması, tümör hücrelerinin ömrünün uzamasına neden olur. BHK'de bcl-2 ekspresyonu ile derece veya prognoz arasında ilişki bulunamamıştır (Paraf et al. 1995). Ras onkogeninin bir ürünü olan p21 onkoproteini de hücre siklusunun kontrolünde rol oynar. Normalde, böbrek tübülüslerinde yüksek oranda bulunur. BHK'larda önemli bir faktör değildir (Nanus et al. 1990).

2.11. BHK Teşhis ve Tedavisinde Genetiğin Rolü

Patoloji ve genetik alanında son yıllardaki hızlı gelişmeler BHK olgularındaki bilgilerimizin çok hızlı artmasına neden olmuştur. Yakın zamana kadar BHK tek bir kanser türü olarak bilinmesine rağmen, günümüzde ilgi alanı değişik fenotipi veya en azından genotipi olan çeşitli tümör spektrumları üzerinde yoğunlaşmıştır. Genellikle her bir renal hücre tümörü sporadik olarak veya kalıtsal olarak meydana geldiğinden sitogenetik ve moleküler genetik çalışmalar önem kazanmış ve BHK de ilgi fenotipler ve genotipler üzerinde yoğunlaşmıştır. Dolayısı ile renal karsinogenlerin sitogenetik özellikleri, adenom/karsinom durumu önemli bir durum olup ortaya çıkma aşamaları ve tümörün ilerlemesi inceleme altına alınmıştır. Bu incelemelerin halen devam ettiği ve yeni elde edilen moleküler genetik çalışma sonuçlarının önemli katkılarına olduğunu belirtmek gerekir. Morfolojik olarak değişik BHK türlerinin bazıları ayırd edildiği halde buna uyan genetik model halen eksiktir ve sınırlıdır. Genetik bilgi birikimleri esas alındığında, prognozda kullanılan bazı kromozomal belirleyiciler bulunmaktadır (Leppert et al. 2006). Örneğin berrak hücreli BHK'da 9p ve 10q ve hatta 14q kromozom kaybı prognozun kötü

olduğunu gösterir. Papiller karsinomda, 1q42-43 kromozomlarda fumarat hidrataz geninin tip 2 mutasyonları ve 9p13 heterozigot durumunun kaybolması da (LOH) prognozun kötü olduğunu gösterir.

Morfolojik ve genetik araştırmalar sonucunda değişik tümör tiplerine ait antijen spektrumu belirlenmektedir ki buda ayırıcı tanı için gerekli immünohistolojik profili gösterir. Örneğin α -metil açil-koenim A rasemaz (AMCAR) ekspresyonu papiller BHK için, TFE3 ekspresyonu translokasyon kanseri için, CD117 (c-kit) ekspresyonu kromofob karsinom için ve RON onkositik adenomlar ve kromofob BHK'ler için tipiktir.

Bu farklı sitogenetik yollar esas alındığında, bu kromozomal aberasyonlar ile ilgili moleküler değişiklikler ilgi alanı olmuştur. Bunun sonucunda, berrak hücreli BHK da von Hippel-Lindau geni (VHL) gibi bazı önemli tümör suprese edici genler ve hücre siklusunun düzenlenmesi ve farklılaşmasında rol oynayan onkogenler ortaya konmuştur (Störkel et al. 1989, Störkel et al. 2007).

2.12. Klasik CGH Tekniği (Comparative Genomic Hybridization)

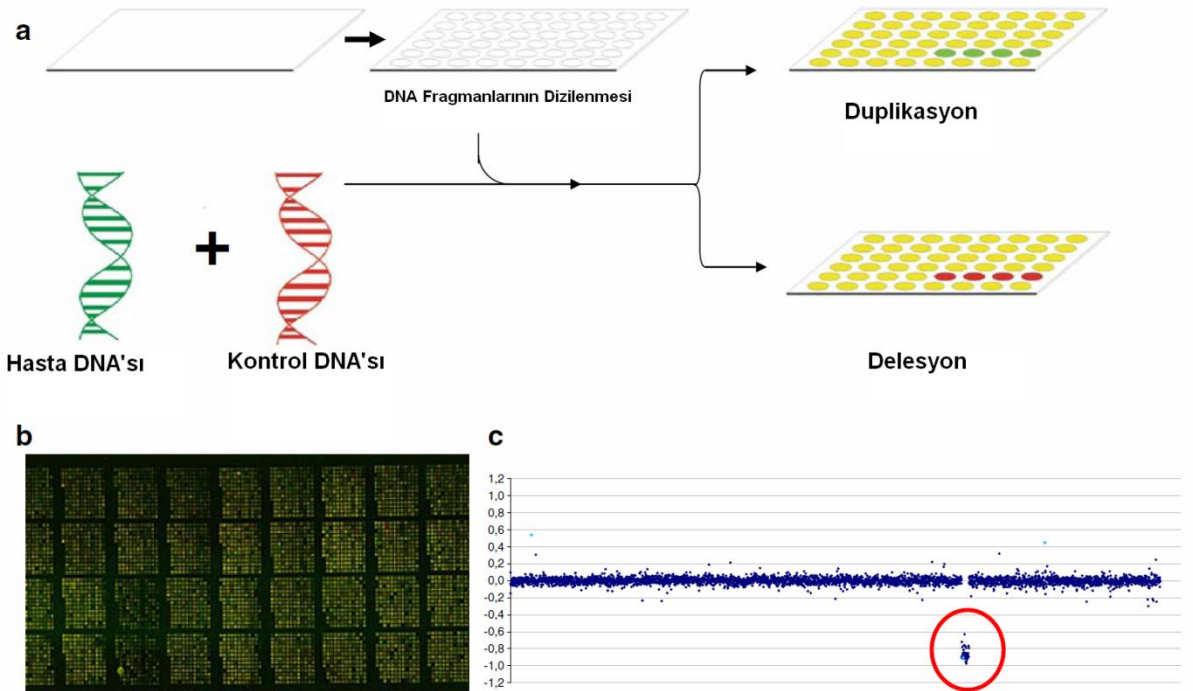
CGH tekniği; temeli FISH (Floresan İn Situ Hibridizasyon)'e dayanan, farklı floresan boya ile boyanmış test (hasta) ve referans DNA örneklerinin normal kromozomlara bağlanması ile elde edilen floresan renk farklılıklarını gösteren bir sitogenetik yöntemdir. Genom boyunca DNA dizisindeki kopya sayısı değişimlerini inceleyerek hasta DNA'sında kromozomal kayıp (materyalde delesyon) veya belli bir bölgenin kazanımı (duplikasyon, insersiyon veya amplifikasyon) gibi kromozom anomalilerinin sınıflandırılmasına olanak sağlar. Bu teknik ilk olarak Kallioniemi ve ark. (1992) tarafından kullanılmıştır.

Genler ve gen ürünleri arasındaki etkileşimi anlamak için; insan gen ifadelerini araştırmak için kullanılan klasik metodlar araştırmacıların belirli bir zaman içerisinde az sayıdaki geni inceleyebilmelerine olanak tanımaktadır. Fakat günümüzde, geliştirilen otomasyona dayalı yeni teknolojiler sayesinde çok fazla sayıdaki genin aynı anda analizi mümkün hale gelmiştir.

Bu yeni teknolojiler arasında en güçlü olanlarından birisi mikroarray teknolojisidir. Mikroarray'ler araştırmacıların tek bir deneyde hızlı ve verimli bir şekilde tüm genomik DNA'daki aberasyonları taramak için veya proteinlere dönüşen ya da dönüşmeyen RNA'yı taramak (ekspresyon analizi veya ekspresyon profili olarak da adlandırılmaktadır) için kullanılmaktadır. Mikroarraylerin diğer avantajları, güvenilir olması, sistem kurulduktan sonra otomasyona adapte edilebilir ve ucuz olmasıdır. Mikroarray teknolojisinin

dezavantajlarından birisi tüm deney düzeneğinin nükleik asit hibridizasyon yöntemine bağlı olması ve yüksek oranda benzerlik gösteren DNA dizilerinin analiz sırasında problem yaratabilmesidir (<http://genome-www5.stanford.edu/>). Bu nedenle mikroarray'den elde edilen veriler klasik gen ekspresyon analizi (Kantitatif Real Time PCR (QRT-PCR) ve moleküler sitogenetik (Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemleriyle doğrulanmalıdır.

Biyolojik arşivleme sistemleri gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu kaynaklar her tür biyolojik örneklemin saklanmasına yönelik planlamaları gerçekleştirmekte ve bu sayede temel hastalık etmenlerini araştırmaya yönelik çalışmalara güvenilir kaynaklar oluşturulabilmektedir. Ülkemiz, çoğunluğunu genç bireylerin oluşturduğu, (% 59'u 30 yaşın altı), yüksek akrabalık oranı (ortalama %21, bazı bölgelerde % 40'lara çıkabiliyor), kadınlarda çocuk doğurma sürecinin uzunluğu, düşük nitelikli yaşam standardının yaygınlığı gibi nedenlerden dolayı kalıtsal ve edinsel hastalıkların yüksek insidanslarda görüldüğü bir coğrafyadır. Populasyonun bu özelliği, genom araştırmaları, protein ve temel bilim çalışmalarının yapılarak hastalık genlerinin tanımlanması, yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için oldukça elverişli bir yapı oluşturmaktadır.

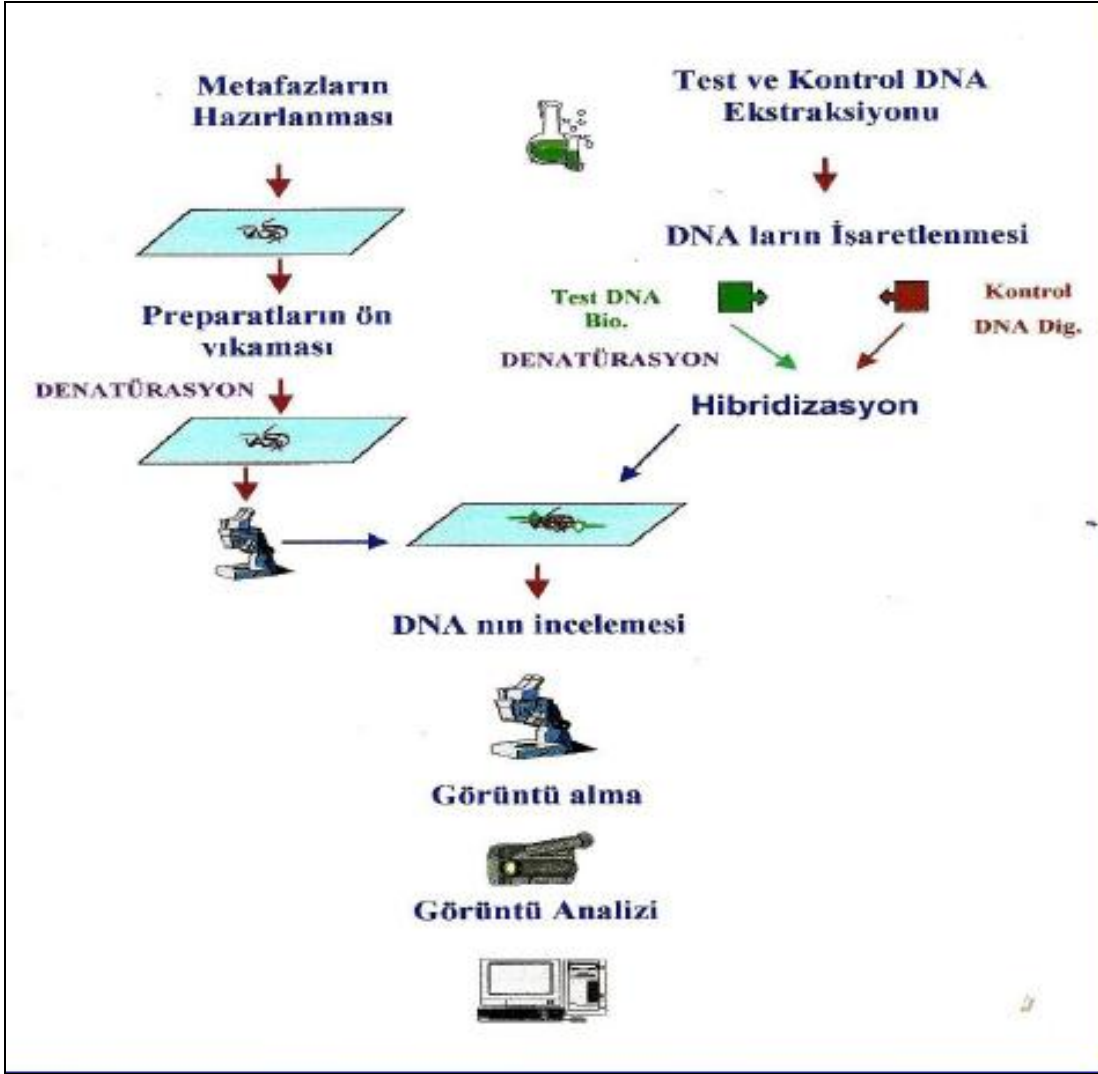


Şekil 2.3. CGH mikroarray (Thomy et al. 2007)

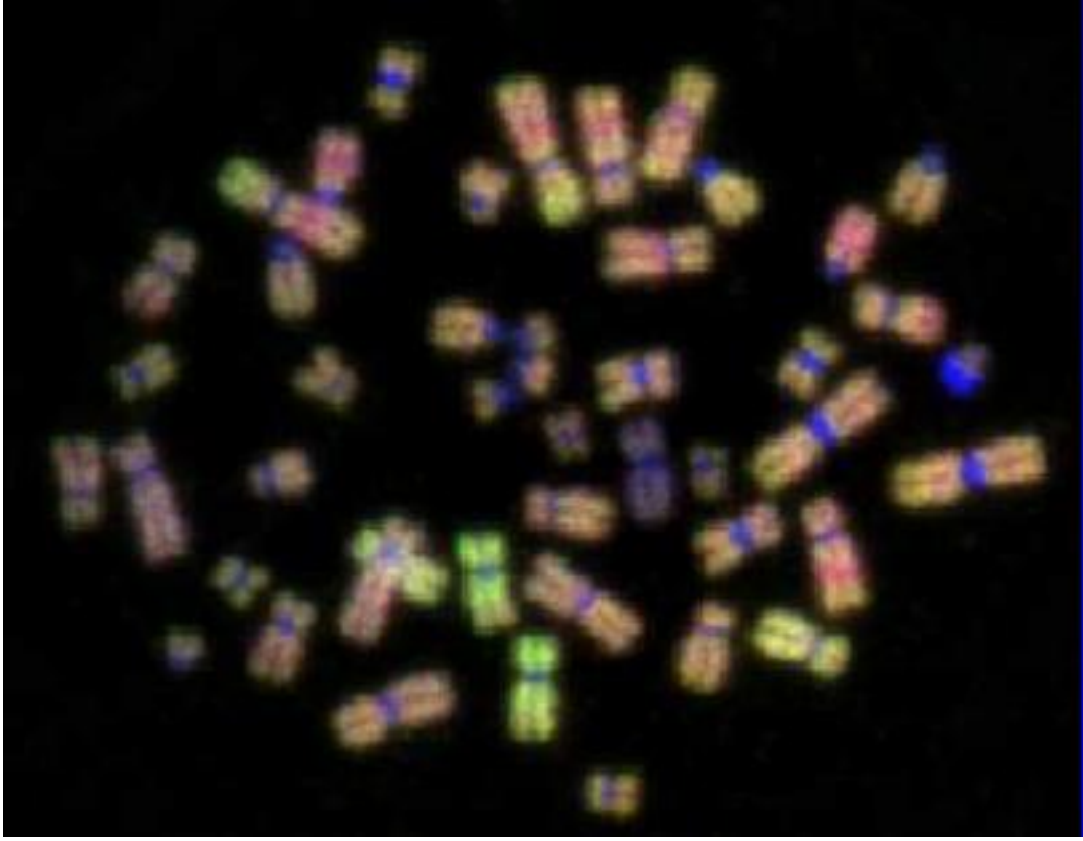
Klasik CGH tekniğinin aşamaları:

- Test ve referans hücrelerden genomik DNA elde edilmesi,
- Elde edilen DNA örneklerinin farklı renkte florokromlarla [Cy 3 (yeşil) ve Cy5 (kırmızı)] işaretlenmesi,
- Ard arda tekrarlanan bölgelerden kaynaklanabilecek hatalı eşleşmeleri önlemek için Human Cot-1 DNA ile muamele edilmesi,
- Normal hücrelerden metafaz plağı elde edilmesi ve denatürasyonu,
- Farklı renkte florokromlarla işaretli test ve referans hücrelerden elde edilen DNA materyalleri ile metafaz plağının co-hibridize edilmesi,
- Metafaz plağı üzerinde florokromlardan kaynaklanan renk farklılıklarına göre kromozomlardaki kayıpların veya kazançların yani amplifiye olan bölgelerin tespiti .

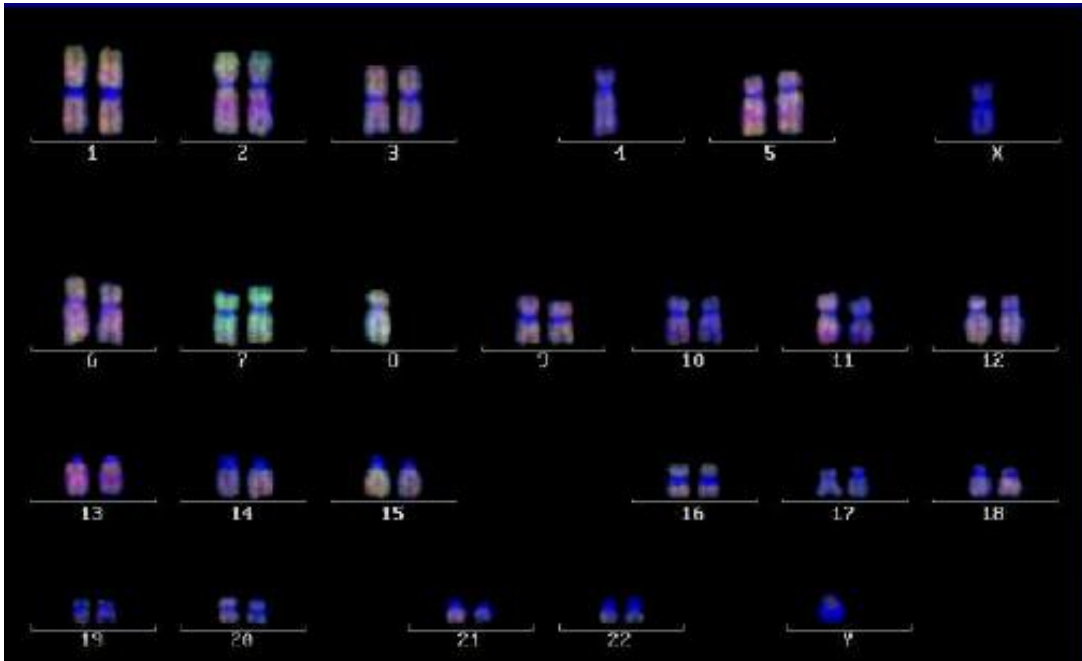
Tekniğin ana avantajı, iki renkli görüntüleme sistemi kullanılması sonucunda metafaz plağı üzerinde kromozom anomalilerinin normal karyotip analizine göre daha güvenilir saptanabilmesi ve en az iki genomun birbirleri ile karşılaştırılmasına olanak sağlaması iken, esas dezavantajı düşük kararlılık (10.000 – 20.000 kb) ve verimliliğidir. Bu teknik, kazanım (duplikasyon, insersiyon veya amplifikasyon) veya net kayıp (materyalde delesyon) gibi kromozom anomalilerinin sınıflandırılmasına olanak sağlar.



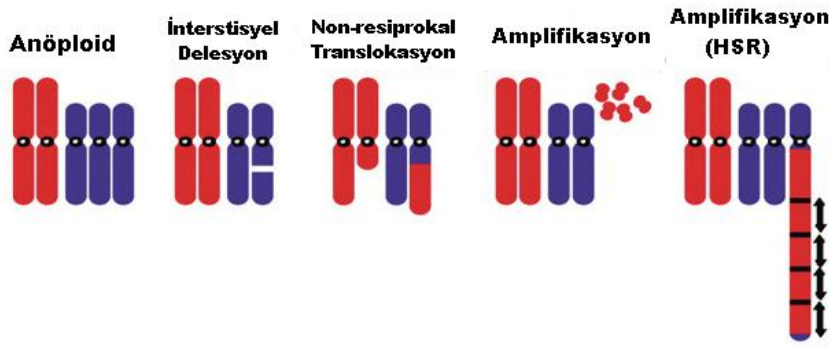
Şekil 2.4. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) (Özbaş,2008) .



Şekil 2.5. CGH Metafaz Plağı (Çine, Savlı, 1. Array CGH kursu 2010, Kocaeli Üniversitesi)



Şekil 2.6. CGH Karyotip (Çine, Savlı, 1. Array CGH kursu 2010, Kocaeli Üniversitesi)



Şekil 2.7. CGH ile belirlenebilen kromozom anomalileri (Albertson et al. 2003)

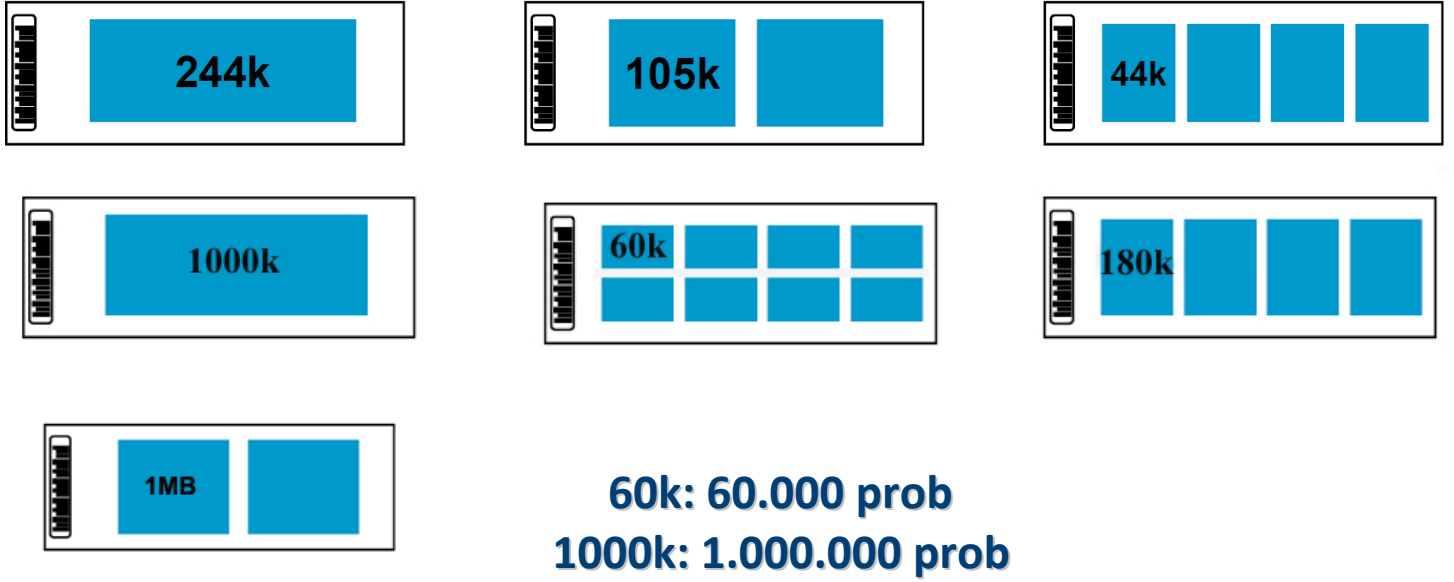
2.13. Array-CGH Teknolojisi (Array Comparative Genomic Hybridization)

Bilgisayar teknolojisinin moleküler biyolojiye paralel olarak hızla gelişmesi, iki disiplini birbirine yaklaştırmıştır. Böylece, biyoteknolojinin kavramsal olarak ulaşabileceği son noktalardan biri olan gen-çip (mikroarray) ortaya çıkmıştır (Schena et al. 1995).

Bir tarama yöntemi olarak önerilecek en değerli teknoloji, son yılların en gözde teknolojisi olan mikroarray teknolojisidir. İlk olarak kanserdeki genomik değişimleri araştırmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Bejjani et al. 2006). Ancak Array CGH insanda genetik bozukluklara neden olan DNA kopya sayısı değişikliklerinin analizi içinde uygundur. Bu teknolojiyle bir hastanın bünyesine bulunan tüm genleri (insanda toplam gen sayısı otuz bindir) birkaç saat içinde tek bir deney ile taramak mümkündür. İlk kez 1997 de Solinas-Toldo ve ark. hedef (target) diziyi cam matriks üzerine immobilize ederek array-CGH'nin temelini atmışlardır. Daha sonra 1999 yılında Pollack ve ark. array platformu üzerine cDNA dizisini (target) immobilize ederek genom düzeyinde DNA'daki kopya sayısındaki değişimleri incelemişler.

Mikroarrayler cam, plastik veya silikon çip gibi katı bir yüzeye tutturularak sıralı bir şekilde (array) oluşturulmuş mikroskobik DNA spotlarıdır (Bejjani et al. 2006). Bir mikroarray'de bu spotlardan onbinlerce bulunabilir. Yüzeye tutturulan bu DNA parçaları (genellikle 20-100 nükleotid uzunluğunda) prob olarak tanımlanmıştır. Bu yeni teknikte membran yerine camın kullanılması, radyoaktivitenin yerini floresan işaretlerin alması ve bağlanmayı sağlayacak yöntemlerin hassaslaşmasıyla çalışmaların verimi ve elde edilen bilgilerin miktarı artmıştır. Kısa sürede ve oldukça pratik olarak on binlerce genin analizini

yapmak mümkündür. Otomasyona dayalı bir sistem olduğu için insan kaynaklı hataların ortaya çıkma ihtimali düşüktür (Savlı et al. 2002, 2008)



Şekil 2.8. 2010'da güncel kullanımda olan Array CGH slayt Formatları (Çine, Savlı, 3. Array CGH kursu 2010)

Array-CGH teknolojisi klasik kromozomal CGH protokolüne benzer fakat array formatında normal metafaz kromozomları yerine DNA klonlarını (Solinas-Toldo et al. 1997; Pinkel et. al. 1998; Albertson et. al. 2000) veya cDNA'ları (Pollack et. al. 1999; Heiskanen et. al.2000) hibridizasyon hedefleri olarak kullanır. Son yıllarda bu geniş çaplı dizimleri içeren bankalar insan genomuna entegre edilmiş (Cheung et al. 2001) ve böylece array-CGH kullanımı için ideal hedefler gösterilmiştir. Array CGH ile saptanan kopya sayısındaki değişiklikler direkt olarak sequence bilgileri ile ilgili olabilir ve kansere neden olan genlerin tanımlanmasını dramatik olarak hızlandıracaktır. Meme kanserinde DNA kopya sayısındaki değişikliklerin yüksek-çözünürlüklü array CGH ile kantitatif olarak ölçülmesi onkojen tanımlanmasında başarılı olarak kullanılmıştır (Albertson et al. 2000) ki bu da bu teknolojinin tümör ile ilgili genlerin lokalizasyon ve identifikasyonundaki etkin kullanımını göstermektedir (Wilhelm et al. 2002).

Oligoarray

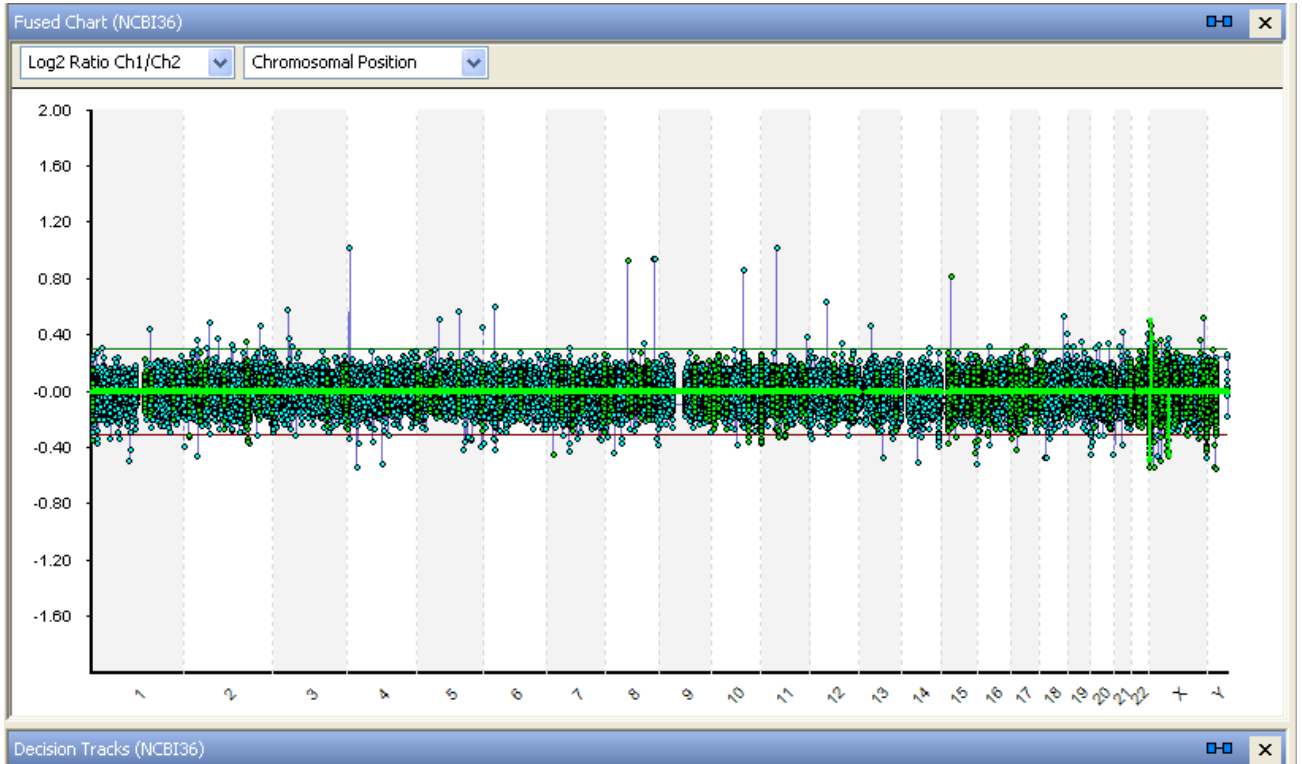


= 44.000 prob
44.000 X 65bp = 2.860.000bp
2.860.000 = 3MB lık kapsama
Genom = 3.000.000.000
Tüm genomu 1/1000 ölçekle tarar

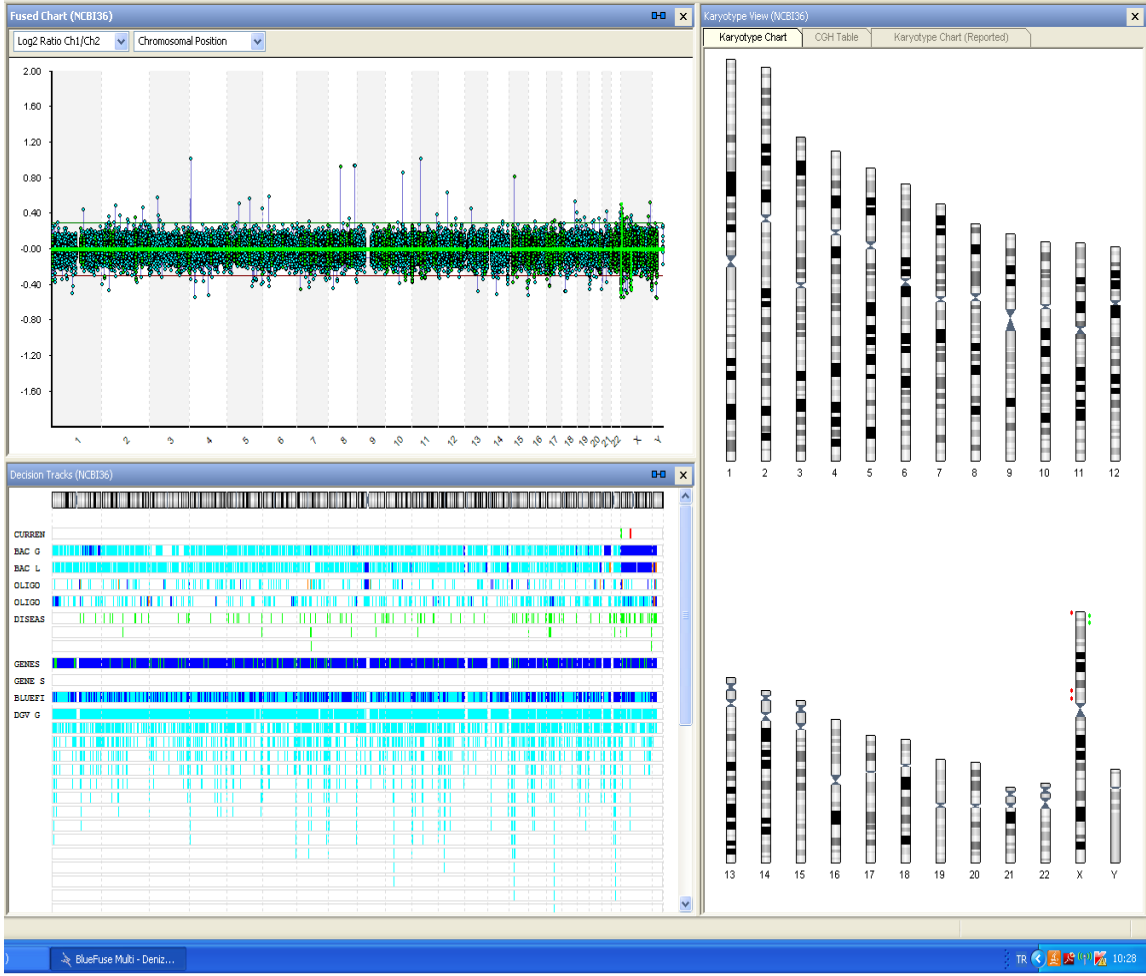


Genomun 1/3000 ini görür

Şekil 2.9. Array Slide Formatları (Çine, Savlı, 3. Array CGH kursu 2010 Kocaeli Üniversitesi)



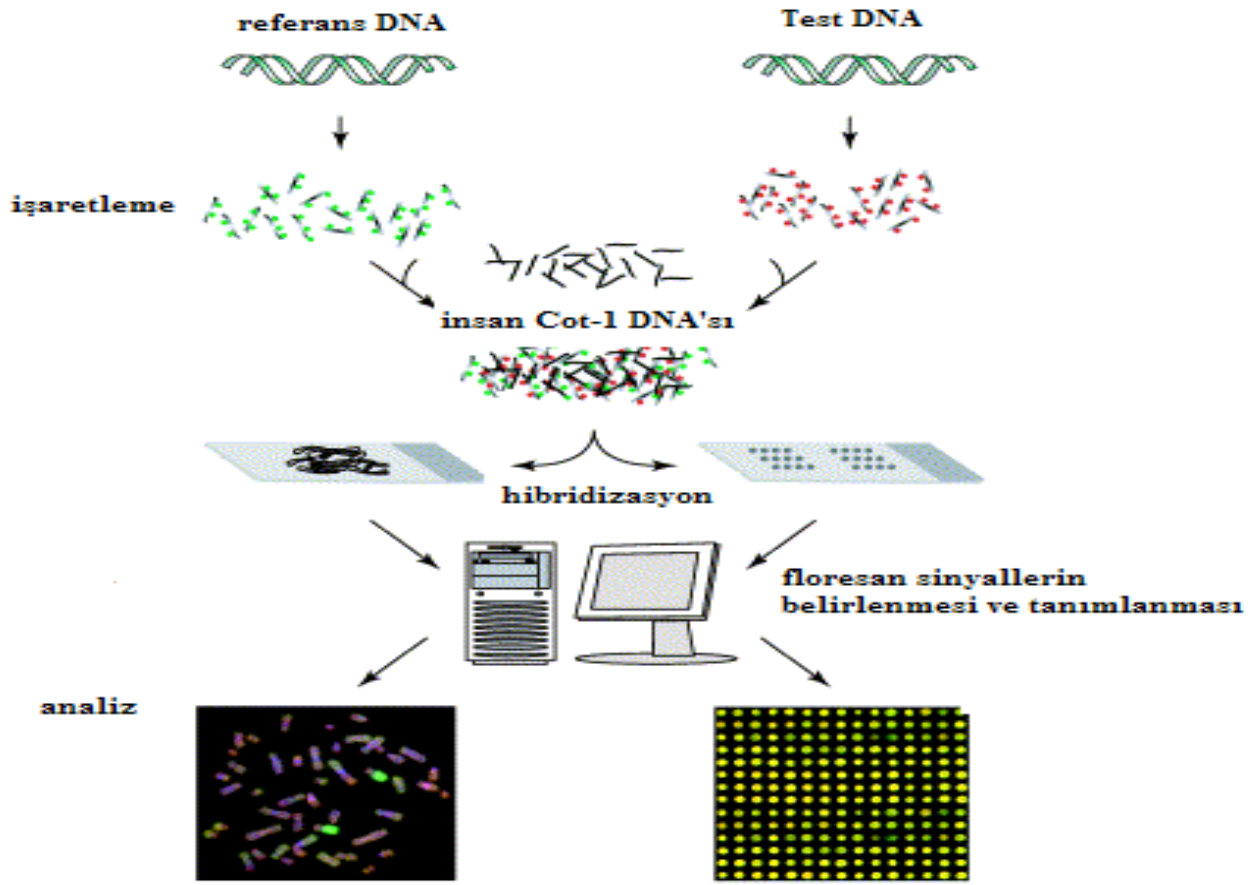
Şekil 2.10. Problemin Genel Görünümü (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)



Şekil 2.11. CGH Analiz Programı Görünümü (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)

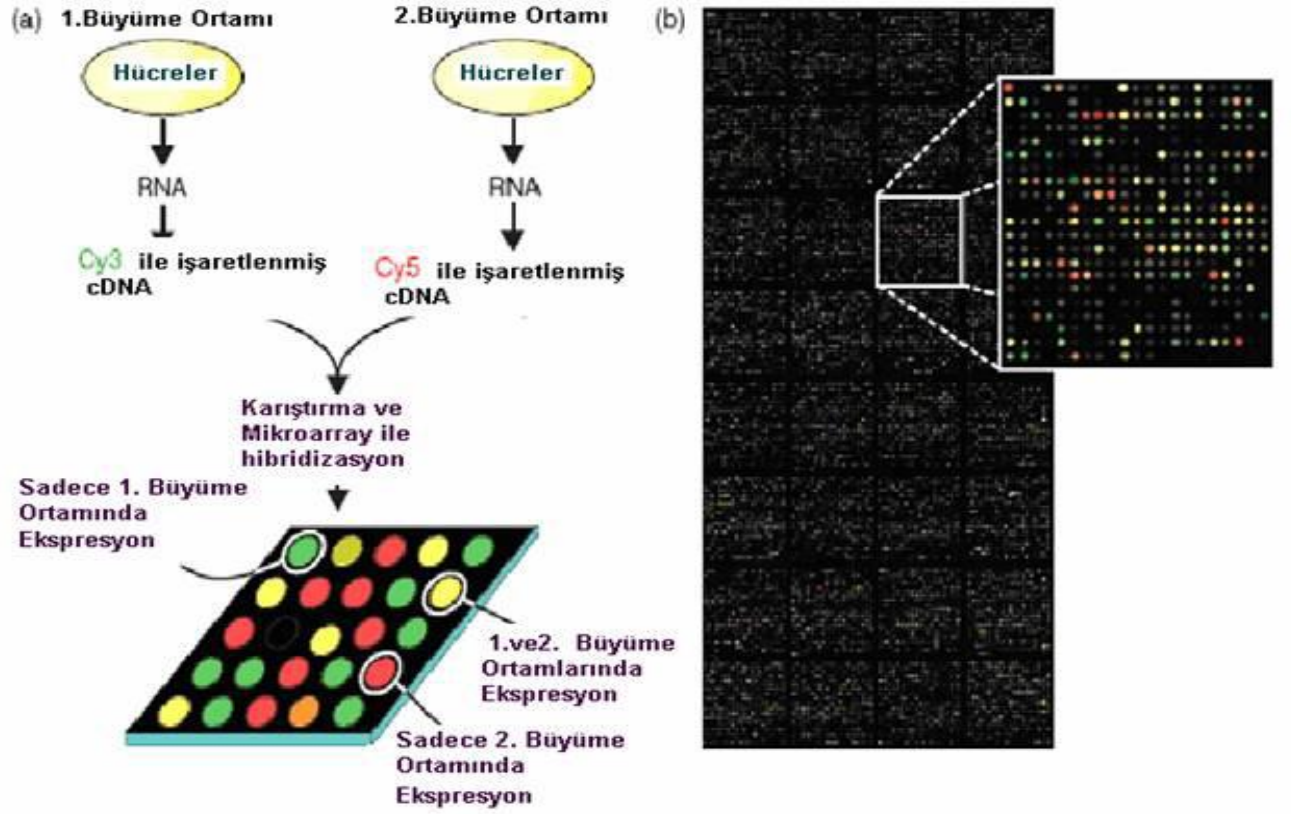
Array CGH Tekniğinin aşamaları:

- Test ve referans hücrelerden genomik DNA izolasyonu,
- İzole edilen bu DNA materyalinin farklı renkte florokromlarla [Cy 3 (yeşil) ve Cy5 (kırmızı)] işaretlenmesi,
- Ard arda tekrarlanan bölgelerden kaynaklanabilecek hatalı eşleşmeleri önlemek için Human Cot-1 DNA ile muamele,
- BAC, PAC, kosmid, cDNA, oligonukleotid ve PCR türevli problemlerin (target) cam matrisi üzerine immobilizasyonu,
- Hibridizasyon aşaması,
- Bilgisayar ortamında çeşitli analiz programları ile floresan sinyallerin tanımlanarak sonucun yorumlanması.



Şekil 2.12. CGH ve A-CGH tekniklerinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi (Özbaş, 2008).

Test ve referans örneklerden DNA izolasyonu için taze veya dondurularak saklanan homojen doku veya hücre populasyonları kullanılır.



Şekil 2.13. Array CGH şematik gösterimi (Özbaş, 2008).

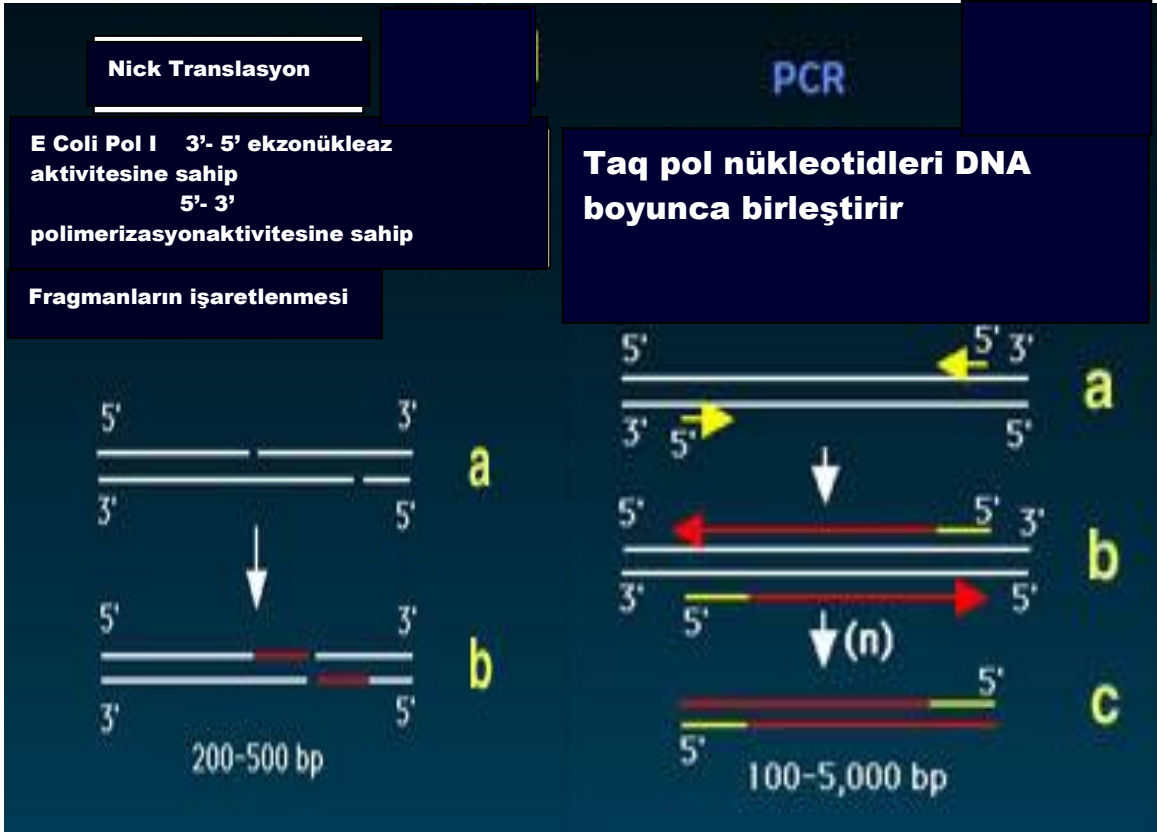
2.13.1. DNA'nın işaretlenmesi

Test ve referans doku veya hücrelerden elde edilen genomik DNA'nın farklı renkte florokromlarla işaretlenmesinde yaygın olarak 3 yöntem kullanılır:

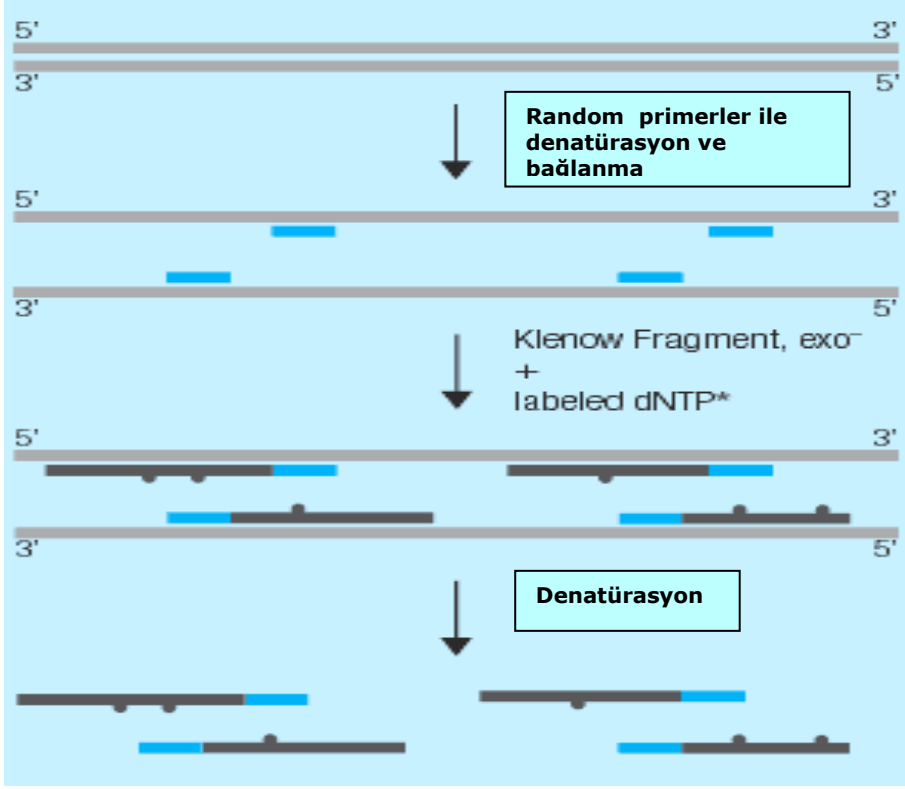
- Nick Translasyon,
- Random(Rastgele) Primerlerle PCR,
- Kimyasal yöntem.

FISH çalışmalarında en çok kullanılan DNA probu işaretleme yöntemi Nick Translation yöntemidir. Bu yöntemde Biotin ve digoxigenin kullanılır. Biotin ve digoxigenin kullanılmasının nedeni sensitivitesi ve uygulama kolaylığıdır.

- Biotin test DNA sının işaretlenmesinde
- Digoxigenin Kontrol DNA'sının işaretlenmesinde kullanılır.



Şekil 2.14. Nick translasyon yöntemi ile DNA'nın işaretlenmesi (Özbaş, 2008).



Şekil 2.15. Rastgele primerler kullanarak DNA'nın işaretlenmesi.(Özbaş, 2008).

Standart bir microarray matrisi, yaklaşık olarak 100 µm çapında, bir cm²'sinde 40.000 spot (benek) içerir. Buna göre cam matris üzerine immobilize edilen problemlerle test ve referans örneklerden elde edilen farklı renkte florokromlarla işaretlenmiş genomik DNA'ların hibridizasyondan sonra cam matris üzerinde elde edilecek floresan ışığın şiddeti verilerin doğru analiz edilmesinde önemlidir.

A-CGH için microarray matrisinde kullanılan prob (target)lar:

- BAC, PAC ve kozmitler,
- PCR ve ya cDNA ürünleri,
- Oligonükleotidler.

BAC, PAC ve kozmitlerden elde edilen problemler, PCR, cDNA, Oligonükleotidlerden elde edilen problemlere göre daha güçlü sinyal yoğunluğu verirler.

Problar, farklı PCR yöntemleri kullanılarak *in situ* olarak amplifikasyona edildikten sonra cam matriks üzerine immobilize edilirler. Cam matriks üzerine immobilize edilen problar daha sonra farklı renkte florokromlarla işaretlenmiş test ve referans DNA örnekleri içeren hibridizasyon solüsyonu ile 16-72 saat süresince melezleştirilir. Hibridizasyondan sonra fazla olan işaretli DNA örneklerini ortamdan uzaklaştırmak için cam matriks yıkama işlemine tabi tutularak kurutulur ve mikrotarayıcıda taranan görüntü bilgisayar ortamına aktarılarak çeşitli biyoinformatik programları ile verilerin değerlendirilmesi yapılır

Array CGH Tekniğinin Kullanım Alanları:

- Kanser araştırmalarında,
- Haritalamada,
- Diagnostikte,
- Epigenetik modifikasyonlara yönelik çalışmalarda,

Array CGH Klinik Uygulamadaki Yeri

- Tüm Genom Analizi ile CNV u tanımlayabilir.
- Konvensiyonel Metodların Karakterizasyonu.
- Anöploidiler
- Delesyon ve Duplikasyonlar
- Submikroskopik Değişimler
- Mozaiklikler - %10'dan çok ise

Array CGH -Hastalıklarla İlişkisi

- Spontan düşükler
- Mental Retardasyonlar
- Multiple Malformasyonlar
- Prenatal Tanı
- Kanseller
- Multifaktöryel Kalıtılan Hastalıklar

A-CGH Tekniğinin Avantajları

- Farklı renklerde florokromların kullanılması genom boyunca DNA kopya sayısındaki değişimlere bağlı olarak ortaya çıkan kromozom anomalilerinin güvenilir şekilde tespiti ve sınıflandırılabilmesi,
- Birden fazla genomun birbirileri ile karşılaştırılabilmelerine olanak sağlaması,
- Az miktarlarda DNA örneğinin yeterli olması,
- Metafaz plağı gerekli değil,
- Tüm genomun tek bir deneyle analiz edilebilmesi
- DNA üzerindeki tek baz değişikliklerinin bile saptanabilmesi,
- Yüksek kararlılık ve verim,
- Yüksek hassasiyet,
- Başarılı sonuç alınabilirlik,
- Hız ve esneklik,
- Doğrulanabilirlik,
- Verifikasyon.

A-CGH Tekniğinin Sınırlandığı Noktalar,

- Alanında uzman kişilere ihtiyaç duyması,
- Heterojen doku ve hücre popülasyonları ile çalışmanın zorluğu,
- Standardizasyonun zorluğu,
- Dengeli anomaliler tespit edilemez,
- CNV tanıyı güçleştirebilir,
- Maliyet,
- Çözünürlük.

BAC Array- Oligo Array Karşılaştırması:

BAC Array	Oligo Array
100.000-170.000Bp (100-170kb)	65bp
Bir gen için ortalama 3-5 overlap BAC klonu	Yüksek çözünürlük
Tekrarlanabilirliği yüksek	CNV belirleme
Kolay Hibridizasyon	
Yüksek İşaretleme başarısı	

Çizelge 2.9. BAC Array- Oligo Array Karşılaştırması

Limitasyonları:

BAC Array	Oligo Array
100.000-170.000Bp (100-170kb) en az %50'si bağlanabilir	Sinyal Yetersizliği
50.000-85.000bp en düşük çözünürlük	Yanlış pozitif bağlanma
	4-6 prob bağlanma zorunluluğu
	Data verifikasyonu
	Degrade DNA-Parafin Blok ta düşük verimlilik

Çizelge 2.10. BAC Array-Oligo Array limitasyonları

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Yöntem

Çalışmamızda; 33-76 yaş arası, cinsiyet farkı gözetmeksizin, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ve Patoloji Anabilim Dalları'na başvuran ve berrak hücreli renal karsinom tanısı alan 31 adet hastadan alınan parafin doku kesitleri kullanılmıştır. Her bir hasta gen-çip üzerinde bir kez melezleştirilmiş olduğundan, toplam 31 adet melezleştirme gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Hastaların tanıları Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından DSÖ 2004 kriterlerine göre konulmuştur. Olguların evresi 2009 TNM evreleme sistemine, nükleer gradı Fuhrman ve ark. (1982) kriterlerine göre verilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 55.4 yıldır. Grupta berrak hücreli karsinom tanısı konan 33-76 yaş arası, cinsiyet farkı gözetilmeksizin, birbirleriyle akrabalıkları olmayan 31 hastadan alınan formalin fikse - parafine gömülü H&E boyalı preparatlar kullanılmıştır. Berrak hücreli renal karsinomlu hastalarda array-CGH yöntemi kullanılarak genetik hasar saptama çalışması yapılmıştır.

Çalışmanın etik onayı Kocaeli Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından alınmıştır (21.02.2012 4/4).

3.2. DNA İzolasyonu

Çalışmaya katılan hastaların Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından hazırlanan formalin fiske- parafine gömülü kesitlerden elde edilen preparatlarda Roche Cobas DNA Sample Preparation Kit kullanılarak DNA elde edilmiştir.

İzolasyon:

1. Isıtıcı blok 56° C ye ısıtılır. 5µm kalınlığında kesilmiş parafine gömülü doku örneği slide'ı üzerini tamamen örtecek miktarda Xylen içeren kaba konur ve 5 dakika beklenir.
2. Slide'lar üzerlerini örtecek miktarda absolut etanole konur ve 5 dakika beklenir.
3. Alkolden alınan slide'ların kuruması beklenir.
4. 1,5 ml'lik eppendorf tüp içine 180 µl DNA TLB eklenir.

5. DNA TLB içeren tüpe 70 µl Proteinaz K (PK) eklenir
6. Slide'ın üzerindeki doku DNA TLB/PK karışımını içeren tüpe kazınarak aktarılır.
7. DNA TLB/PK karışımı içeren tüp 30 saniye vortekslenir.
8. Tüp önceden 56° C'ye ısıtılmış ısıtıcı blokta 60 dakika inkübe edilir.
9. Isıtıcı bloktan alınan tüp 10 saniye vortekslenir.
10. Tüp önceden 90° C'ye ısıtılmış ısıtıcı blokta 60 dakika inkübe edilir.
11. Isıtıcı bloktan alınan tüplerin oda sıcaklığına gelmesi beklenir.
12. Oda sıcaklığına gelen tüpe 200 µl DNA PBB eklenir karışması için 3 kere pipetlenir.
13. Tüp oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilir.
14. Karışıma 100 µl izopropanol eklenir ve karışması için 3 kere pipetlenir.
15. Elde edilen karışım önceden hazırlanan FT/CT(Filter Tube/Collection Tube) ünitesine aktarılır.
16. FT/CT ünitesi 8,000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
17. FT yeni CT ünitesine aktarılır.
18. 500 µl WB I tüm FT ünitelerine eklenir.
19. FT/CT ünitesi 8,000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
20. 500 µl WB II tüm FT ünitelerine eklenir.
21. FT/CT ünitesi 8,000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
22. FT yeni CT ünitesine aktarılır.
23. FT/CT ünitesi 16,000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
24. FT ünitesi 1.5 mL ependorf tüpüne aktarılır.
25. FT membranının ortasına, membrana değmeden 100 µl DNA EB eklenir.
26. FT ünitesi 15 ile 30°C arasında 5 dakika inkübe edilir.
27. FT ünitesi 8,000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
28. 1.5 mL ependorf tüpünde toplanan DNA miktarı 260 ve 280 nm dalga boyundaki absorbanslar spektrofotometre (NanoDrop, ND-1000) kullanılarak ölçülür. A260/A280 oranı 1,7 ile 2.0 arasında olan DNA'lar kullanılır.



Şekil 3.1. DNA ölçümünde kullanılan spektrofotometre

3.3. DNA Lekeleme :

1. 0,2'lik tüplere DNA miktarı 10.1 µl de 500 ng olacak şekilde nükleaz-free su ve genomik DNA konulur.
2. Nuclease-free su ve genomik DNA miktarı toplamının 13 µl olmasına dikkat edilir.
3. 13 µl gDNA bulunan tüplere 2.5 µl random primer eklenir ve santrifüj edilir.
4. 95° C de 10 dakika inkübe edilir. Örnekler buz üstünde 5 dakika bekletilir.
5. 6000g de 1 dakika santrifüj edilir.
6. Lekeleme karışımı aşağıda verildiği gibi hazırlanır.

Lekeleme Karışımı Cy3:

5X buffer: 5µl

10X dNTP: 2.5 µl

Cy3 dUTP: 1.5 µl

Exo-Klenow fragment: 0,5 µl

Lekeleme Karışımı Cy5:

5X buffer: 5µl

10X dNTP: 2.5 µl

Cy5 dUTP: 1.5 µl

Exo-Klenow fragment: 0,5 µl

7. Örnek gDNA'ya Cy3, referans gDNA'ya Cy5 lekeleme karışımı 9.5 µl eklenir.
8. Karışım 37°C de 2saat, 65°C de 10 dakika ve 4°C de kalacak şekilde thermal cyclers ayarlanır.

3.4. Pürifikasyon :

Illustra Autoseq G-50 Kolonlarının Hazırlanması:

1. Kolonlar vortekslenir.
2. Kolonların kapakları ¼ oranında açılarak dip kısımdaki kapak kırılır.
3. Kolonlar 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirilir ve 2000g'de 1 dakika santrifüj edilir.

4. Toplama tüpleri atılır. Kolonlar 1,5 ml'lik eppendorf tüplere yerleştirilir.
5. Örnekler kolonlara yüklenir ve 2000g'de 1 dakika santrifüj edilir.
6. Kolonlar atılır. Pürifiye olmuş örnekler hibritleme için konsantratöre konulur. 60C'de, yüksek vakumda, 20 dakika örnekler kurutulur.
7. Örnekler 9.5 µl 1X TE (pH 8.0) eklenir.
8. Pürifiye olmuş örneklerden 1.5 µl alınarak Thermo Scientific Nanodrop 2000 cihazı kullanılarak DNA konsantrasyonları ölçülür.
9. Cy3 ve Cy5 ile işaretlenmiş örnekler birleştirilir.

3.5. Hibridizasyon

1. Hibridizasyon için karışım hazırlanır. 16 µl olan lekelenmiş genomic DNA içine 29 µl hibridizasyon karışımı eklenir.

Hibridizasyon Karışımı

Cot Human DNA	2 µl
10X Blocking Agent	4.5 µl
2X Hi-RPM Hybridization Buffer	22.5 µl
Toplam	45 µl

2. Örnekler 95°C 'de 3 dakika denature edilir.
3. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir ve oda ısısına soğutulur.
4. Her örnekten 40 µl çekilir ve Cytochip ISCA 8X60k slidelara yükleme yapılır.
5. Hibridizasyon fırınında 65°C'de 20 rpm'de 24 saat hibritlenmeye bırakılır.
6. Yıkama için 2 numaralı solüsyon 37°C'lik etüve konur.

3.6. Yıkama :

1. İki kabın içine 1 numaralı yıkama solüsyonundan üçüncü kaba 2 numaralı yıkama solüsyonundan konur.
2. Birinci kabın içinde Cytochip ISCA 8X60k slide Gasket slidedan ayrılır.
3. İkinci kabın içinde Cytochip ISCA 8X60k 5 dakika oda ısısında bekletilir.
4. Cytochip ISCA 8X60k slide hızlı bir şekilde üçüncü kabın içine aktarılır. 1 dakida beklenir.
5. Cytochip ISCA 8X60k slide yavaşça çıkarılır ve bu şekilde kurutulur.
6. Tarama işlemine geçilir.

3.7. Alet ve Cihazlar :

1. Spektrofotometre (Thermo Scientific Nanodrop 2000)
2. Mikrosantrifüj (Beckman Coulter)
4. Derin dondurucu (-20°C Arçelik)
5. Thermal cycler (Applied Biosystems, 2720)
6. Mikrodalga fırın (Sinbo)
7. Jel elektroforez cihazı (Lightning Volt Power Supply, Model 05P-300)
8. Fotograf bağlantılı UV translüminatör (Geneline Image Analysis System)
9. Hassas terazi (AND Gr-200)
10. Otomatik pipet (2.5, 10, 100, 1000 µL) (eppendorf)
11. Agilent Microarray Scanner (Agilent)
12. Hybridization Chamber (Agilent)
13. Hibridizasyon Fırını (Agilent)
14. Magnetik Karıştırıcı
15. Magnetik Isıtıcı Blok
16. Vakum – Speed Vac

3.8. Sarf Malzemeleri :

1. Roche Cobas DNA Sample Preparation Kit
 - DNeasy Mini Spin Columns
 - Collection tubes (2 ml)
 - Buffer ATL
 - Buffer AL
 - Buffer AW1
 - Buffer AW2
 - Buffer AE
 - Proteinase K
2. Steril, Nuclease-free 2.5, 10, 100, 200, 1000'lik pipet uçları (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany)
3. %100'lük etanol (Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, USA)
4. Nuclease-Free water (AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany)
5. Agaroz (PRONA)

6. 6X DNA Loading Dye (FERMENTAS INTERNATIONAL INC, CANADA)
7. TBE Buffer (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany)
8. Ethidium Bromide
9. Hybridization Chamber gasket slides (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
10. Stabilization&Drying Solution (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
11. Acetonitrile (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany)
12. Agilent Oligo aCGH Wash Buffer 1 and 2 set(Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
 - Agilent Oligo aCGH Wash Buffer 1
 - Agilent Oligo aCGH Wash Buffer 2
13. Agilent Oligo aCGH Hybridization Kit (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
 - 2X Hi-RPM Hybrization Buffer
 - 10X aCGH Blocking Agent
14. Agilent İnsan aCGH Çipi, 4X44K (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
15. Agilent CGHblock (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
16. Agilent Oligo aCGH Labeling Kit module (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)
 - Agilent-KREApure columns
 - Agilent Collection tubes
 - ULS-Cy5 Reagent
 - ULS-Cy3 Reagent
 - 10X Labeling Solution
17. Human Cot-1 DNA (Invitrogen)
18. Human Genomic DNA (Promega, Madison, USA)
 - Human Genomic DNA (female)
 - Human Genomic DNA (male)
19. QIAGEN RNase A (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)

3.9. Array-CGH Hibridizasyonu ve Slayt Taramaları:

Melezleştirme işlemi Agilent marka (Agilent Microarray Oven; Agilent Technologies, Palo Alto, CA) fırında 24 saat süresince uygulandı. Elde edilen melezleşmiş ortam Agilent G2505B model mikrotarayıcıda kapalı ortamda taranarak yüksek çözünürlüklü ayrıntılı görüntü verilerine ulaşıldı.



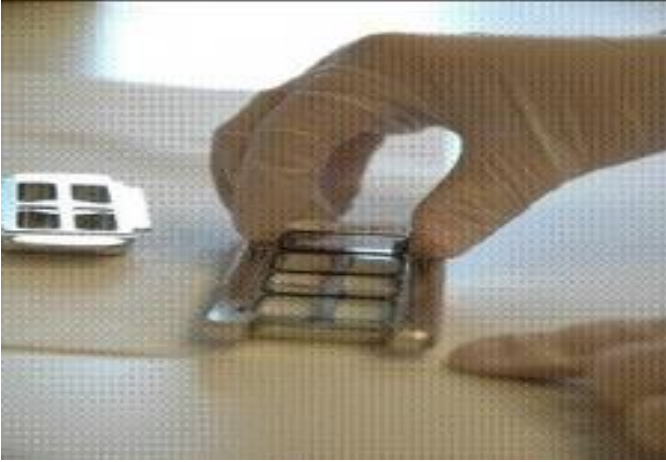
Şekil 3.2. DNA hibridizasyon fırını (Agilent Microarray Oven; Agilent Technologies, Palo Alto, CA)



Şekil 3.3. Slide yıkama küveti



Şekil 3.4. Agilent Scanner (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)



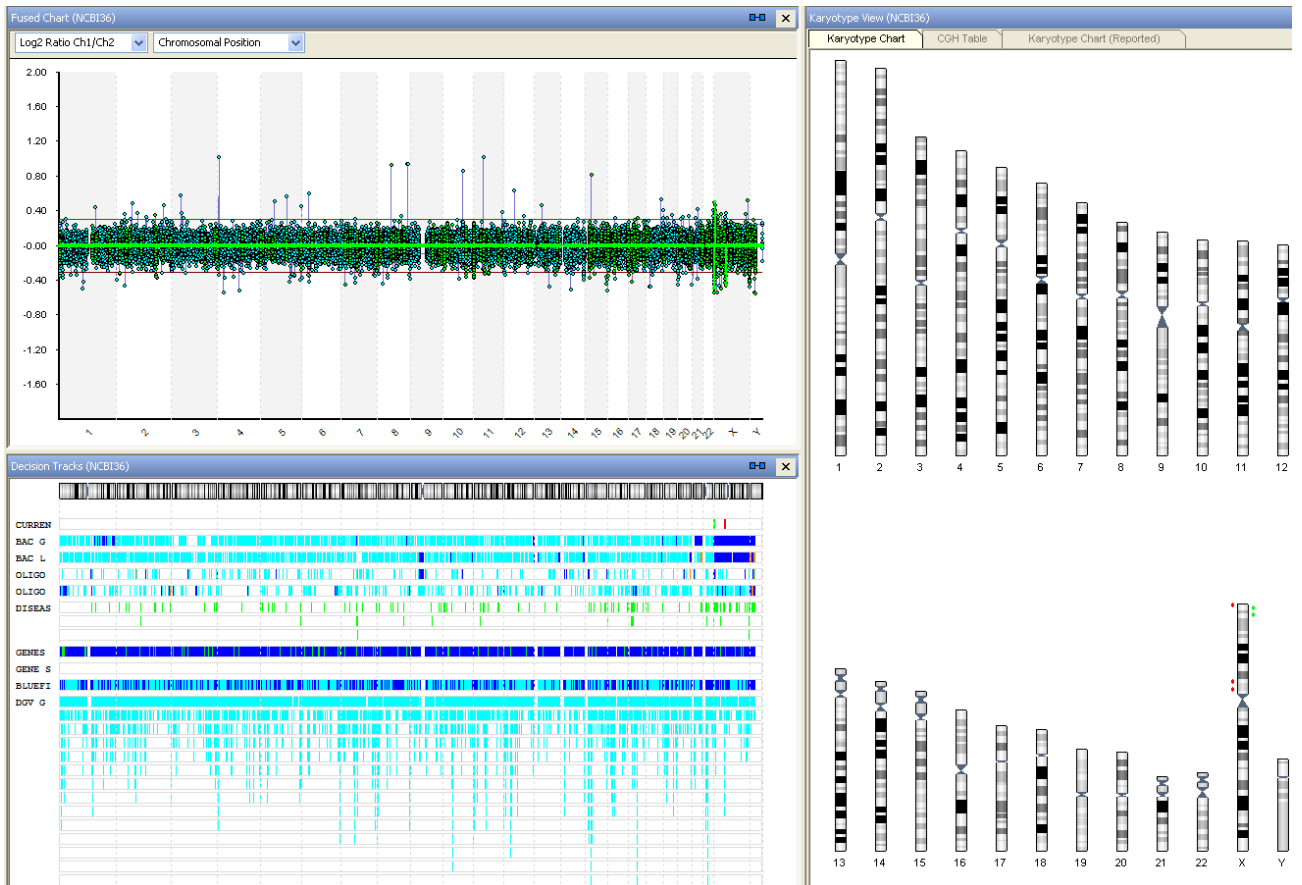
Şekil 3.5. Slide yüklenmesi

3.10. Veri Analizi

Veri analizi Image Viewer ve BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK. programları ile yapıldı. Uygun olan hasta örneklerinin seçilerek analiz yazılımına (BlueFuse Multi software v2.5.) aktarılmasının ardından olası delesyon ve duplikasyon bulguları varlığı araştırıldı.

3.11. Sonuçların Konfirmasyonu

Çalışmamız sonucunda aberasyon saptanan hastalar arasından rastgele seçilen yedi hastada, Bluegenome Cytochip ISCA 8X60k slide formatı kullanılarak array CGH çalışması tekrarlandı. Tüm hastalarda saptanan aberasyonlar, ikinci kez yapılan array CGH çalışmasında da saptanarak verilerin konfirmasyonu sağlandı.



Şekil 3.6. Veri analizi görünümü (BlueFuse Multi software v2.5.)

4. BULGULAR

Çalışmamızda; 33-76 yaş arası, cinsiyet farkı gözetmeksizin, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ve Patoloji Anabilim Dalları'na başvuran ve berrak hücreli renal karsinom tanısı alan 31 adet hastadan alınan parafin doku kesitlerinde yukarıda anılan yöntemlerle tam genom array CGH analizleri gerçekleştirildi. Hastaların 11 tanesi kadın, 20 tanesi erkek idi. Hastaların yaş ortalaması 55.4 idi. Söz konusu çalışma bir insan RNA ve DNA örneği çalışmasıdır. Çalışmada parafine gömülmüş dokulardan DNA izole edildi. İzole edilen DNA üzerinde array-CGH yöntemi ile tam genom analizi gerçekleştirilerek, sınıflandırılmayan böbrek tümöründe genomik duplikasyon ve delesyonlar tarandı.

İncelemeye alınan toplam 31 adet berrak hücreli renal karsinomlu hastada array-CGH yöntemi kullanılarak genetik hasar saptama çalışması yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda hastaların 16'sında çeşitli kromozomların farklı bölgelerinde delesyon ve duplikasyonlara rastlandı. Aberasyon saptanan hastalar arasından rastgele seçilen yedi hastada, array CGH çalışması tekrarlandı. Tüm hastalarda saptanan aberasyonlar, ikinci kez yapılan array CGH çalışmasında da saptanarak verilerin confirmasyonu sağlandı.

4.1. Hastaların Dağılımı

Çalışmaya alınan hastaların 11 (%35.5) tanesi kadın, 20 (%64.5) tanesi erkek idi. Hastaların yaş ortalaması 55.4 olarak saptandı. Hastalar tümü berrak hücreli böbrek hücreli karsinom tanısı almıştı. Yapılan caCGH sonucunda 16 (%51.7) hastada genomun çeşitli bölgelerinde çeşitli boyutlarda aberasyonlar saptandı. 15 (%48.3) hastada ise herhangi bir aberasyona rastlanmadı.

4.2. Aberasyon Bölgeleri

Anomali tespit edilen 16 hastanın 11'inde genomun farklı bölgelerinde birden çok delesyon ya da duplikasyon bulunduğu, 5 hastanın ise tek tip bir aberasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Hastalar tanımlanan aberasyonlar yönünden incelendiğinde, 16 hastamızda toplamda 21 farklı genomik değişimin tanımlandığı görülmektedir (Çizelge 4.1). Array CGH analizleri sonucunda belirlenen bu değişimlerin çoğunluğunun delesyonları içerdiği (n:19; % 90.5), geri kalan aberasyonların ise duplikasyonlar olduğu (n:2; % 9.5) belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Yapılan değerlendirmeler sonucunda, belirlenen mutasyonlar içerisinde del18q22.3 (n:10), del3p26.3(n:8), del3q13.13 (n:6), delXp21.1 (n:6), delXq28 (n:6) 'in hastalar arasında yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.1. Berrak hücreli renal karsinomlu hastalarda aberasyon bölgeleri

Hasta	Başlangıç	Bitiş	Tipi	Büyüklüğü	Kromozom	Başlangıç noktası	Bitiş noktası
1804	1p36.13	1p34.3	Delesyon	17766411.0	1	17197677.5	34964088.5
	2q33.1	2q33.1	Delesyon	153009.0	2	202961021.5	203114030.5
	3p21.31	3p21.1	Delesyon	7777200.5	3	46596995.0	54374195.5
	3p25.3	3p24.3	Delesyon	5510538.0	3	10159766.5	15670304.5
	8p23.3	8p23.2	Delesyon	2114803.0	8	181559.5	2296362.5
	17q12	17q21.31	Delesyon	6130033.0	17	34695784.5	40825817.5
	Xq25	Xq25	Delesyon	37167.0	23	122838333.5	122875500.5
	Xq22.3	Xq22.3	Delesyon	14131.0	23	106759974.5	106774105.5
1054	1p36.31	1p36.22	Delesyon	6326338.0	1	5489860.5	11816198.5
	2q37.3	2q37.3	Delesyon	166994.0	2	242489008.5	242656002.5
	5q13.2	5q13.2	Duplikasyon	302686.5	5	68971776.0	69274462.5
	7q34	7q34	Duplikasyon	271152.0	7	141967583.5	142238735.5
	14q22.2	14q22.2	Duplikasyon	10567.5	14	53486639.0	53497206.5
1298	1p36.13	1p34.3	Delesyon	17456540.0	1	17197677.5	34654217.5
	2q33.1	2q33.2	Delesyon	736731.0	2	202957278.5	203694009.5
	2q37.3	2q37.3	Delesyon	3036433.0	2	239680609.5	242717042.5
	16q23.3	16q24.3	Delesyon	6993332.0	16	816.825.325.000.001	88675864.5
	Xq25	Xq25	Delesyon	37167.0	23	122838333.5	122875500.5
1822	1p36.32	1p33	Delesyon	12605165.0	1	3613407.5	16218572.5
	2p25.3	2p25.2	Delesyon	4868981.5	2	13960.0	4882941.5
	2q11.1	2q12.1	Delesyon	8265447.0	2	94892795.5	103158242.5

	2q33.1	2q33.2	Delesyon	1603753.0	2	202706736.5	204310489.5
	2q37.1	2q37.3	Delesyon	11758339.0	2	230958703.5	242717042.5
	6p25.3	6p24.3	Delesyon	8586409.0	6	108112.5	8694521.5
	6q25.3	6q27	Delesyon	7855260.0	6	156813905.5	164669165.5
	7q22.1	7q22.1	Duplikasyon	1345386.0	7	102919647.5	104265033.5
	12p13.33	12p13.32	Delesyon	4396860.0	12	308479.5	4705339.5
	13q12.11	13q12.3	Delesyon	6274467.5	13	21975749.5	28250217.0
	13q33.3	13q34	Delesyon	5079948.0	13	109030772.5	114110720.5
	16p13.3	16p13.2	Duplikasyon	1752729.0	16	5195625.5	6948354.5
	17		Delesyon				
	18p11.23	18p11.21	Delesyon	5852773.0	18	8098336.5	13951109.5
	18q22.3	18q23	Delesyon	5346947.0	18	70741620.5	76088567.5
2084	3p26.1	3p24.3	Delesyon	8577166.0	3	8502156.5	17079322.5
	5q21.3	5q23.2	Duplikasyon	7441073.0	5	118535508.5	125976581.5
	Xp21.2	Xp21.2	Delesyon	76198.0	23	30582439.5	30658637.5
	Xq25	Xq25	Delesyon	54843.0	23	122820657.5	122875500.5
2468	2q33.1	2q33.1	Delesyon	153426.0	2	202957278.5	203110704.5
	3p26.1	3p24.3	Delesyon	6985362.0	3	8684942.5	15670304.5
	Xq25	Xq25	Delesyon	54843.0	23	122820657.5	122875500.5
	Yq11.221	Yq11.222	Duplikasyon	1011260.0	24	18123310.5	19134570.5
1159	2q37.1	2q37.1	Delesyon	325249.0	2	231873125.5	232198374.5
	3q13.13	3q13.13	Delesyon	474884.0	3	111072618.5	111547502.5
	12q13.13	12q13.13	Delesyon	474893.0	12	52473693.5	52948586.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5

	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
	Xq28	Xq28	Delesyon	292738.0	23	154122701.5	154415439.5
5654	3q13.13	3q13.13	Delesyon	376442.0	3	111072618.5	111449060.5
	5q13.2	5q13.2	Duplikasyon	284723.5	5	68971776.0	69256499.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
1208	2q37.3	2q37.3	Delesyon	166994.0	2	242489008.5	242656002.5
	5q13.2	5q13.2	Duplikasyon	284723.5	5	68971776.0	69256499.5
	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	16p11.2	16p11.2	Duplikasyon	137859.0	16	31999185.5	32137044.5
3410	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	3q13.13	3q13.13	Delesyon	474884.0	3	111072618.5	111547502.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xq28	Xq28	Delesyon	292738.0	23	154122701.5	154415439.5
5897	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
5852	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xq28	Xq28	Delesyon	292738.0	23	154122701.5	154415439.5
2687	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
6309	1p36.32	1p36.32	Delesyon	239184.0	1	2986605.5	3225789.5
	2p24.1	2p24.1	Delesyon	803194.0	2	20334977.5	21138171.5

	2q24.1	2q24.1	Delesyon	255357.0	2	159052828.5	159308185.5
	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
	3q13.13	3q13.13	Delesyon	543794.0	3	111003708.5	111547502.5
	3q26.1	3q26.1	Delesyon	144329.0	3	163879202.5	164023531.5
	6q24.3	6q24.3	Delesyon	235437.0	6	148167977.5	148403414.5
	11q23.1	11q23.1	Delesyon	97455.0	11	111153685.5	111251140.5
	12p12.1	12p12.1	Delesyon	91301.0	12	25377107.5	25468408.5
	12q13.13	12q13.13	Delesyon	255509.0	12	52473693.5	52729202.5
	13q13.3	13q13.3	Delesyon	236044.0	13	37212434.5	37448478.5
	13q14.11	13q14.11	Delesyon	105595.0	13	43636916.5	43742511.5
	14q24.1	14q24.1	Delesyon	168185.0	14	68383641.5	68551826.5
	17p13.3	17p13.3	Delesyon	92693.0	17	3193666.5	3286359.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
	Xq21.1	Xq21.1	Delesyon	212825.0	23	826.444.345.000.001	82857259.5
	Xq28	Xq28	Delesyon	292738.0	23	154122701.5	154415439.5
7360	3p26.3	3p26.3	Delesyon	8518.0	3	2358954.5	2367472.5
	3q13.13	3q13.13	Delesyon	134669.0	3	111314391.5	111449060.5
	6q24.3	6q24.3	Delesyon	116332.0	6	148167977.5	148284309.5
	7q36.3	7q36.3	Delesyon	24254.0	7	156324980.5	156349234.5
	17p13.3	17p13.3	Delesyon	92693.0	17	3193666.5	3286359.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
	Xq21.1	Xq21.1	Delesyon	212825.0	23	826.444.345.000.001	82857259.5

	Xq28	Xq28	Delesyon	292738.0	23	154122701.5	154415439.5
4725	2p11.1	2p11.1	Duplikasyon	353019.0	2	91158298.5	91511317.5
	6q24.3	6q24.3	Delesyon	235437.0	6	148167977.5	148403414.5
	11q23.1	11q23.1	Delesyon	97455.0	11	111153685.5	111251140.5
	12q13.13	12q13.13	Delesyon	255509.0	12	52473693.5	52729202.5
	13q13.3	13q13.3	Delesyon	236044.0	13	37212434.5	37448478.5
	16p11.2	16p11.2	Duplikasyon	102439.5	16	32034605.0	32137044.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
	Xq28	Xq28	Delesyon	194859.0	23	154122701.5	154317560.5
6814	3q13.13	3q13.13	Delesyon	217493.0	3	111162110.5	111379603.5
	6q24.3	6q24.3	Delesyon	116332.0	6	148167977.5	148284309.5
	18q22.3	18q22.3	Delesyon	248723.0	18	70892545.5	71141268.5
	Xp21.1	Xp21.1	Delesyon	19579.0	23	33166120.5	33185699.5
919	3p26.3	3p26.3	Delesyon	26359.0	3	2341113.5	2367472.5
4124	10q22.2	10q22.2	Delesyon	112652.0	10	75145554.5	75258206.5
2612	1p36.32	1p36.32	Delesyon	460542.0	1	3060339.5	3520881.5
	2q37.2	2q37.3	Delesyon	7246810.0	2	235409192.5	242656002.5
	3p25.3	3p24.3	Delesyon	6572231.5	3	10163399.0	16735630.5
	5q13.2	5q13.2	Duplikasyon	179031.0	5	69077468.5	69256499.5
	9q33.3	9q34.3	Delesyon	11250099.0	9	128531487.5	139781586.5
	17p11.2	17p11.2	Delesyon	290663.0	17	17316467.5	17607130.5
12146	2q33.1	2q33.1	Delesyon	95903.0	2	203018127.5	203114030.5

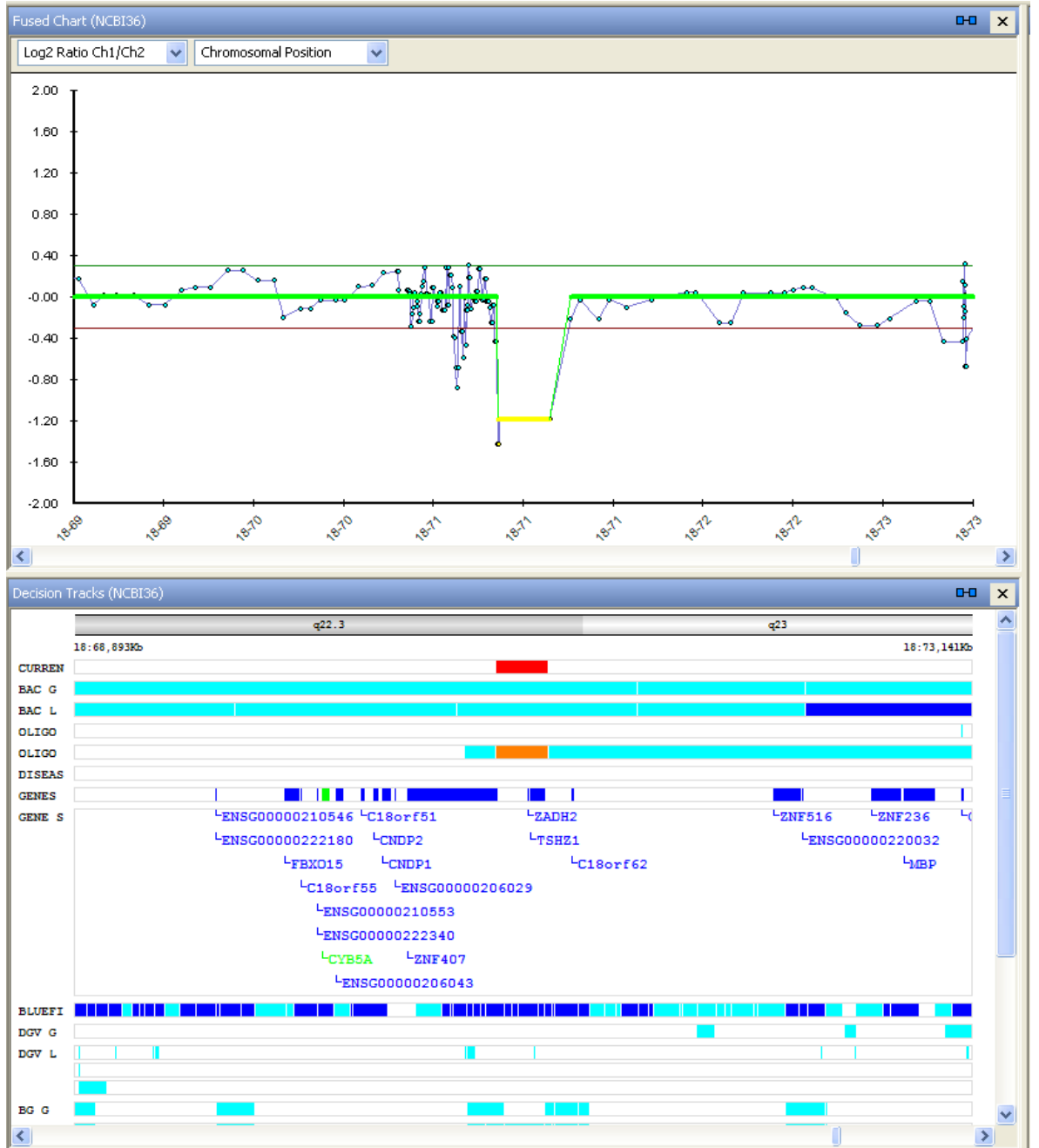
	2q37.3	2q37.3	Delesyon	172438.0	2	242483564.5	242656002.5
8721	2q33.1	2q33.1	Delesyon	168498.0	2	202950123.5	203118621.5
	16p11.2	16p11.2	Duplikasyon	592734.0	16	32208264.0	32800998.0
	17q11.2	17q11.2	Delesyon	451107.0	17	27283580.5	27734687.5
12857	1p36.32	1p36.32	Delesyon	123258.0	1	3150912.5	3274170.5
377	5q13.2	5q13.2	Duplikasyon	251144.0	5	69023318.5	69274462.5
9013	16p11.2	16p11.2	Duplikasyon	1306.5	16	32797578.0	32798884.5

Çizelge 4.2. Berrak hücreli renal karsinomlu hastalarda aberasyonların görülme sıklığı

ABERASYON BÖLGESİ		ABERASYON	HASTA SAYISI
18q22.3	18q22.3	delesyon	10
3p26.3	3p26.3	delesyon	8
3q13.13	3q13.13	delesyon	6
Xp21.1	Xp21.1	delesyon	6
Xq28	Xq28	delesyon	6
5q13.2	5q13.2	duplikasyon	5
6q24.3	6q24.3	delesyon	4
2q37.3	2q37.3	delesyon	4
1p36.32	1p36.32	delesyon	4
16p11.2	16p11.2	duplikasyon	4
Xq25	Xq25	delesyon	4
2q33.1	2q33.1	delesyon	4
12q13.13	12q13.13	delesyon	3
1p36.13	1p34.3	delesyon	2
3p25.3	3p24.3	delesyon	2
2q33.1	2q33.2	delesyon	2
3p26.1	3p24.3	delesyon	2
11q23.1	11q23.1	delesyon	2
13q13.3	13q13.3	delesyon	2
17p13.3	17p13.3	delesyon	2
Xq21.1	Xq21.1	delesyon	2

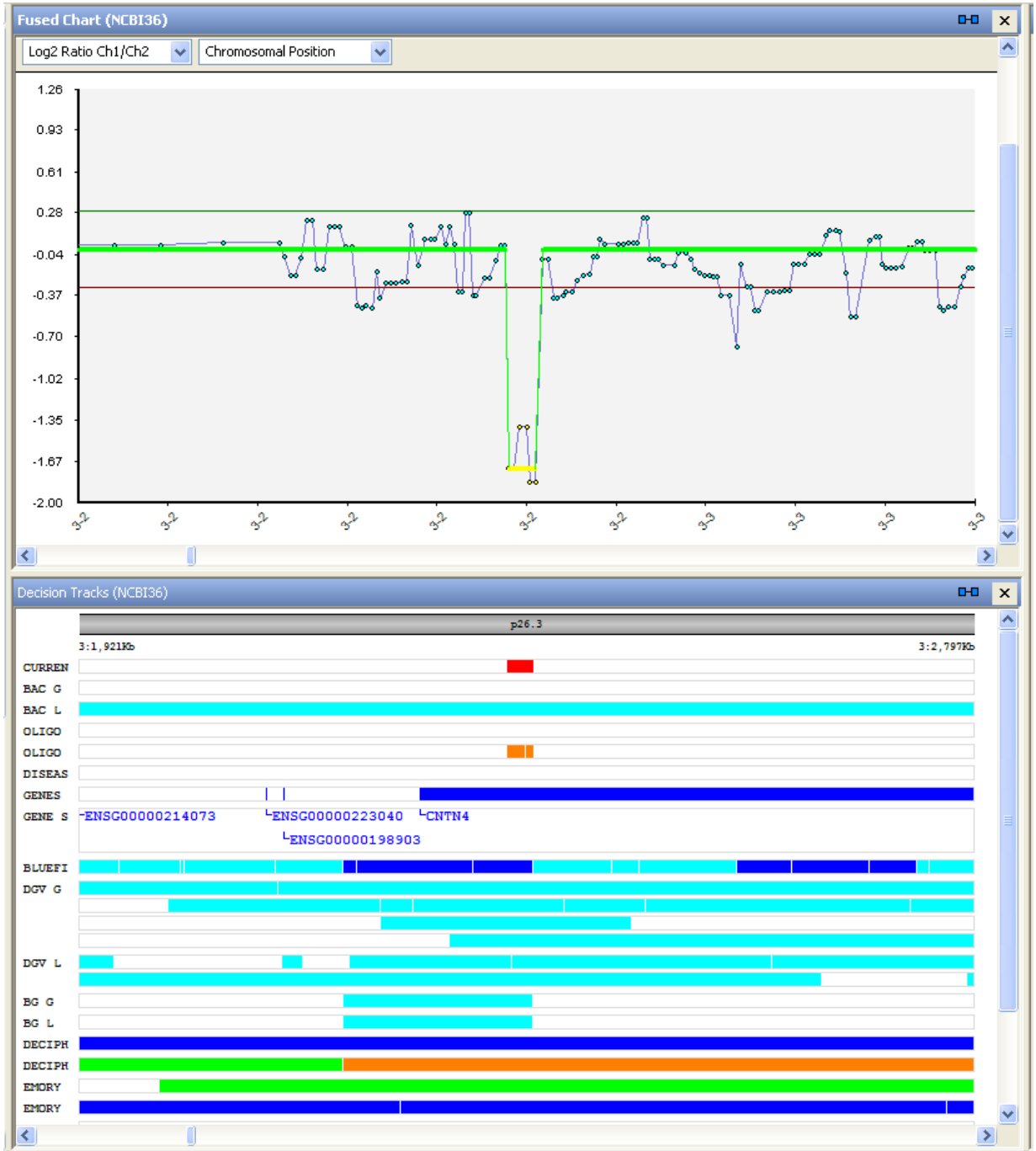
4.3. CGH Array Analiz Sonuçları:

Hastalarımızın 10'unda 18q22.3 delesyonu saptandı. Bu bölge CNDP1 geni içermektedir ve bu gen diabetik nefropatiyle ilişkilidir (Şekil 4.1).



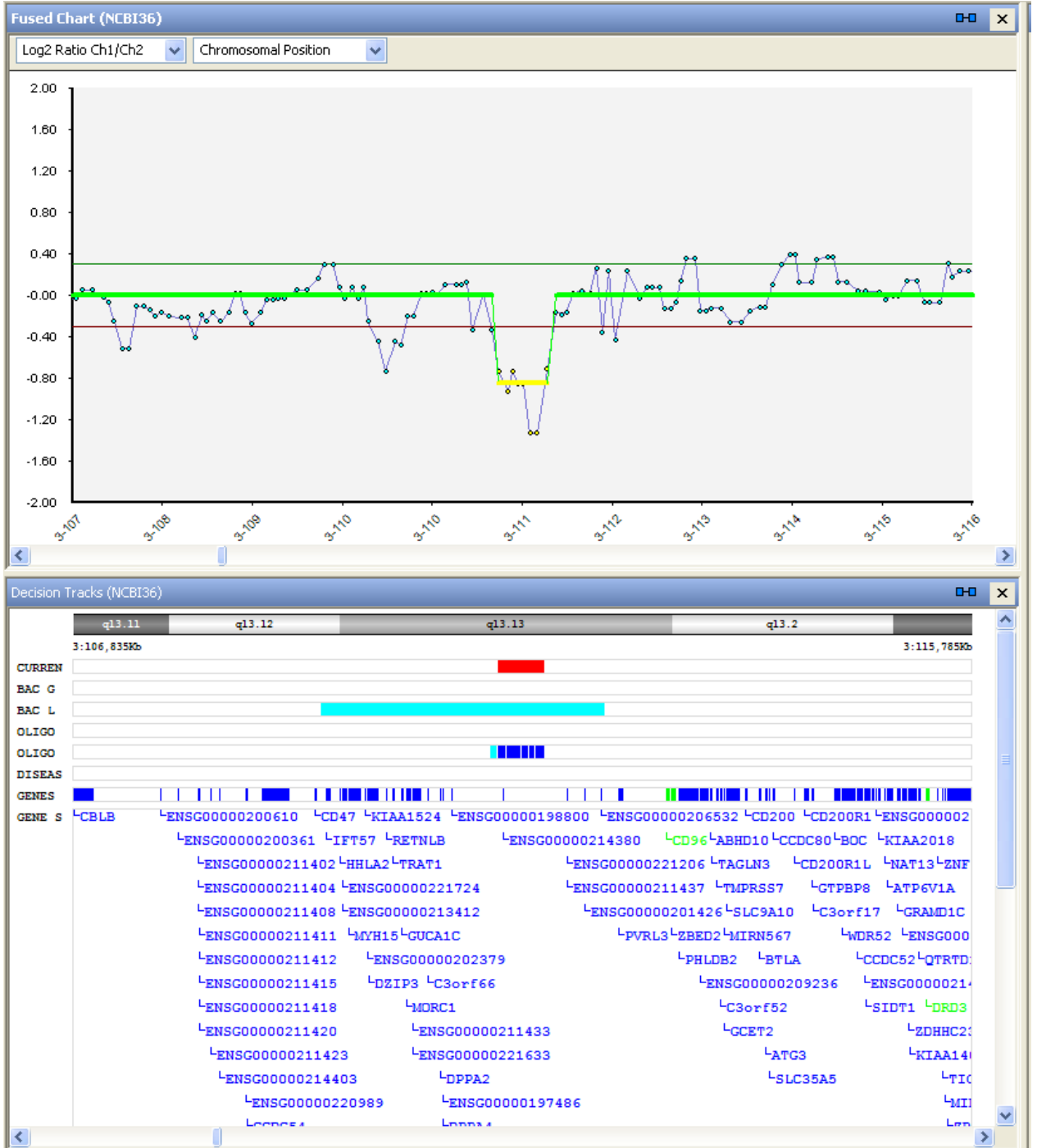
Şekil 4.1: 18q22.3 delesyon bölgesi (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)

Ayrıca hastalarımızın 8'inde 3p26.3 delesyonu saptandı. Bu bölgede görülen delesyonun CNV olduğu düşünülmektedir(Şekil 4.2).



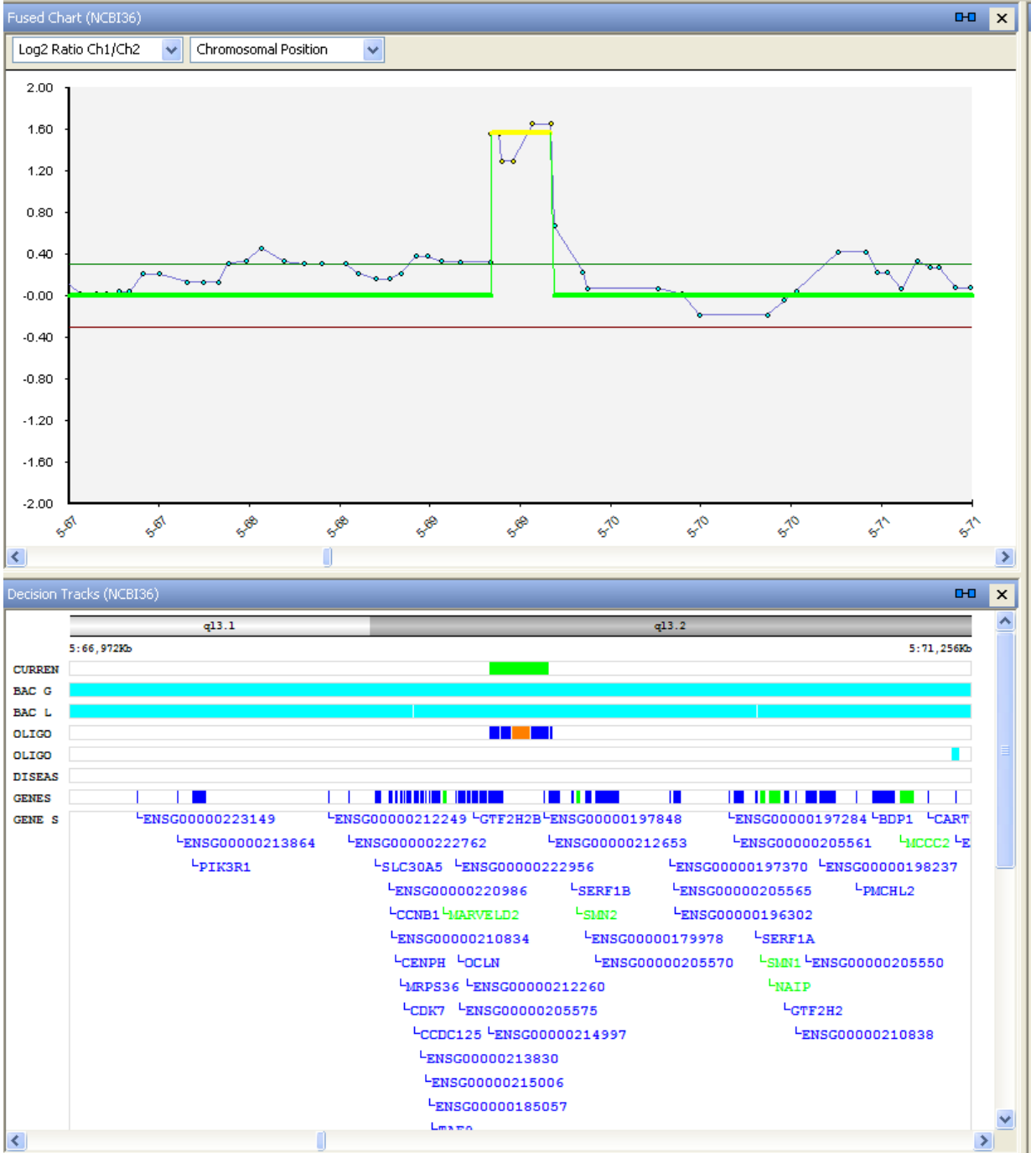
Şekil 4.2. 3p26.3 delesyon bölgesi (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)

Hastalarımızın 6'sında 3q13.13 delesyonu saptandı. Bu bölgede yer alan genlerin renal tümörlerle herhangi bir ilişkisi olmadığı görüldü (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. 3p13.13 delesyon bölgesi (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)

Hastalarımızda saptanan aberasyonların %9.5'i (n:2) duplikasyonlardı. 5 hastamızda 5q13.2 bölgesinde duplikasyon saptadık (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. 5q13.2 duplikasyon bölgesi (BlueFuse Multi software v2.5., Cambridge, UK)

5. TARTIŞMA

Böbrek hücreli karsinom (BHK), en sık görülen erişkin böbrek karsinomu olup, berrak hücreli, papiller ve kromofob olmak üzere birçok alt gruba ayrılır. Tümör alt gruplarının malignite potansiyelleri, prognozları ve optimal tedavileri farklı olduğundan doğru sınıflandırma oldukça önemlidir. Bu sınıflandırma için mikroarray, sitogenetik, immün histokimya gibi yöntemler kullanılır ve bu yöntemlerin her birinin farklı avantaj ve dezavantajları vardır. Bu tez kapsamında array CGH yönteminin BHK'da tanı prognoz ve tedavi yönünden etkinliği araştırılmış yöntemin standartizasyon verifikasyon ve sonuç değerlendirme aşamaları ile ilgili aşamaları optimize edilmiştir. Tezin gerçekleştirilmesi için 31 adet BHK hastası patoloji sonuçları doğrultusunda seçilmiş ve uygun bulunan hastaların parafine emdirilmiş doku örnekleri çalışmaya alınmıştır. Parafine gömülü doku bloklarından tezdeki ana yöntem olan array CGH'e uygun kalite ve kantiteye sahip DNA örnekleri izole edilerek 31 hastanın array CGH analizleri yapılmıştır.

Bu analizler doğrultusunda 31 hastanın 16'sının kromozom düzeyinde majör anomaliler taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Anomali tespit edilen 16 hastanın 11'inde genomun farklı bölgelerinde birden çok delesyon ya da duplikasyon bulunduğu, 5 hastanın ise tek tip aberasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Hastalar tanımlanan aberasyonlar yönünden incelendiğinde, 16 hastamızda toplamda 21 farklı genomik değişimin tanımlandığı görülmektedir. Array CGH analizleri sonucunda belirlenen bu değişimlerin çoğunluğunun delesyonları içerdiği (n:19; % 90.5), geri kalan aberasyonların ise duplikasyonlar olduğu (n:2; % 9.5) belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Yapılan değerlendirmeler sonucunda, belirlenen mutasyonlar içerisinde del18q22.3 (n:10), del3p26.3(n:8), del3q13.13 (n:6), delXp21.1 (n:6), delXq28 (n:6) 'in hastalar arasında yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Sporadik berrak hücreli BHK da en tipik genetik anomali 3p kromozom delesyonudur ve tümörün başlamasında önemli bir basamak olarak kabul edilir. Kromozom 3'ün kısa kolunda, muhtemelen renal karsinomda rol oynayan değişik genler bulunmaktadır. Bunlardan birisi 3p25-26'da von Hippel-Lindau hastalığı tümör supresör genidir (Latif et al. 1993; Gnarra et al .1994). 3p'deki diğer önemli genler PBRM 1 (Varela et al. 2011), RASFF1a (Morissey et al. 2001) ve NRC-1 (Lovell et al. 1999) dir. Son yıllarda multiloküler sistik BHK'da VHL gen mutasyonları bildirilmiş ve multiloküler sistik BHK'un, berrak hücreli BHK'un bir alt

grubu olduğu hipotezini doğrulamıştır (von Teichman 2011). Leiomyomatöz BHK ve berrak hücreli papiller renal kanser arasındaki ilişkinin, VHL mutasyonu ve /veya 3p kayıpları olup olmamasına bağlanması günümüzde tartışmalıdır. Berrak hücreli BHK'da, VHL inaktivasyonu olayı başlatan bir durum olmasından başka, bu tümör tipi ile ilgili, bazıları prognoz ile ilişkili olmak üzere birçok genetik durum bildirilmiştir (Moch et al. 1996; Moch et al. 1997; Schullerus et al. 1997; Jiang et al. 1998; Moch et al. 1998; Bissig et al. 1999; Jiang et al. 2000; Schraml et al. 2002; Mertz et al. 2008; Minner et al. 2012; Moch 2013). Berrak hücreli-BHK'da, array-CGH verileri esas alınarak yapılan genetik araştırmada, 3p kromozom kaybı ile 5q ve 7 kromozom kazanımlarının sıklıkla görüldüğü ve DNA metilasyonundaki değişiklikler ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (Arai et al. 2008). Çalışmamızda 8 hastada 3p kromozom kaybı tespit edilmiştir.

Wilhelm ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 15 adet konvansiyonel BHK incelenmiş ve hepsinde 3p kromozom kaybı görülmüştür. 13 adet papiller BHK incelenmiş ve her birinde 7 ve 17. kromozomlarda kazanım kombinasyonları görülmüştür. 5 adet kromofob BHK de, bu tümör tipi için karakteristik olan kromozomların en az dört tanesinde kazanım kombinasyonları görülmüştür. 9 vaka bu tümör alt sınıflarına uymamış ve onkositoma/normal/diğer kategorisi içinde sınıflandırılmıştır. Bu vakaların iki tanesinde sadece 14q kromozom kaybı görülürken sadece bir vakada 8. kromozom veya 11.kromozom kaybı görülmüştür (minimum değişiklikler olan bu dört vaka onkositoma olarak değerlendirilmiştir). Dört vakada kullanılan hedef moleküllerin hiçbirinde kopya sayısında değişiklik görülmemiştir (normal veya onkositoma olarak kabul edilmiştir). Bir başka vakada 2, 5, 13, 16 ve 20. kromozomlarda kazanım 14. kromozomda kayıp görülmüştür (histolojik olarak konvansiyonel tip olarak sınıflandırılmıştır). Array-CGH teknolojisine dayalı tanı orijinal histolojik tanı ile karşılaştırıldığında iki vakanın doğru olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. Böylece kopya sayısındaki değişiklikler array-CGH teknolojisi ile genomik olarak teşhis edilmiştir (Wilhelm et al. 2002).

Renal karsinomlardaki histolojik heterojenite array-kökenli tümör tanısında kullanılmış; 34 adet malign tümörün 33 tanesi hibridizasyon ile doğru olarak sınıflandırılmış ve alt gruplara ayrılmıştır. Bu sonuçlara göre DNA array analizi renal kanserlerin hemen hemen hepsinde kesin ayırıcı tanı sağlamaktadır. Sonuç olarak kopya sayısı değişikliklerin otomatik, yüksek çözünürlüklü geniş çaplı genom taraması kanser tanısında akılcı bir yaklaşımdır (Wilhelm et al. 2002).

BHK tanısı genellikle Heidelberg-Rochester 1997 sınıflandırmasına göre yapılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre tanı kriterleri şıklarda tanımlandığı gibi

olmaktadır: (a) konvansiyonel BHK'da 3ncü kromozomun p kolunda delesyon veya 5 nci kromozomun q kolunda kazanım ile birlikte 6q, 8p, 9p,veya 14q kromozom bölgelerinin en az iki tanesinde delesyon; (b) papiller böbrek hücreli karsinomda 3q, 7, 8, 12, 16, 17 veya 20nci kromozomların en az iki tanesinde kazanım ve 3p delesyon eksikliği; (c) kromofob BHK'da 1, 2, 6, 10, 13 veya 17.kromozomların en azından iki tanesinde delesyon; (d) eğer genetik profil bu üç kanser grubundan herhangi birine uymuyorsa veya herhangi bir genetik değişiklik yoksa örnek "renal onkositoma/normal ya da diğerleri" olarak sınıflandırılır (Wilhelm et al. 2002). Yukarıdaki sınıflandırmadan da anlaşılacağı üzere renal kanserlerin tanısının konulmasında kromozom anomalilerinin belirlenmesi oldukça önemli bir yer turmaktadır.

Yukarıda adı geçen genom değişimlerinin belirlenmesinde sıklıkla FISH yöntemi kullanılmakta ya da moleküler genetiğin tanı yaklaşımlarından yararlanılmaktadır. Genetik anomalinin belirlenmesine yönelik yapılan analizler gündelik hayatta ve kanser hastalıkları dışında çoğunlukla hastalara ait taze doku yada periferik kan örneklerinde yapılmakta, hastaya sonuç verme süreçlerinde minimum problemle karşılaşılmaktadır. Oysa kanser hastalarında bu süreçler patoloji bilim dalının yer aldığı ön tanımlama aşamalarına ihtiyaç duymakta hasta örnekleri patolojik değerlendirmelerin ardından genetik açıdan testlere tabi tutulmaktadır. Bu durumda konvansiyonel teknikler beklenen tanı değerlerine, spesifite ve sensitiviteye ulaşamamakta, hastanın genetik yönden tanı koyma aşamaları aksayabilmektedir. Tezin kapsamında yer alan ve etkinliği araştırılan array CGH yöntemi klasik yöntemlerin ihtiyaç duyduğu pek çok ön aşamaya (kültür zorunluluğu) ihtiyaç duymaması ve tek bir deneyde tam genomu analiz edebilme kabiliyeti sebebi ile hem FISH hem de moleküler genetik yöntemlerden ayrılmaktadır.

Bu tez kapsamında yapılan deneylerde görülmüştür ki parafine gömülü dokulardan çalışmanın verdiği nükleik asit degradasyonundan kaynaklanan hibridizasyon güçlükleri aCGH'in kapsamı dışında kalmaktadır. Temel unsurun doğru oranda saf DNA izolasyonu olduğu bu tip dokularda sorunsuza yakın oranlarda sonuç elde edilebilmektedir. Ayrıca, yukarıda yer alan sınıflandırmada adı geçen kromozom değişimlerinin tamamı aCGH yöntemi ile 72 saat içerisinde belirlenebilmektedir. Tez hastalarında tanımlanan anomaliler de benzer anomalilerdir ve data analiz süreçlerinde şüpheye yer bırakmayacak doğrulukta tanımlanmışlardır. Bunun altında, değerlendirme süreçlerinin aCGH sistemlerinde kullanılan ve genom analizine spesifik yazılımların ve bilgisayar desteğinin bulunması yatmaktadır. Bu kısım aCGH analizinin diğer yöntemlere kıyasla üstün olduğu diğer önemli bir noktadır. Konvansiyonel analizlerde bilgisayar desteği son zamanlarda

artmasına rağmen son değerlendirme ve karar alma aşamaları kişisel eğitime ve tecrübeye kalmaktadır. Oysa aCGH yönteminde kullanılan yazılımlar kişisel değerlendirmeleri minimuma indirmiş bulunmakta, barındırdığı çeşitli alt yazılımlar ile çıkan sonucu uluslar arası veri bankaları ve laboratuvarın o güne kadar elde ettiği diğer sonuçlarla kolaylıkla kıyaslama ve karşılaştırma olanağını sunabilmektedir.

BHK'un erken teşhis edilmesi zordur. Böbrek kanserlerinin klinik belirti ve semptomları genellikle prognozun kötü olduğu hastalığın geç döneminde ortaya çıkar. BH' un moleküler yapısı ile kliniği arasındaki ilişkinin açıklanması, bu hastalıkta kişiye özgü tedavinin yapılabilmesine olanak sağlayabilir. Moleküler belirleyicilerin potansiyel olarak kullanılması ile şu durumlar öngörülebilir: (a) renal veya ekstarenal diğer tümörlerin riski, (b) prognoz, (c) tedaviye verilen yanıt ve (d) ilaçlara veya tanıya yardımcı ajanlara verilen advers yanıt (Maher et al.2011).

Kalıtsal BHK hastalığı olan kişilerde renal veya renal olmayan primer tümör riski (spesifik hastalığa bağlı olarak) daha fazladır ve bu olgularda yapılan moleküler genetik testler, bir sonraki kuşakta ve yakınlarında tümör riskini doğru olarak tahmin etmemizi sağlayabilir.

Diagnostik patoloji için moleküler belirleyicilerin saptanması gen ekspresyonunun belirlenmesinde önemli bir yaklaşımdır. Komplike olan ekspresyon profillerini belirlemede, farklı olarak ekprese edilen çok sayıda geni analiz eden mikroarrayler kullanılmaktadır. IHC ve kantitatif RT-PCR kullanılarak elde edilen bu farklı ekspresyon profilleri ile klinik patoloji laboratuvarlarında kullanılan diagnostik belirleyiciler tanımlanmıştır (Young et al .2001; Takahashi et al. 2003; Schuetz et al. 2005; Osunkoya et al. 2009). Bu yaklaşım efektif olarak kullanılmakla birlikte kullanımı sınırlıdır çünkü mikroarray çalışmalarının çoğunda gen sayısı deneysel örnek sayısından fazladır. Dolayısı ile değişik ekspresyon profilleri yalancı pozitif (farklı örnekler ve analitik metodlar kullanıldığında doğrulanamayan aday belirleyiciler) ve yalancı negatif (mikroarray çalışmasında az sayıda örnekte ayrıntılı olarak ekprese edilmeyen gerçek belirleyiciler) sonuçlar içerir. Mikroarray teknolojisinin potansiyel katkısını maksimum hale getirmek için geçerliliği en fazla olan aday belirleyicileri tanımlamak amacıyla yeni enformasyon araçları gereklidir. Mikroarray çalışmaları ile birçok böbrek tümörü belirleyicisi tanımlanmıştır. Ancak gen ve protein ekspresyonu heterojen olduğundan daha doğru diagnostik sınıflama yapabilmek için daha fazla belirleyiciye gerek vardır. Osunkoya ve ark (2009) berrak hücreli, papiller ve kromofob BHK olgularının mikroarray profilinde olası renal tümör belirleyicilerini tanımlamak amacıyla önemli biyoinformatik sistemler geliştirmişlerdir; mikroarray verileri

bağımsız iki çalışmadan alınmıştır. Olası böbrek tümörü belirleyicilerini tanımlamak amacıyla mikroarray verilerini kullanarak iyi bir sistem geliştirmişlerdir. Array Wiki biyokompüter sistemi ile mikroarray verileri tek bir dosyada toplandığından gen ekspresyonu fazla sayıda tümörden analiz edilebilmiştir. Bu çalışmadaki aday belirleyiciler karbonik anhidraz IX, seruloplazmin, schwannomin-interacting protein1, E74-benzeri faktör 3, sitokrom c oksidaz subünitesi 5a, ve asetil-CoA asiltransferaz 1 dir. Kantitatif revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu 17 adet berrak hücreli, 13 adet papiller, ve 7 adet kromofob BHK numunesinde yapılmıştır. Tümör alt grupları için değişik tedaviler gelişmeye devam ettiğiinden BHK un tanısında tümör belirleyicilerinin önemli bir yeri vardır.

Günümüzde BHK olgularının büyük bir kısmında, somatik olarak mutasyona uğradığı bilinen genler sadece *VHL* ve *PBRM1* dir. Son yapılan çalışmalara göre, berrak hücreli BHK'da olguların %90'da *VHL* inaktive olmuştur ve bazı çalışmalarda *VHL* mutasyonunun ve/veya tipinin prognostik öneminin olup olmadığı araştırılmıştır. *VHL* mutasyonu olmayan berrak hücreli BHK da prognoz daha kötü olduğu (Yao et al. 2002; Young et al. 2008) ve “fonksiyon kaybı” olan *VHL* mutasyonu içeren sporadik BHK da prognoz missense mutasyonu olanlardan daha kötü olduğu (Schrami et al. 2002; Kim et al. 2005) bildirilmiştir. Berrak hücreli BHK'da, *VHL*'nin sıklıkla inaktive olması ve daha sonra HIF e bağlı anjiogenik yolların aktive olması, metastaz yapmış BHK'da vasküler endotelyal büyüme faktörlerine yönelik tedavilerin rasyonel olarak kullanılmasına olanak sağlar. *VHL*'deki mutasyon durumunun, vasküler endotelyal büyüme faktörlerine yönelik olarak yapılan tedaviye vereceği yanıtı önceden tahmin etmek ilgi odağı olmasına rağmen günümüzde bu ilişki ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Choueiri et al. 2008).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda 31 hastanın 16'sında çeşitli bölgelerde aberasyonlar saptandı. Bu bölgelerde yer alan *VHL* ve *PBRM1* genlerinin renal kanserlerle ilişkili olduğu görüldü. Bu çalışma ile tümör kesitinde gelişen ve periferik kanda görülmeyen genomik değişiklikler ayrıntılı olarak saptanmıştır. Bunun yanında berrak hücreli kanser için daha önce belirlenmemiş yeni aday lokusların varlığı belirlenmiştir. İleri dönemlerde yapılacak çalışmalarda, bu yeni lokusların, berrak hücreli renal kanserler için önemini daha fazla vurgulanacağını ve tanı koymada faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Bir prognostik belirleyici, ideal şartlarda özgün, duyarlı ve tekrarlanabilir olmalı, literatürle iyi desteklenmiş olmalı, hasta takip ve tedavisinde kullanılır olmalıdır. Klinik anlam ifade etmeli ve bağımsız prognostik önemi olmalıdır. Bu şekilde bakıldığında, böbrek hücreli kanserlerde en önemli prognostik faktörler, patolojik evre, derece ve histopatolojik tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunların dışında, birçok anatomik, mikroskopik, sitogenetik ve moleküler belirleyiciler çalışılmaktadır. Böbrek tümörlerinde genetik bozuklukların saptanması doğru tanıyı sağlayacaktır. Bu verilerin klinik, anatomik, patolojik veriler ve moleküler belirleyici bulguları ile birleştirilmesi, daha iyi bir prognostik bilgiye ulaşılmasını ve daha iyi bir bireysel tedavi uygulanmasını sağlayabilir.

Array CGH teknolojisi geleneksel genetik inceleme yöntemlerine göre daha hızlı ve genomik özelliklerin tümünü kapsayan global bir sonuç almayı sağlamaktadır. Array CGH temelli sınıflandırmaların üroonkolojide yaygın uygulanabileceği alan büyük olasılıkla böbrek tümörleri olacaktır. Moleküler yöntemlerin seçilmiş olgularda histopatolojik incelemeye tamamlayıcı olarak kullanılması, her iki yöntemin üstünlüklerini birleştiren en akılcı seçenektir. Array CGH teknolojisi genetik tanı koyma süresini diğer genetik yöntemlere göre belirgin olarak kısaltmaktadır. Bu sayede tanı koyma sürecini hızlandırmanın ve prognoz hakkında kısa dönemde bilgi elde etmenin, uygulanacak tedavi süreçlerine önemli katkısı olduğunu düşünmekteyiz.

Kalıtsal BHK hastalığı olan kişilerde renal veya renal olmayan primer tümör riski (risk spesifik düzensizliğe bağlı olarak) daha fazladır ve bu olgularda yapılan moleküler genetik testler, bir sonraki kuşakta ve yakınlarında tümör riskini doğru olarak tahmin etmemize olanak sağlayacaktır (Maher et al. 2011). Tüm kanser türlerinde olduğu gibi böbrek tümöründe de prognoz ve tedaviye cevabın öngörüsü oldukça önemlidir.

Günümüzde böbrek tümörü üzerinde yapılan çalışmaların en önemli hedefi, hastalığa özgü sağ kalımın öngörüsünde kullanılacak moleküler ve genetik prognostik faktörlerin ortaya konulmasıdır (Gül et al. 2011).

Çalışmamızda, formalinle tespit edilip parafine gömülmüş dokulardan yüksek çıktılı tüm genom analiz yöntemleri oturtulmuş, böylece bu dokularda moleküler inceleme yapılmasının mümkün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile patoloji ve tıbbi genetik anabilim dalları arasında ortak bir çalışma algoritması oturtulmuştur. Ancak daha güvenilir sonuçlar alabilmek için taze dokuya gerek duyulmaktadır. Bu nedenle moleküler çalışmalar için gerekli alt yapının kurulması, üroloji-patoloji-tıbbi genetik işbirliğinin sağlanması ve tümör doku bankalarının oluşturulması hastaların tanı ve tedavisi için yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adams, K.F., Leitzmann, M.F., Albanes, D., et al. (2008) Body size and renal cell cancer incidence in a large US cohort study. *Am J Epidemiol*, 168:268–77.
- Albertson, D.G., Snijders A.M., Pinkel, D. (2003) Current Status and Future Prospects of array Based Comparative Genomic Hybridisation. *Brief Func. Genomic Proteomic* 2(1:3745)
- Albertson, D. G., Ylstra, B., Segev, R., Collins, C., Dairkee, S. H., Kowbel, D., Kuo, W. L., Gray, J. W., Pinkel, D. (2000) Quantitative mapping of amplicon structure by array CGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nat. Genet.*, 25:144-146.
- Algaba, F., Akaza, H., Lopez-Beltran, A., Martignoni, G. et al. (2011) Current Pathology Keys of Renal Cell Carcinoma *Euro Urol*, 60(4):634-643.
- Algaba, F., Akaza, H., Lopez-Beltran A, Martignoni G, Moch H, Montironi R, et al. (2010) Pathology of renal cancer. In: 1st EAU-ICD International Consultation on Kidney Cancer, ed. Kirkali, Z., Mulders, P. p. 47–72.
- Amato, R.J. (2000) Chemotherapy for renal cell carcinoma. *Semin Oncol*, 27:177-86.
- Amin, M.B., MacLennan, G.T., Gupta, R., Grignon, D., Paraf, F., Vieillefond, A., et al. (2009) Tubulocystic carcinoma of the kidney: clinicopathologic analysis of 31 cases a distinctive rare subtype of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.*, 33:384–92.
- Amin, M.B., Gupta, R., Ondrej, H., McKenney, J.K., Michal, M., Young, A.N., et al. (2009) Primary thyroid-like follicular carcinoma of the kidney: report of 6 cases of a histologically distinctive adult renal epithelial neoplasm. *Am J Surg Pathol.*, 33:393–400.
- Amin, M.B., Amin, M.B., Tamboli, P., Javidan, J., Stricker, H., de-Peralta Venturina, M., Deshpande, A., Menon, M. (2002) Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: An experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol* 26: 281-291.
- Arai E, Ushijima S, Tsuda H, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. (2008) Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-comparative genomic hybridization: its association with DNA methylation alteration and patient outcome. *Clin Cancer Res.* ,14(17):5531-9.
- Argani, P., Antonescu, C.R., Couturier, J., Fournet, J.C., Sciot, R., Debiec-Rychter, M., et al. (2002) PRCC-TFE3 renal carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with t(6;11)(p11.2;q21). *Am J Surg Pathol.*, 26:1553–66.
- Argani, P., Antonescu, C.R., Illei, P.B., Lui, M.Y., Timmons, C.F., Newbury, R., et al. (2001) Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. *Am J Surg Pathol.*, 159:179–92.
- Argani, P., Lae, M., Hutchinson, B., Reuter, V.E., Collins, M.H., Perentesis, J., et al. (2005) Renal carcinomas with the t(6;11)(p21;q12): clinicopathologic features and demonstration of the specific alpha-TFEB gene fusion by immunohistochemistry, RT-PCR, and DNA PCR. *Am J Surg Pathol.*, 29:230–40.
- Argani, P., Lal, P., Hutchinson, B., Lui, M.Y., Reuter, V.E., Ladanyi, M. (2003) Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay. *Am J Surg Pathol.*, 27:750–61.

- Argani, P., Olgac, S., Tickoo, S.K., Goldfischer, M., Moch, H., Chan, D.Y., et al. (2007) Xp11 translocation renal cell carcinoma in adults: expanded clinical, pathologic, and genetic spectrum. *Am J Surg Pathol.*, 31:1149–60.
- Atkins, M., Regan, M., McDermott, D., Mier, J., Stanbridge, E., Youmans, A., Febbo, P., Upton, M., Lechpammer, M., Signoretti, S. (2005) Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res*, 11: 3714-3721.
- Awakura, Y., Nakamura, E., Ito, N., Kamoto, T., Ogawa, O. (2008) Methylation-associated silencing of TU3A in human cancers. *International Journal of Oncology*, 33 (4):893–9.
- Banks, R.E., Tirukonda, P., Taylor, C., Hornigold, N., Astuti, D., Cohen, D., et al. (2006) Genetic and epigenetic analysis of von Hippel–Lindau (VHL) gene alterations and relationship with clinical variables in sporadic renal cancer. *Cancer Research*, 66:2000–11.
- Bejjani, B.A. and Shaffer, L.G. (2006) Application of array-based comparative genomic hybridisation to clinical diagnostic. *J. Mol. Diagn.* 8:528-533
- Beroukhi, R., Brunet, J.P., Di Napoli, A., Mertz, K.D., Seeley, A., Pires, M.M., et al. (2009) Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-Hippel Lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Research*, 69:4674–81.
- Bissig, H., Richter, J., Desper, R., Meier, V., Schraml, P., Schäffer, A., et al. (1999) Evaluation of the clonal relationship between primary and metastatic renal cell carcinoma by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol.*, 155(1):267-274
- Bruder, E., Passera, O., Harms, D., Leuschner, I., Ladanyi, M., Argani, P., et al. (2004) Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults. *Am J Surg Pathol.*, 28:1117–32.
- Brugarolas, J. (2007) Renal-cell carcinoma-molecular pathways and therapies. *N Eng J Med* 356:185-7.
- Bui, M.H., Seligson, D., Han, K.R., Pantuck, A.J., Dorey, F.J., Huang, Y., Horvath, S., Leibovich, B.C., Chopra, S., Liao, S.Y., Stanbridge, E., Lerman, M.I., Palotie, A., Figlin, R.A., Belldegrun, A.S. (2003) Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: Implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res*, 9: 802-811.
- Bullock, A., McDermott, D.F., Atkins, M.B. (2010) Management of metastatic renal cell carcinoma in patients with poor prognosis. *Cancer Manag Res.*, 2:123-32.
- Chao, D., Zisman, A., Pantuck, A.J., Gitlitz, B.J., Freedland, S.J., Said, J.W., Figlin, R.A., Belldegrun, A.S. (2002) Collecting duct renal cell carcinoma: Clinical study of a rare tumor. *J Urol.*, 167: 71-74.
- Chen, J., Lui W-O., Vos, M.D., Clark, G.J., Takahashi, M., et al. (2003) The t(1;3) breakpoint-spanning genes LSAMP and NORE1 are involved in clear cell renal cell carcinomas. *Cancer Cell*, 4:405–13.
- Cheng, L., MacLennan, G.T., Zhang, S., et al. (2008) Evidence for polyclonal origin of multifocal clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.*, 14:8087-8093.
- Cheng, L., Zhang, D. (2008) *Molecular genetic pathology*. Totowa, N.J: Humana Press/Springer.
- Cheng, L., Zhang, S., MacLennan, G.T., Lopez-Beltran, A., Montironi, R. (2009). Molecular and cytogenetic insights into the pathogenesis, classification, differential diagnosis, and prognosis of renal epithelial neoplasms *Hum Pathol.*, 40:10-29.
- Cheung, V. G., Nowak, N., Jang, W., Kirsch, I. R., Zhao, S., Chen, X. N., Furey, T. S., Kim, U. J., Kuo, W. L., Olivier, M., Conroy, J., Kasprzyk, A., Massa, H., Yonescu, R., Sait, S., Thoreen, C., Snijders, A.,

- Lemyre, E., Bailey, J. A., Bruze, I. A., Burrill, W. D., Clegg, S. M., Collins, S., Dhimi, P., Friedman, C., Han, C. S., Herrick, S., Lee, J., Ligon, A. H., Lowry, S., Morley, M., Narasimhan, S., Osoegawa, K., Peng, Z., Plajzer-Frick, I., Quade, B. J., Scott, D., Sirotkin, K., Thorpe, A. A., Gray, J. W., Hudson, J., Pinkel, D., Ried, T., Rowen, L., Shen-Ong, G. L., Strausberg, R. L., Birney, E., Callen, D. F., Cheng, J. F., Cox, D. R., Doggett, N. A., Carter, N. P., Eichler, E. E., Haussler, D., Korenberg, J. R., Morton, C. C., Albertson, D., Schuler, G., de Jong, P. J., Trask, B. J. (2001) The BAC Resource Consortium. Integration of cytogenetic landmarks into the draft sequence of the human genome. *Nature (Lond.)*, 409:953-958.
- Chevillat, J.C., Lohse, C.M., Zincke, H., Weaver, A.L., Blute, M.L. (2003) Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.*, 27:612-24.
- Choi, H., Chun, Y.S., Kim, T.Y., Park, J.W. (2010) HIF-2 α enhances beta-catenin/TCF-driven transcription by interacting with beta-catenin. *Cancer Research*, 70:10101-11.
- Choueiri, T.K., Vaziri, S.A., Jaeger, E., Elson, P., Wood, L., Bhalla, I.P., et al. (2008) von Hippel-Lindau gene status and response to vascular endothelial growth factor targeted therapy for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Journal of Urology*, 180:860-5.
- Chow, W.H., Dong, L.M., Devesa, S.S., et al. (2010) Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol.*, 7(5):245-57.
- Clague, J., Lin, J., Cassidy, A., Matin, S., Tannir, N.M., Tamboli, P., et al. (2009) Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 18:801-7.
- Clifford, S.C., Prowse, A.H., Affara, N.A., Buys, C.H., Maher, E.R. (1998) Inactivation of the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor gene and allelic losses at chromosome arm 3p in primary renal cell carcinoma: evidence for a VHL-independent pathway in clear cell renal tumour genesis. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 22:200-9.
- Cohen, H.T., McGovern, F.J. (2005) Renal-cell carcinoma. *N Eng J Med.*, 353:2477-90.
- Contractor, H., Zariwala, M., Bugar, P., Zeisler, J., Kovacs, G. (1997) Mutation of the p53 tumor suppressor gene occurs preferentially in the chromophobe type of renal cell tumor. *J Pathol*, 181: 136-139.
- Couturier, J. (2008) Genomic classification of renal cell tumors in adults. *Ann Pathol.*, 28(5):402-8.
- Curti, B.D. (2004) Renal cell carcinoma. *JAMA* 292:97-100.
- Çine, N., Savlı, H. (2010)a 1. Array CGH Kursu Kocaeli Üniversitesi .
- Çine, N., Savlı, H. (2010)c 3. Array CGH Kursu Kocaeli Üniversitesi .
- Dal Cin, P. (2003). Genetics in renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol.*, 13(6):463-6.
- Dalgliesh, G.L., Furge, K., Greenman, C., Chen, L., Bignell, G., Butler, A., et al. (2010) Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature*, 463:360-3.
- Dekel, Y., Koren, R., Kugel, V., Livne, P.M., Gal, R. (2002) Significance of angiogenesis and microvascular invasion in renal cell carcinoma. *Pathology Oncology Research*, 8(2): 129-132.
- Delahunt, B., Eble, J.N. (1997) Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod. Pathol.*, 10:537-44.

- de Peralta-Venturina, M., Moch, H., Amin, M., Tamboli P., Hailemariam, S., Mihatsch, M., Javidan, J., Stricker, H., Ro, J.Y., Amin, M.B. (2001) Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: A study of 101 cases. *Am J Surg Pathol*, 25: 275-284.
- DiBiase,S.J.,Valicenti, R.K.,Schultz, D.,Xie, Y.,Gomella, L.G.,Corn, B.W.(1997) Palliative irradiation for focally symptomatic metastatic renal cell carcinoma:support for dose escalation based on a biological model. *J Urol* 158:746-9.
- Dominguez, M.G., Yuan, J.M., Castelao, J.E., Ross, R.K., Yu, M.C. (2001) Family history and risk of renal cell carcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 10:1001-1004.
- Dreijerink, K., Braga, E., Kuzmin, I., Geil, L., Duh, F.M., Angeloni, D., et al. (2001) The candidate tumor suppressor gene, RASSF1A, from human chromosome 3p21.3 is involved in kidney tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:7504–9.
- Duns, Gç, van den Berg, Eç, van Duivenbode, Iç, Osinga, Jç, Hollema, H., Hofstra, R.M., Kok, K. (2010) Histone methyltransferase gene SETD2 is a novel tumor suppressor gene in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 70:4287–91.
- Eble, J.N. (2003) Renal Neoplasia. In : *Modern Surgical Pathology* ,ed. Weidner, N., Cote, R.J., Suster, S., Weiss ,L.M.,. 1st ed. Saunders , p.1065-1101.
- Eble, J.N., Bonsib, S.M. (1998) Extensively cystic renal neoplasms: cystic nephroma, cystic partially differentiated nephroblastoma, multilocular cystic renal cell carcinoma, and cystic hamartoma of renal pelvis. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 15:2–20.
- Eble, J.N.,Togashi, K., Pisani, P. (2004). Tumors of the Kidney. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. In: *World Health Organization Classification of Tumours*, ed. Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I., Sesterhenn, I.A. 9-87, Lyon, France: IARC Press.
- Edeline J, Mottier S, Vigneau C, Jouan F, Perrin C, Zerrouki S, Fergelot P, Patard JJ, Rioux-Leclercq N. (2012) Description of 2 angiogenic phenotypes in clear cell renal cell carcinoma. *Hum Pathol.*, 43(11):1982-90.
- el-Naggar, A.K., Batsakis, J.G., Wang, G., Lee, M.S. (1993) PCR based RFLP screening of the commonly deleted 3p loci in renal cortical neoplasms. *Diagn Mol Pathol.*, 2: 269-276.
- Ferlay, J., Shin, H.R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, D.M. (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*, 15:2893–917.
- Flanigan, R.C., Polcari, A.J., Hugen, C.M. (2011) Prognostic variables and nomograms for renal cell carcinoma. *Int J Urol.*,18(1):20-31.
- Foster, K., Prowse, A., van den Berg, A., Fleming, S., Hulsbeek, M.M., Crossey, P.A.,et al (1994) Somatic mutations of the von Hippel–Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma. *Human Molecular Genetics*, 3:2169–73.
- Fox, S.B. (1997) Tumour angiogenesis and prognosis. *Histopathology*, 30:294-301.
- Fuhrman, S.A., Lasky, L.C., Limas, C.L. (1982) Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.*, 6: 655-663.
- Furge, K.A., Chen, J., Koeman, J., Swiatek, P., Dykema, K., Lucin, K., et al.(2007) Detection of DNA copy number changes and oncogenic signalling abnormalities from gene expression data reveals MYC activation in high-grade papillary renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 67:3171–6.
- Gelb, A.B., Shibuya, R.B., Weiss, L.M., Medeiros, L.J. (1993) Stage I renal cell carcinoma. A clinicopathologic study of 82 cases. *Am J Surg Pathol.*, 17: 275-286.

- Gnarra, J.R., Tory, K., Weng, Y., Schmidt, L., Wei, M.H., Li, H., et al. (1994) Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nature Genetics*, 7:85–90.
- Gobbo, S., Eble, J.N., Grignon, D.J., Martignoni, G., Maclennan, G.T., Shah, R.B., et al. (2008) Clearcell papillary renal cell carcinoma: a distinct histopathologic and molecular genetic entity. *Am J Surg Pathol.*, 32:1239–45.
- Gordan, J.D., Lal, P., Dondeti, V.R., Letrero, R., Parekh, K.N., Oquendo, C.E., et al. (2008) HIF-alpha effects on c-Myc distinguish two subtypes of sporadic VHL-deficient clear cell renal carcinoma. *Cancer Cell*, 14:435–46.
- Gregori-Romero, M.A., Morell-Quadreny, L., Llombart-Bosch, A. (1996) Cytogenetic analysis of three primary Bellini duct carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 15: 170-172.
- Grignon, D., Eble, J., Bonsib, S., Moch, H. (2004) Tumors of the Kidney, Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. In: World Health Organization Classification of Tumours, ed. Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I., Sesterhenn, I.A. p. 23–5, Lyon, France: IARC Press.
- Gui, Y., Guo, G., Huang, Y., Hu, X., Tang, A., Gao, S., et al. (2011) Frequent mutations of chromatin remodeling genes in transitional cell carcinoma of the bladder. *Nature Genetics*, 43:875–8.
- Güçer, H. (2006). Renal hücreli (berrak hücreli tip) karsinomlarda COX-2 ekspresyonu ve mikrodamar yoğunluğunun klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılması . Uzmanlık tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, İstanbul.
- Gül, Ü., Yayıoğlu, Ö. (2011) Böbrek tümörlerinde prognostik faktörlerle öngörü modelleri. *Üroonkoloji Bülteni*, 3:5-10.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000) The hallmarks of cancer. *Cell*, 100:57-70.
- Hashimoto, Y., Kondo, Y., Kimura, G., Matsuzawa, I., Sato, S., Ishizaki, M., Imura, N., Akimoto, M., Hara, S. (2004). Cyclooxygenase-2 expression and relationship to tumour progression in human renal cell carcinoma. *Histopathology*; 44:353-359.
- Heiskanen, M. A., Bittner, M. L., Chen, Y., Khan, J., Adler, K. E., Trent, J. M., Meltzer, P. S. (2000) Detection of gene amplification by genomic hybridization to cDNA microarrays. *Cancer Res.*, 60:799-802.
- Herbers, J., Schullerus, D., Müller, H., Kenck, C., Chudek, J., Weimer, J., Peter, B., Gyula, K. (1997) Significance of chromosome arm 14q loss in nonpapillary renal cell carcinomas. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 19:29–35.
- Herman, J.G., Latif, F., Weng, Y., Lerman, M.I., Zbar, B., Liu, S., et al. (1994) Silencing of the VHL tumour-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma. *Proc Natl AcadSci of the United States of America*, 91:9700–4.
- Hughson, M.D., Johnson, L.D., Silva, F.G., Kovacs, G. (1993) Nonpapillary and papillary renal cell carcinoma: a cytogenetic and phenotypic study. *Modern Pathology*, 6:449–56.
- Iliopoulos, O. (2006) Molecular biology of renal cell cancer and the identification of therapeutic targets. *J Clin. Oncol.*, 24:5593-5600.
- Issa, J-P.J, Kantarjian, H.M. (2009) Targeting DNA methylation. *Clinical Cancer Research*, 15:3938–46.
- Jankowska, A.M., Makishima, H., Tiu, R.V., Szpurka, H., Huang, Y., Traina, F., et al. (2011) Mutational spectrum analysis of chronic myelomonocytic leukemia includes genes associated with epigenetic regulation: UTX, EZH2, and DNMT3A. *Blood*, 118:3932–41.

- Jeffers, M., Schmidt, L., Nakaigawa, N., et al. (1997) Activating mutations for the met tyrosine kinase receptor in human cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 94:11445-50.
- Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., et al. (2010) Cancer statistics, *CA Cancer J Clin.* 60(5):277-300.
- Jensen, L.R., Amende, M., Gurok, U., Moser, B., Gimmel, V., Tzschach, A., et al. (2005) Mutations in the JARID1C gene, which is involved in transcriptional regulation and chromatin remodeling, cause X-linked mental retardation. *American Journal of Human Genetics*, 76:227-36.
- Jiang, F., Desper, R., Papadimitriou, C.H., Schaffer, A.A., Kallioniemi, O.P., Richter, J., et al. (2000) Construction of evolutionary tree models for renal cell carcinoma from comparative genomic hybridization data. *Cancer Research*, 60:6503-9.
- Jiang, F., Moch, H., Richter, J., Egenter, C., Gasser, T., Bubendorf, L., et al. (1998) Comparative genomic hybridization reveals frequent chromosome 13q and 4q losses in renal carcinomas with sarcomatoid transformation. *Journal of Pathology*, 185:382-8.
- Jiang, F., Richter, J., Schraml, P., Bubendorf, L., Gasser, T., Sauter, G., et al. (1998) Chromosomal imbalances in papillary renal cell carcinoma: genetic differences between histological subtypes. *American Journal of Pathology*, 153:1467-73.
- Jones, T.D., Eble, J.N., Cheng, L. (2005) Application of molecular diagnostic techniques to renal epithelial neoplasms. *Clin Lab Med.*, 25:279-303.
- Jung, S.J., Chung, J.I., Park, S.H., et al. (2006) Thyroid follicular carcinoma-like tumor of kidney: a case report with morphologic, immunohistochemical, and genetic analysis. *Am J Surg Pathol.*, 30:411-5.
- Kaelin, W.G. (2002) Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nat Rev Cancer.*; 2(9):673-82.
- Kallioniemi, A., Kallioniemi, O.P., Sudar, D., Gray, J.W., Waldman, F., Pinkel, D. (1992) Comparative Genomic Hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumor. *Science*. 258(5083):818-821
- Kim, J.H., Jung, C.W., Cho, Y.H., Lee, J., Lee, S.H., Kim, H.Y., et al. (2005) Somatic VHL alteration and its impact on prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncology Reports*; 13:859-64.
- Kim, H.L., Seligson, D., Liu, X., Janzen, N., Bui, M.H., Yu, H., Shi, T., Figlin, R.A., Horvath, S., Belldegrun, A.S. (2004) Using protein expressions to predict survival in clear cell renal carcinoma. *Clin Cancer Res.*, 10: 5464-5471.
- Kim, H.J., Shen, S.S., Ayala, A.G., Ro, J.Y., Truong, L.D., Alvarez, K., Bridge, J.A., Gatalica, Z., Hagenkord, J.M., Gonzalez-Berjon, J.M., Monzon, F.A. (2009) Virtual-karyotyping with SNP microarrays in morphologically challenging renal cell neoplasms: a practical and useful diagnostic modality. *Am J Surg Pathol.*, 33(9):1276-86.
- Kirkali, Z., Çelebi, İ., Akan, G., Yörükoğlu, K. (1996) Bellini duct (collecting duct) carcinoma of the kidney. *Urology*, 47: 921-923.
- Koski, T.A., Lehtonen, H.J., Jee, K.J., Ninomiya, S., Joosse, S.A., Vahteristo, P., et al. (2009) Array comparative genomic hybridization identifies a distinct DNA copy number profile in renal cell cancer associated with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 48:544-51.
- Kovacs, G. (1994) The value of molecular genetic analysis in the diagnosis and prognosis of renal cell tumours. *World J Urol.*, 12(2):64-8.

- Kovacs, G., Akhtar, M., Beckwith, B. J., Bugert, P., Cooper, C. S., Delahunt, B., Eble, J. N., Fleming, S., Ljungberg, B., Medeiros, L. J., Moch, H., Reuter, V. E., Ritz, E., Roos, G., Schmidt, D., Srigley, J. R., Storkel, S., van den Berg, E., Zbar, B. (1997) The Heidelberg classification of renal cell tumours. *J. Pathol.*,183:131-133,
- Kovacs, G., Erlandsson, R., Boldog, F., Ingvarsson, S., Müller-Brechlin, R., Klein, G., Sümegi, J. (1988) Consistent chromosome 3p deletion and loss of heterozygosity in renal cell carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85:1571–5.
- Kovacs, G., Frisch, S. (1989) Clonal chromosome abnormalities in tumor cells from patients with sporadic renal cell carcinomas. *Cancer Res.*, 49: 651-659.
- Kulis, M., Esteller, M. (2010) DNA methylation and cancer. *Advances in Genetics*, 70:27–56.
- Kvasha, S., Gordiyuk, V., Kondratov, A., Ugryn, D., Zgonnyk, Y.M., Rynditch, A.V., Vozianov, A.F. (2008) Hypermethylation of the 5_CpG island of the FHIT gene in clear cell renal carcinomas. *Cancer Letters*, 265:250–7.
- Latif, F., Tory, K., Gnarr, J., Yao, M., Duh, F.M., Orcutt, M.L., et al. (1993) Identification of the von Hippel–Lindau disease tumor suppressor gene. *Science*, 260: 1317–20.
- Leibovich, B.C., Lohse, C.M., Crispen, P.L., et al. (2010) Histological subtype is an independent predictor of outcome for patients with renal cell carcinoma. *J Urol.*,183:1309–15.
- Leppert, J.T., Lam, J.S., Pantuck, A.J., Figlin, R.A., Belldegrun, A.S. (2005) Carbonic anhydrase IX and the future of molecular markers in renal cell carcinoma. *BJU Int.*, 96: 281-285.
- Leppert, J.T., Pantuck, A.J. (2006) Significance of gene expression analysis of renal cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* , 6(2):293-9.
- Limon, J., Mrózek, K., Heim, S., Elfving, P., Nedoszytko, B., Babinska, M., et al. (1990) On the significance of trisomy 7 and sex chromosome loss in renal cell carcinoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 49:259–63.
- Linehan, W.M., Gnarr, J.R., Lerman, M.I., Latif, F., Zbar, B. (1993) Genetic basis of renal cell cancer. *Important Advances in Oncology*,47–70.
- Ljungberg, B., Campbell, S.C., Cho, H.Y., et al. (2011) The Epidemiology of Renal Cell Carcinoma *Euro Urol.*, 60(4):615–621.
- Ljungberg, B., Cowan, N., Hanbury, D.C., Hora, M., et al. (2010) Guidelines on renal cell carcinoma. *European Association of Urology* .
- Lorincz, T., Timar, J., Szendroi, M. (2004) Alterations of microvascular density in bone metastases of adenocarcinomas. *Pathology Oncology Research*, 10:149-153.
- Lopez-Beltran, A., Scarpelli, M., Montironi, R., Kirkali, Z. (2006) 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol.*, 49:798-805.
- Lovell, M., Lott, S.T., Wong, P., El-Naggar, A., Tucker, S., Killary, A.M. (1999) The genetic locus NRC-1 within chromosome 3p12 mediates tumor suppression in renal cell carcinoma independently of histological type, tumor microenvironment, and VHL mutation. *Cancer Research*, 59:2182–9.
- Lu, H., Lin, C., Zheng, Z., Li, S., Guo, S., Zhang, X., Fu, M., Liang, X., Wu, M. (2005) Angiogenesis inhibitor Z24 induces endothelial cell apoptosis and suppresses tumor growth and metastasis. *J Pharmacol Sci.*, 97:533-540.

Lubinski, J., Hadaczek, P., Podolski, J., Toloczko, A., Sikorski, A., McCue, P., et al. Common regions of deletion in chromosome regions 3p12 and 3p14.2 in primary clear cell renal carcinomas. (1994) *Cancer Research*, 54:3710–3.

Macher-Goeppinger, S., Roth, W., Wagener, N., Hohenfellner, M., Penzel, R., Haferkamp, A., et al (2011) Molecular heterogeneity of TFE3 activation in renal cell carcinomas. *Modern Pathology*, <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2011.169>.

Maher, E.R. (2011) Genetics of familial renal cancers. *Nephron Experimental Nephrology*, 118:e21–6.

Maher, E.R. (2013) Genomics and epigenomics of renal cell carcinoma. *Semin Cancer Biol.*, 23(1):10–7.

Maher, E.R., Yates, J.R., Ferguson-Smith, M.A. (1990) Statistical analysis of the two stage mutation model in von Hippel–Lindau disease, and in sporadic cerebellar haemangioblastoma and renal cell carcinoma. *Journal of Medical Genetics*, 27:311–4.

Mancin, V., Battaglia, M., Ditunno, P., Palazzo, S., Lastilla, G., Montironi, R., Bettocchi, C., Cavalcanti, E., Ranieri, E., Selvaggi, F.P. (2008) Current insights in renal cell cancer pathology. *Urol Oncol.*, 26(3):225–38.

Matsuda, D., Khoo, S.K., Massie, A., Iwamura, M., Chen, J., Petill, D., et al. (2008) Identification of copy number alterations and its association with pathological features in clear cell and papillary RCC. *Cancer Letters*, 272:260–7.

Medeiros, L.J., Gelb, A.B., Weiss, L.M. (1988) Renal cell carcinoma. Prognostic significance of morphologic parameters in 121 cases. *Cancer*, 61:1639–1651.

Mertz, K.D., Demichelis, F., Sboner, A., Hirsch, M.S., Dal Cin, P., Struckmann, K., et al. (2008) Association of cytokeratin 7 and 19 expression with genomic stability and favorable prognosis in clear cell renal cell cancer. *International Journal of Cancer*, 123:569–76.

Minner, S., Rump, D., Tennstedt, P., Simon, R., Burandt, E., Terracciano, L., et al. (2012) Epidermal growth factor receptor protein expression and genomic alterations in renal cell carcinoma. *Cancer*, 118:1268–75.

Moch, H., Presti, J.C., Jr Sauter, G., Buchholz, N., Jordan, P., Mihatsch, M.J., Waldman, F.M. (1996) Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma. *Cancer Res.*, 56: 27–30.

Moch, H. (2013) An overview of renal cell cancer: Pathology and genetics. *Semin Cancer Biol.*, 23(1):3–9.

Moch, H., Gasser, T., Amin, M.B., Torhorst, J., Sauter, G., Mihatsch, M.J. (2000) Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer*, 89:604–14.

Moch, H., Presti Jr, J.C., Sauter, G., Buchholz, N., Jordan, P., Mihatsch, M.J., et al. (1996) Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 56:27–30.

Moch, H., Sauter, G., Buchholz, N., Gasser, T.C., Bubendorf, L., Waldman, F.M., et al. (1997) Epidermal growth factor receptor expression is associated with rapid tumor cell proliferation in renal cell carcinoma. *Human Pathology*, 28:1255–9.

Moch, H., Sauter, G., Gasser, T.C., Bubendorf, L., Richter, J., Presti Jr, J.C., et al. (1998) EGF-r gene copy number changes in renal cell carcinoma detected by fluorescence in situ hybridization. *Journal of Pathology*, 184:424–9.

- Moch, H., Sauter, G., Gasser, T.C., Buchholz, N., Bubendorf, L., Richter, J., et al. (1997) p53 protein expression but not mdm-2 protein expression is associated with rapid tumor cell proliferation and prognosis in renal cell carcinoma. *Urological Research*, 25(Suppl. 1):S25–30.
- Moch, H., Schram, I. P., Bubendorf, L., Mirlacher, M., Kononen, J., Gasser, T., et al. (1999) High throughput tissue microarray analysis to evaluate genes uncovered by cDNA microarray screening in renal cell carcinoma. *American Journal of Pathology*, 154:981–6.
- Montiron, R., Santinelli, A., Pomante, R., Mazzucchelli, R., Colanzi, P., Filho, A.L., Scarpelli, M. (2000) Morphometric index of adult renal cell carcinoma. Comparison with the Fuhrman grading system. *Virchows Arch*, 437:82-89.
- Morais, C., Gobe, G., Johnson, D.W., Healy, H. (2011) The emerging role of nuclear factor kappa B in renal cell carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol.*, 43(11):1537-49.
- Morra, L., Rechsteiner, M., Casagrande, S., Duc Luu, V., Santimaria, R., Diener, P.A., et al. (2011) Relevance of periostin splice variants in renal cell carcinoma. *American Journal of Pathology*, 179:1513–21.
- Morris, M.R., Hughes, D.J., Tian, Y.M., Ricketts, C.J., Lau, K.W., Gentle, D., et al. (2009) Mutation analysis of hypoxia-inducible factors HIF1A and HIF2A in renal cell carcinoma. *Anticancer Research*, 29:4337–43.
- Morris, M.R., Gentle, D., Abdulrahman, M., Maina, E.N., Gupta, K., Banks, R.E., et al. (2005) Tumor suppressor activity and epigenetic inactivation of hepatocyte growth factor activator inhibitor type 2/SPINT2 in papillary and clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 65:4598–606.
- Morris, M.R., Maher, E.R. (2010) Epigenetics of renal cell carcinoma: the path towards new diagnostics and therapeutics. *Genome Medicine*, 2:59.
- Morrissey, C., Martinez, A., Zatyka, M., Agathangelou, A., Honorio, S., Astuti, D., et al. (2001) Epigenetic inactivation of the RASSF1A 3p21.3 tumor suppressor gene in both clear cell and papillary renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 61:7277–81.
- Motzer, R.J., Bukowski, R.M. (2006) Targeted therapy for metastatic renal cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 24:5601–8.
- Murphy, W.M., Beckwith, J.C., Farrow, G.M. (1994). Normal Anatomy. In : Rosai J, Sobin LH, editor. *Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures* . AFIP :1-11.
- Nagashima, Y., Inayama, Y., Kato, Y., Sakai, N., Kanno, H., Aoki, I., Yao, M. (2004). Pathological and molecular biological aspects of the renal epithelial neoplasms, up-to-date. *Pathol Int.*, 54(6):377-86
- Nanus, D.M., Mentle, I.R., Motzer, R.J., Bander, N.H., Albino, A.P. (1990) Infrequent ras oncogene point mutations in renal cell carcinoma. *J Urol.*, 143: 175-178.
- Neumann, H.P., Bender, B.U., Berger, D.P., Laubenberger, J., Schultze-Seemann, W., Wetterauer, U., et al. (1998) Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel–Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. *Journal of Urology* , 160:1248–54.
- Nouh, M.A., Kuroda, N., Yamashita, M., et al. (2010) Renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease: relationship between histological type and duration of dialysis. *BJU Int.*, 105:620–7.
- Onufrey, V., Mohiuddin, M. (1985) Radiation therapy in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, 11:2007-9.
- Oostlander, A.E., Meijer, G.A., Ylstra, B. (2004) Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet.*, 66(6):488-95.

- Ordenez, N.G., Rosai, J. (2004) Renal Cell Carcinoma. In : Rosai J, ed. Surgical Pathology, 9th ed. Mosby . 1251-1263.
- Osunkoya, A.O., Cohen, C., Lawson, D., et al. (2009) Claudin-7 and claudin-8: immunohistochemical markers for the differential diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Hum Pathol.* 40(2):206-10.
- Osunkoya, A.O., Yin-Goen, Q., Phan, J. H., Moffitt, R.A., Stokes, T.H., Wang, M.D., Young, A.Y. (2009) Diagnostic biomarkers for renal cell carcinoma: selection using novel bioinformatics systems for microarray data analysis. *Human Pathology*, 40(12): 1671-1678.
- Özbaş, H. (2008) Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Genetik Doktora Programı
- Özuysal, S. (2001) Tumoral Anjiyogenezis. *Türk Patoloji Dergisi*, 17(3-4):90-93.
- Pantuck, A.J., Zeng, G., Belldegrun, A.S., Figlin, R.A. (2003) Pathobiology, prognosis and targeted therapy for renal cell carcinoma: Exploiting the hypoxia-induced pathway. *Clin Cancer Res.*, 9:4641-4652.
- Pan, C.C., Chen, Y.J., Chang, L.C., Chang, Y.H., Ho, D.M. (2009) Immunohistochemical and molecular genetic profiling of acquired cystic disease associated renal cell carcinoma. *Histopathology*, 55:145-53.
- Paraf, F., Gogusev, J., Chretien, Y., Droz, D. (1995) Expression of bcl-2 oncoprotein in renal cell tumors. *J Pathol.*, 177: 247- 252.
- Pesch, B., Haerting, J., Ranft, U., Klimpel, A., Oelschlagel, B., Schill, W., MURC Study Group. (2000) Occupational risk factors for renal cell carcinoma: agent-specific results from a case-control study in Germany. *International Journal of Epidemiology*, 29:1014-1024.
- Picken, M.M. (2005) The evolving concept of renal neoplasia: impact of emerging molecular and electron microscopic studies. *Ultrastruct Pathol.*, 29(3-4):277-82.
- Pinkel, D., Se Graves, R., Sudar, D., Clark, S., Poole, I., Kowbel, D., Collins, C., Kuo, W. L., Chen, C., Zhai, Y., Dairkee, S. H., Ljung, B. M., Gray, J. W., Albertson, D. G. (1998) High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat. Genet.*, 20:207-211.
- Polascik, T.J., Cairns, P., Epstein, J.I., Fuzesi, L., Ro, J.Y., Marshall, F.F., Sidransky, D., Schoenberg, M. (1996) Distal nephron renal tumors: microsatellite allelotyping. *Cancer Res.*;56(8):1892-5.
- Pollack, J.R., Perou, C.M., Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Pergamenschikov, A., Williams, C.F., Jeffrey, S.S., Botstein, D., Brown, P.O. (1999) Genom-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat. Genet.*, 23(1): 41-46.
- Purdue, M.P., Johansson, M., Zelenika, D., Toro, J.R., Scelo, G., Moore, L.E., et al. (2011) Genomewide association study of renal cell carcinoma identifies two susceptibility loci on 2p21 and 11q13.3. *Nature Genetics*, 43:60-5.
- Reuter, V.E., Tickos, S.K. (2004) Adult Renal Tumors. In : Carter D, Greenson, J.K., Oberman, H.A., Reuter, V.E., Staler, M.H. ed. *Sternberg Surgical Pathology* 4th ed. LWW , 1955-2000.
- Ribatti, D. (2004) The involvement of endothelial progenitor cells in tumor angiogenesis. *J Cell Mol Med.*, 8:294-300.
- Rioux-Leclercq, N.C., Epstein, J.I. (2003) Renal cell carcinoma with intratumoral calcium oxalate crystal deposition in patients with acquired cystic disease of the kidney. *Arch Pathol Lab Med.*, 127:E89-92.
- Roland, E., Delles, S., Delles, C. (1999) Renal cell carcinoma and diuretics-should one restrict the use of diuretics? *Nephrol Dial Transplant.*, 14:1621-1623.

- Sadler, T.W. (1990) Ürogenital Sistem . Medikal Embriyoloji. 6.basım. Palme Yayıncılık; , 246-254.
- Sanchez, Y., el-Naggar, A., Pathak, S., Killary, A.M. (1994) A tumor suppressor locus within 3p14-p12 mediates rapid cell death of renal cell carcinoma in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91:3383–7.
- Sanders, M.E., Mick, R., Tomaszewski, J.E., Barr, F.G. (2002) Unique patterns of allelic imbalance distinguish type 1 from type 2 sporadic papillary renal cell carcinoma. Am J Pathol., 161:997-1005.
- Savli, H., Szendroi, A., Romics, I., Nagy, B.-(2008). Gene network and canonical pathway analysis in prostate cancer, a microarray study. Experimental and Molecular Medicine Vol 40, no 2.
- Savli, H., Aalto, Y., Nagy, B., Knuutila, S., Pakkala, S. (2002) Gene expression analysis of 1,25(OH)2D3 dependent differentiation of HL-60 cells - a cDNA array study. British Journal of Haematology, 118: 1065-1072.
- Schena, M., Shalon, D., Davis, R.W., Brown, P.O. (1995) Quantative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science, 270(5235):467-70.
- Schmidt, L., Duh, F.M., Chen, F., Kishida, T., Glenn, G., Choyke, P., et al. (1997) Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. Nature Genetics, 16:68–73.
- Schmidt, L., Junker, K., Nakaigawa, N., Kinjerski, T., Weirich, G., Miller, M., Lubensky, I., Neumann, H.P., Brauch, H., Decker, J., Vocke, C., Brown, J.A., Jenkins, R., Richard, S., Bergerheim, U., Gerrard, B., Dean, M., Linehan, W.M., Zbar, B. (1999) Novel mutations of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. Oncogene. 18(14):2343-50.
- Schoenberg, M., Cairns, P., Brooks, J.D., Marshall, FF., Epstein, J.I., Isaacs, WB., et al. (1995) Frequent loss of chromosome arms 8p and 13q in collecting duct carcinoma (CDC) of the kidney. Genes, Chromosomes and Cancer, 12:76–80.
- Schraml, P., Struckmann, K., Hatz, F., Sonnet, S., Kully, C., Gasser, T., et al. (2002) VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. Journal of Pathology, 196:186–93.
- Schraml, P., Struckmann, K., Hatz, F., Sonnet, S., Kully, C., Gasser, T., et al. (2002) VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. Journal of Pathology , 196(2):186–93
- Schuetz, A.N., Yin-Goen, Q., Amin, M.B., et al. (2005) Molecular Classification of Renal Tumors by Gene Expression Profiling. J Mol Diagn., 7:206–18.
- Schullerus, D., Herbers, J., Chudek, J., Kanamaru, H., Kovacs, G. (1997) Loss of heterozygosity at chromosomes 8p, 9p, and 14q is associated with stage and grade of non-papillary renal cell carcinomas. Journal of Pathology;183:151–5.
- Schullerus, D., Herbers, J., Chudek, J., Kanamaru, H., Kovacs, G. (1997) Loss of heterozygosity at chromosomes 8p, 9p, and 14q is associated with stage and grade of non-papillary renal cell carcinomas. J Pathol., 183: 151-155.
- Sconocchia G, Spagnoli GC, Del Principe D, Ferrone S, Anselmi M, Wongsena W, Cervelli V, Schultz-Thater E, Wyler S, Carafa V, Moch H, Terracciano L, Tornillo L (2009) Defective infiltration of natural killer cells in MICA/B-positive renal cell carcinoma involves beta(2)-integrin-mediated interaction. Neoplasia, 11:662–7

- Seizinger, B.R., Rouleau, G.A., Ozelius, L.J., Lane, A.H., Farmer, G.E., Lamiell, J.M., et al. (1988) von Hippel–Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma. *Nature* 332:268–9.
- Semenza, G.L. (2011) Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *New England Journal of Medicine* 365:537–47.
- Shen, C., Beroukhi, R., Schumacher, S.E., Zhou, J., Chang, M., Signoretti, S., Kaelin Jr, W.G. (2011) Genetic and functional studies implicate HIF1 as a 14q kidney cancer suppressor gene. *Cancer Discovery*, 1:222–35.
- Shuib, S., Wei, W., Sur, H., Morris, M.R., McMullan, D., Rattenberry, E., et al. (2011) Copy number profiling in von Hippel–Lindau disease renal cell carcinoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 50:479–88.
- Shuin, T., Kondo, K., Torigoe, S., Kishida, T., Kubota, Y., Hosaka, M., Nagashima, Y., Kitamura, H., Latif, F., Zbar, B. (1994) Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas. *Cancer Res.*, 54: 2852-2855.
- Siegel, R., Ward, E., Brawley, O., et al. (2011) Cancer statistics, 2011: The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin.*, 61(4):212-36.
- Solinas-Toldo, S., Lampe, S., Stilgenbauer, S., Nickolenko, J., Benner, A., Dohner, H., Cremer, T., Lichter, P. (1997) Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*, 20(4):399-407.
- Speicher, M., Schoell, B., Du Manoir, S., Schröck, E., Ried, T., Cremer, T., et al. (1994) Specific loss of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17, and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization. *American Journal of Pathology*, 145:356–64.
- Srigley, J.R., Delahunt, B. (2009) Uncommon and recently described renal carcinomas. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*, 22(Suppl. 2):S2–23.
- Stanenow, E., Tavares, M.R., Ab'Saber, A.M., Parra-Cuentas, E.R., de Matos, L.L., Eher, E.M., et al. (2005) Angiogenesis as an indicator of metastatic potential in papillary thyroid carcinoma. *Clinics*, 60(3):233-240.
- Stanta, G., Bonin, S., Perin, R. (1998) RNA extraction from formalin-fixed and paraffin embedded tissues. *Methods Mol Biol.*, 86:23-6.
- Störkel, S., Kristiansen, G., Moch, H. (2007) The importance of pathology and genetics for the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Eur Urol Supp* 6:603-610.
- Störkel, S., Steart, P.V., Drenckhahn, D., Thoenes, W. (1989) The human chromophobe cell renal carcinoma: its probable relation to intercalated cells of the collecting duct. *Virchows Archiv B Cell Pathology*, 56:237–45.
- Störkel, S., Thoenes, W., Jacobi, G.H., Lippold, R. (1989) Prognostic parameters in renal cell carcinoma: A new approach. *Eur Urol.*, 16: 416-42.
- Sun, M., Shariat, S.F., Karakiewicz, P.I. (2010) Factors affecting outcome in renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol.*, 20(5):355-60.
- Sun, M., Abdollah, F., Bianchi, M., Trinh, Q.D., Jeldres, C., Tian, Z., Shariat, S.F., Widmer, H., Zorn, K., Menon, M., Montorsi, F., Perrotte, P., Karakiewicz, P.I. (2011) A stage-for-stage and grade-for-grade analysis of cancer-specific mortality rates in renal cell carcinoma according to age: a competing-risks regression analysis. *Eur Urol.*, 60(6):1152-9.

- Sükösd, F., Digon, B., Fischer, J., Pietsch, T., Kovacs, G. (2001) Allelic loss at 10q23.3 but lack of mutation of PTEN/MMAC1 in chromophobe renal cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet.*, 128(2):161-3.
- Şen, S., Sarsık, B. (2010) Sınıflandırmayan böbrek tümörü ne demektir ve önemi nedir. *Üroonkoloji Bülteni*, 3:63-67.
- Takahashi, M., Yang, X.J., Sugimura, J., et al. (2003) Molecular subclassification of kidney tumors and the discovery of new diagnostic markers. *Oncogene* 22:6810–8.
- Tavani, A., La Vecchia, C. (1997). Epidemiology of renal-cell carcinoma. *Journal of Nephrology*, 10:93-106.
- Tickoo, S.K., dePeralta-Venturina, M.N., Hanik, L.R., et al (2006). Spectrum of epithelial neoplasms in end-stage renal disease: an experience from 66 tumor-bearing kidneys with emphasis on histologic patterns distinct from those in sporadic adult renal neoplasia. *Am J Surg Pathol.*, 30:141–53.
- Thomy J. L. de Ravel, Koen Devriendt, Jean-Pierre Fryns, Joris R. Vermeesch. (2007) Whats New in Karyotyping? The Move Towards Array Genomic Hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr* 166 :637-643
- Thyavihally, Y.B., Mahantshetty, U., Chamarajanagar, R.S., Raibhattanavar, S.G., Tongaonkar, H.B. (2005). Management of renal cell carcinoma with solitary metastasis. *World J Surg Oncol.*, 3:48.
- Tsai, M.C., Wang, J.K., Chang, H.Y. (2010) Tumor suppression by the histone demethylase UTX. *Cell Cycle*, 9:2043–4.
- van den Berg, A., Dijkhuizen, T., Draaijers, T.G., Hulsbeek, M.M., Maher, E.R., van den Berg, E., et al. (1997) Analysis of multiple renal cell adenomas and carcinomas suggests allelic loss at 3p21 to be a prerequisite for malignant development. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 19:228–32.
- van den Berg, E., van der Hout, A.H., Oosterhuis, J.W., Störkel, S., Dijkhuizen, T., Dam, A., et al. (1993) Cytogenetic analysis of epithelial renal-cell tumors: relationship with a new histopathological classification. *International Journal of Cancer*, 55:223–7.
- van Haaften, G., Dalgliesh, G.L., Davies, H., Chen, L., Bignell, G., Greenman, C., et al. (2009) Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer. *Nature Genetics*, 41:521–3.
- Varela, I., Tarpey, P., Raine, K., Huang, D., On, C.K., Stephens, P., et al. (2011) Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. *Nature*, 469:539–42.
- Velickovic, M., Delahunt, B., McIver, B., Grebe, S.K. (2002) Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Mod Pathol*, 15: 479-485.
- Vissers, L.E., de Vries, B.B., Osoegawa, K., Janssen, I.M., Feuth, T., Choy, C.O., Straatman, H., van der Vliet, W., Huys, E.H., van Rijk, A., Smeets, D., van Ravenswaaij-Arts, C.M., Knoers, N.V., van der Burgt, I., de Jong, P.J., Brunner, H.G., van Kessel, A.G., Schoenmakers, E.F., Veltman, J.A. (2003). Array-based comparative genomic hybridization for the genome-wide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet.* 73(6):1261-70.
- Volpe, A., Patard, J.J. (2010) Prognostic factors in renal cell carcinoma. *World J Urol.*, 28(3):319-27.
- von Teichman, A., Comperat, E., Behnke, S., Storz, M., Moch, H., Schram, P. (2011) VHL mutations and dysregulation of pVHL- and PTEN-controlled pathways in multilocular cystic renal cell carcinoma. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*; 24:571–8.

- Wilhelm, M., Krause, U., Kovacs, G. (1995) Diagnosis and prognosis of renal-cell tumors: a molecular approach. *World J Urol.*,13(3):143-8.
- Wilhelm, M., Veltman, J.A., Olshen, A.B., Jain, A.N., Moore, D.H., Presti, J.C. Jr Kovacs, G., Waldman, F.M. (2002). Array-based comparative genomic hybridization for the differential diagnosis of renal cell cancer. *Cancer Res.* 62(4):957-60.
- Wilke, C.M., Guo, S.W., Hall, B.K., Boldog, F., Gemmill, R.M., Chandrasekharappa, S.C., et al. (1994) Multicolor FISH mapping of YAC clones in 3p14 and identification of a YAC spanning both FRA3B and the t(3;8) associated with hereditary renal cell carcinoma. *Genomics*, 22:319–26.
- Wang, H.M., Zhang, G.Y. (2005) Indomethacin supresses growth of colon cancer via inhibition of angiogenesis in vivo. *World J Gastroenterol*, 11(3):340-343.
- Wu X, Weng L, Li X, Guo C, Pal SK, Jin JM, Li Y, Nelson RA, Mu B, Onami SH, Wu JJ, Ruel NH, Wilczynski SP, Gao H, Covarrubias M, Figlin RA, Weiss LM, Wu H. (2012) Identification of a 4-microRNA signature for clear cell renal cell carcinoma metastasis and prognosis. *PLoS One*, 7(5):e35661.
- Yao, M., Yoshida, M., Kishida, T., Nakaigawa, N., Baba, M., Kobayashi K., Miura, T., Moriyama, M., Nagashima, Y., Nakatani, Y., Kubota, Y., Kondo, K. (2002) VHL tumor suppressor gene alterations associated with good prognosis in sporadic clear-cell renal carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 94:1569–75.
- Yıldız, K. (2009) Böbrek tümörlerinde moleküler sınıflandırma:Tanı ve tedavide yeni olanaklar. *Üroonkoloji Bült.*, 3:44-48.
- Yıldız, K. (2011) Böbrek tümörlerinin patolojik sınıflamasında güncel gelişmeler. *Üroonkoloji Bült.*, 3:96-90.
- Young, A.N., Amin, M.B., Moreno, C.S., et al. (2001) Expression profiling of renal epithelial neoplasms: a method for tumor classification and discovery of diagnostic molecular markers. *Am J Pathol.*, 158:1639–51.
- Young, A.N., Master, V.A., Paner, G.P., Wang, M.D., Amin, M.B. (2008). Renal epithelial neoplasms: diagnostic applications of gene expression profiling. *Adv Anat Pathol.*, 15(1):28-38
- Young, A.N., Master, V.A., Paner, G.P., Wang, M.D., Amin, M.B. (2008) Renal epithelial neoplasms: diagnostic applications of gene expression profiling. *Adv Anat Pathol.*,15(1):28-38.
- Young, A.N., Dale, J., Yin-Goen, Q., Harris, W.B., Petros, J.A., Datta, M.W., Wang, M.D., Marshall, F.F., Amin, M.B. (2006) Current trends in molecular classification of adult renal tumors. *Urology*, 67(5):873-80.
- Yörükoğlu, K. (2005) Böbrek hücreli kanserlerde sınıflama, sitogenetik ve patolojik prognostik faktörler. *Türk Üroloji Dergisi*, 31 (3): 305-317.
- Yusenko, M.V., Kuiper, R.P., Boethe, T., Ljungberg, B., van Kessel, A.G., Kovacs, G. (2009) High-resolution DNA copy number and gene expression analyses distinguish chromophobe renal cell carcinomas and renal oncocytomas. *BMC Cancer*, 9:152.
- Zatyka, M., da Silva, N.F., Clifford, S.C., Morris, M.R., Weinstein, M.H., Dal Cin, P. (2001) Genetics of epithelial tumors of the renal parenchyma in adults and renal cell carcinoma in children. *Anal Quant Cytol Histol.*, 23(5):362-72.
- Zbar, B., Brauch, H., Talmadge, C., Linehan, M. (1987) Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma. *Natur*, ;327:721–4.
- Zbar, B., Lerman, M. (1998). Inherited carcinomas of the kidney. *Adv Cancer Res.*,75:163-201.

Zhang, Q., Ying, J., Li, J., Fan, Y., Poon, F.F., Ng, .KM., et al. (2010) Aberrant promoter methylation of DLEC1, a critical 3p22 tumor suppressor for renal cell carcinoma, is associated with more advanced tumor stage. *Journal of Urology*, 184:731–7.

Zhao, J., Yart, A., Frigerio, S., Perren, A., Schraml, P., Weisstanner, C., et al. (2007) Sporadic human renal tumors display frequent allelic imbalances and novel mutations of the HRPT2 gene. *Oncogene*, 26:3440–9.

Zhuang, Z., Park, W.S., Pack, S. et al. (1998) Trisomy 7-harboring non-random duplication of the mutant MET allele in hereditary papillary renal carcinomas. *Nat Genet.*, 20:66-9.

<http://genome-www5.stanford.edu/>

ÖZGEÇMİŞ

Ad, Soyad : Esen Gümüslü
Doğum Yeri ve Yılı : Diyarbakır 1979
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
İş Telefonu : 0262 303 88 53
E-Posta adresi : ulakesen@yahoo.com.

I. EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	İstanbul Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi		1990-1997
Üniversite	Tıp Fakültesi	Marmara Üniversitesi	1998-2006
Yüksek Lisans	Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji	Kocaeli Üniversitesi	2010
Doktora	Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji	Kocaeli Üniversitesi	2010-

Yüksek Lisans Tezi ve Danışman(lar)ı

Yüksek Lisans Tezi: Non-sendromik (primer) otizm hastalarında CGH-array çalışması

Tez Danışmanları: Yard.Doç.Dr.Naci ÇİNE
Doç.Dr. Bülent KARA

Doktora Tezi ve Danışmanı

Doktora Tezi: Renal Parankimal Tümörlere Genomik Yaklaşımlar

Tez Danışmanı: Yard.Doç.Dr.Naci ÇİNE

Mesleki Deneyimleri/Çalıştığı Kurumlar

KOÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (2009---)

Üye Olduğu Dernekler

Türk Tabipler Birliği Derneği
Türk Tıbbi Genetik Derneği

II. YABANCI DİL

İngilizce ÜDS: 90.0 (Mart 2008)
KPDS: 78 (Mayıs 2008)
ALES: 89.912 (Mayıs 2009)

III.SERTİFİKA PROGRAMLARI

Uluslararası:

1. Cytocell FISH kursu , 28 September 2009, Cambridge, United Kingdom
2. OGT Microarray Training Course.23-30 October 2009, Oxford Gene Technology, Oxford-United Kingdom.
- 3.Hybrid Course-3rd Course in the Integration of Cytogenetics, Microarrays and Massive Sequencing in Biomedical and Clinical Research. (European School of Genetic Medicine, İstanbul Üniversitesi ve Tıbbi Genetik Derneği işbirliği ile). 16-20 Ekim 2010. İstanbul.
4. Basic and Advanced Course in Genetic Counselling in Practice (EGF Course),14-20 April 2012, Bologna-Italy.

Ulusal

1. Deney Hayvanları Kullanımı Sertifika Kursu 6-10 Nisan 2009 KOU Rektörlüğü, Kocaeli
2. I. Erciyes Genetik Günleri, Klinik Genetik Kursu. 7-9 Ocak 2010, Kayseri.
3. "Proje Döngüsü Yönetimi" Kursu. 7-10 Haziran 2010, AB Projeler Koordinasyon Merkezi-Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli.
4. 'Katılım modelleri, klinik tanı ve genetik danışma' Kursu. "9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi'nde", Tıbbi Genetik Deneği, 01-05 Aralık 2010 İstanbul.