

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI



SOX9, E-KADHERİN VE KLF4 EKSPRESYONLARININ
BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE
PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ŞEYMA ÖZTÜRK

BOLU, EYLÜL - 2022

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI



SOX9, E-KADHERİN VE KLF4 EKSPRESYONLARININ
BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE
PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ŞEYMA ÖZTÜRK

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi. Selma Erdoğan Düzcü

BOLU, EYLÜL - 2022

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 429 sayısı ile etik izin alınmıştır.

DR. ŞEYMA ÖZTÜRK

ÖZET

SOX9, E-KADHERİN VE KLF4 EKSPRESYONLARININ BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

BOLU, EYLÜL 2022

XII+78

Giriş: Renal hücreli karsinom, böbreğin en sık görülen malign tümörü olup dünyada en sık görülen kanserler arasında yer almaktadır. Renal hücreli karsinomların %60-80'ini berrak hücreli renal hücreli karsinom oluşturmaktadır. Nefrektomi sonrasında hastalarda metastaz gelişmesi yeni prognostik faktörlerin ve tedavi modalitelerinin araştırılmasına neden olmuştur. Bu çalışmada SOX9, E-kadherin ve KLF4'ün immunohistokimyasal ekspresyonlarının berrak hücreli renal hücreli karsinomda klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2015-2022 yılları arasında berrak hücreli renal hücreli karsinom tanısı alan 92 olguya ait parsiyel ve radikal nefrektomi materyalleri retrospektif olarak incelendi. Olgulara ait uygun parafin bloklara SOX9, E-kadherin ve KLF4 immunohistokimyasal boyaları uygulandı.

Bulgular: Çalışmada 92 olgu mevcut olup bu olguların yaş ortalaması 59.5 (± 10.6)'tur. Olguların 69'u (%75) erkek, 23'ü (%25) kadındır. Olguların tümünde SOX9 pozitif boyanmıştır. E-kadherin vakaların 88 vakada (%95.7) pozitifdir. 71 vakada (%78.2) KLF4 ekspresyon kaybı görülmüştür. SOX9 overekspresyonu ile nükleer derece, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon, uzak metastaz arasında anlamlı derece bir ilişki saptandı. Düşük E-kadherin ekspresyonu ile nükleer derece, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon ve uzak metastaz arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi. Düşük KLF4 ekspresyonu ile nükleer derece, patolojik evre ve tümör çapı arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu.

Sonuç: Berrak hücreli renal hücreli karsinomda SOX9, E-kadherin ve KLF4 ekspresyonlarının kötü prognostik parametreler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu immunohistokimyasal boyaların berrak hücreli renal hücreli karsinomda potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceği, prognozu ve tedaviye yanıtı belirlemede yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen veriler, berrak hücreli renal hücreli karsinomda kanser kök hücrelerini hedef alan yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesi yönünde umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Berrak hücreli renal karsinom, SOX9 transkripsiyon faktörü, E-kadherin, Kruppel-benzeri transkripsiyon faktörleri, Prognoz

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP OF SOX9, E-CADHERIN AND KLF4 EXPRESSIONS WITH CLINICOPATHOLOGICAL PARAMETERS IN CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMAS AND ITS PROGNOSTIC SIGNIFICANCE

BOLU, SEPTEMBER 2022

XII + 78

Introduction: Renal cell carcinoma is the most common malignant tumor of the kidney and is among the most common cancers in the world. Clear cell renal cell carcinoma accounts for 60-80% of renal cell carcinomas. The development of metastases in patients after nephrectomy has led to new prognostic factors and investigation of treatment modalities. In this study, it was aimed to investigate the relationship of immunohistochemical expressions of SOX9, E-cadherin and KLF4 with clinicopathological parameters in clear cell renal cell carcinoma.

Material-Methods: In this study, partial and radical nephrectomy materials of 92 patients diagnosed with clear cell renal cell carcinoma in Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Pathology between 2015 and 2022 were retrospectively analyzed. SOX9, E-cadherin and KLF4 immunohistochemical stains were applied to the appropriate paraffin blocks of the cases.

Results: There were 92 cases in the study, and the mean age of these cases was 59.5 (± 10.6). Of the cases, 69 (75%) were male and 23 (25%) were female. All of the cases were stained positive for SOX9. E-cadherin is positive in 88 cases (95.7%). KLF4 expression was lost in 71 cases (78.2%). A significant correlation was found between SOX9 overexpression and nuclear grade, sarcomatoid and rhabdoid differentiation, and distant metastasis. A significant correlation was found between low E-cadherin expression and nuclear grade, sarcomatoid and rhabdoid differentiation, and distant metastasis. There was a significant correlation between low KLF4 expression and nuclear grade, pathological stage and tumor diameter.

Conclusion: SOX9, E-cadherin and KLF4 expressions were found to be associated with poor prognostic parameters in clear cell renal cell carcinoma. It is thought that these immunohistochemical stains can be used as a potential biomarker in clear cell renal cell carcinoma and may guide in determining the prognosis and response to treatment. The obtained data are promising for the development of new treatment modalities targeting cancer stem cells in clear cell renal cell carcinoma.

Key Words: Clear cell renal carcinoma, SOX9 transcription factor, E-cadherin, Kruppel-like transcription factors, Prognosis

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	iii
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ	ix
FOTOĞRAF LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 BÖBREK	4
2.1.1 Embriyoloji.....	4
2.1.2 Anatomi	5
2.1.3 Histoloji	6
2.2 RENAL HÜCRELİ KARSİNOM	7
2.2.1 Genel Özellikler.....	7
2.2.2 Klinik Özellikler	7
2.2.3 Renal Hücreli Karsinomlarda Sınıflama.....	8
2.2.4 Renal Hücreli Karsinomlarda Derecelendirme.....	9
2.2.5 Renal Hücreli Karsinomlarda Evreleme.....	10
2.3 BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOM.....	12
2.3.1 Klinik Özellikler	12
2.3.2 Makroskopik Özellikler	13
2.3.3 Mikroskopik Özellikler	13
2.3.4 İmmunohistokimyasal Profil	14
2.3.5 Ayırıcı Tanı	14
2.3.6 Prognostik Faktörler	14
2.3.7 Genetik Faktörler ve Tedavi	15
2.4 KÖK HÜCRE	15
2.4.1 Kanser Kök Hücreleri.....	16
2.4.2 Epitelyal-Mezenkimal Geçiş	16
2.4.3 Wnt/B-katenin Sinyal Yolağı	17
2.4.4 Wnt/B-katenin Sinyal Yolağı ve Kanser Kök Hücreleri	17
2.4.5 Kanser Kök Hücrelerini Hedef Alan Tedavi Stratejileri	18
2.4.6 Geliştirilmekte Olan Kök Hücre Tedavileri	19
2.5 TÜMÖR SÜPRESÖR GEN VE ONKOGEN KAVRAMLARINA GENEL BAKIŞ	20
2.6 ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYALAR	21
2.6.1 SOX9	21
2.6.2 E-kadherin	22
2.6.3 KLF4.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25

3.1 Olgı Seçimi	25
3.2 İmmünohistokimyasal Boyama	25
3.3 İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi.....	26
3.4 İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR	28
4.1 Klinik ve Patolojik Bulgular	28
4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular.....	38
4.2.1 SOX9	38
4.2.2 E-kadherin	44
4.2.3 KLF4.....	50
4.2.4 SOX9, E-kadherin ve KLF4 Genlerinin İmmünohistokimyasal Ekspresyonlarının Korelasyon Analizi	55
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
7. KAYNAKLAR.....	71

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2-1 Kanser kök hücreleri ile ilişkili sinyal yolları 18



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2-1. Renal Hücreli Tümörler DSÖ sınıflaması	8
Tablo 2-2 Fuhrman Derecelendirme Sistemi	9
Tablo 2-3 DSÖ/ISUP Derecelendirme Sistemi	10
Tablo 2-4 Renal Hücreli Karsinomların 2010 TNM Sınıflaması.....	11
Tablo 2-5 Renal Hücreli Karsinomlarda Klinik Evreleme.....	12
Tablo 4-1 Klinik bulgular	28
Tablo 4-2 Tümöre ait morfolojik bulgular	33
Tablo 4-3 Tümör yayılımını gösteren bulgular	36
Tablo 4-4 Tümörün patolojik evrelendirmesi	37
Tablo 4-5 Metastaz izlenen bölgeler	37
Tablo 4-6 Tümör çevresindeki böbrek parankiminde meydana gelen değişiklikler	38
Tablo 4-7 SOX9 boyanma yaygınlığı	39
Tablo 4-8 SOX9 boyanma yoğunluğu.....	39
Tablo 4-9 SOX9 kombine immünskoru	39
Tablo 4-10 SOX9 ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi	41
Tablo 4-11 SOX9 ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi.....	42
Tablo 4-12 SOX9 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi	42
Tablo 4-13 SOX9 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki	43
Tablo 4-14 E-kadherin boyanma yaygınlığı.....	44
Tablo 4-15 E-kadherin boyanma yoğunluğu.....	44
Tablo 4-16 E-kadherin kombine immünskoru	44
Tablo 4-17 E-kadherin ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi.....	47
Tablo 4-18 E-kadherin ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi.....	48
Tablo 4-19 E-kadherin ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi	48
Tablo 4-20 E-kadherin ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki.....	49
Tablo 4-21 KLF4 boyanma yaygınlığı.....	50
Tablo 4-22 KLF4 boyanma yoğunluğu	50
Tablo 4-23 KLF4 kombine immünskoru.....	50
Tablo 4-24 KLF4 ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi.....	53
Tablo 4-25 KLF4 ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi	54
Tablo 4-26 KLF4 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi.....	54
Tablo 4-27 KLF4 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki	55
Tablo 4-28 İmmunohistokimyasal boyaların korelasyon analizi	56

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 4-1 Derece 1, H&E x 400.....	29
Fotoğraf 4-2 Derece 2, H&E x 400.....	29
Fotoğraf 4-3 Derece 3, H&E x 400.....	30
Fotoğraf 4-4 Derece 4, H&E x 400.....	30
Fotoğraf 4-5 Sarkomatoid diferansiasyon, H&E x 200	31
Fotoğraf 4-6 Rabdoid diferansiasyon, H&E x 200	32
Fotoğraf 4-7 Nekroz, H&E x 200	32
Fotoğraf 4-8 Lenfovasküler invazyon, H&E x 40	33
Fotoğraf 4-9 Renal kapsül invazyonu, H&E x 25.....	34
Fotoğraf 4-10 Renal sinus invazyonu, H&E x 40.....	35
Fotoğraf 4-11 Kronik piyelonefrit, H&E x 200	38
Fotoğraf 4-12 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	40
Fotoğraf 4-13 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	40
Fotoğraf 4-14 Tümör hücrelerinde şiddetli SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	41
Fotoğraf 4-15 Tümör hücrelerinde negatif E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	45
Fotoğraf 4-16 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200	45
Fotoğraf 4-17 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200	46
Fotoğraf 4-18 Tümör hücrelerinde şiddetli membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200	46
Fotoğraf 4-19 Tümör hücrelerinde negatif KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	51
Fotoğraf 4-20 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	51
Fotoğraf 4-21 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	52
Fotoğraf 4-22 Tümör hücrelerinde şiddetli KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200.....	52

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

RHK	: Renal Hücreli Karsinom
BHRHK	: Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinom
KKH	: Kanser kök hücresi
SOX9	: Cinsiyet belirleyici bölge Y(SRY) ilişkili HMG box-9
KLF4	: Kruppel-benzeri faktör
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRG	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ISUP	: International Society of Urological Pathology
USG	: Ultrasonografi
CK 7	: Sitokeratin 7
EKH	: Embriyonik kök hücre
İPKH	: İndüklenmiş pluripotent kök hücre
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal geçiş
APC	: Adenomatöz polipozis koli
TCF/LEF	: T cell factor/lymphoid enhancer factor
mikroRNA	: miRNA
NLS	: Nükleer lokalizasyon sinyali
DAB	: Diaminobenzidin
LVİ	: Lenfovasküler invazyon
RKİ	: Renal kapsül invazyonu
PRYDİ	: Perirenal yağ doku invazyonu
RSİ	: Renal sinüs invazyonu
RPI	: Renal Pelvis İnvazyonu
IARC	: Uluslararası kanser araştırma ajansı
GLOBOCAN	: Küresel kanser gözlem verisi

TEŞEKKÜR

Asistanı olmaktan büyük keyif aldığım, insani, mesleki ve bilimsel açıdan üzerimde büyük emeği olan, zorlu tez sürecinde desteğini üzerimde her zaman hissettığım, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım **Dr. Öğretim Üyesi Selma Erdoğan DÜZCÜ**'ye,

Uzmanlık eğitim süresince geniş bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, bana çalışma azmi kazandıran kıymetli hocalarım **Prof. Dr. Çetin BORAN**, **Doç. Dr. Hesna Müzeyyen Astarıcı**, **Dr. Öğretim Üyesi Ali Can ÖNAL**'a,

Tezimin istatistik aşamasında büyük emeği olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam **Dr. Öğr. Üyesi Aysu KIYAN** ile araştırma görevlisi **Dr. Nagehan CEZAYİRLİ** ve **Dr. Sevda KALI**'ya,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum **Uzm. Dr. Hüsna ÖZÇELİK**, **Uzm. Dr. Songül Peltek ÖZER**, **Uzm. Dr. Eda Hilal İMAMOĞLU** ve **Uzm. Dr. Nur Tunç KARABEKİROĞLU**'na,

Asistanlık süresince zorlu aşamalardan birlikte geçtiğim, tez sürecine birlikte hazırlandığım değerli çalışma arkadaşım **Dr. Gülşah Ünsal KAYAR**'a,

Tezimin hazırlanması sırasında verdiği maddi destek için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAİBÜ BAP) birimi'ne ve süreçle yakından ilgilenen BAİBÜ BAP biriminden **Şahin AKYÜREK**'e,

Yardımlarını, güler yüzlerini ve hoş sohbetlerini esirgemeyen tüm patoloji laboratuvarı çalışanlarına,

Sevgilerini ve desteklerini her daim yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan canım annem ve babama, hayatımı daha eğlenceli hale getiren sevgili kardeşlerime,

Tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DR. ŞEYMA ÖZTÜRK

1. GİRİŞ

Renal hücreli karsinom (RHK), yetişkinlerde en sık görülen malign böbrek tümörü olup yetişkinlerde izlenen tüm malignitelerin yaklaşık %2'sini oluşturur. Mevcut verilere göre 2020 yılında dünyada 19.3 milyon yeni kanser vakası görülmüştür. Bunlardan 431.288'ini renal kanserler oluşturmaktadır. Renal kanserlerin erkeklerde ve kadınlarda görülme oranı 6.1/3.2'dir (1). RHK, histolojik olarak berrak hücreli RHK (BHRHK), papiller RHK ve kromofob RHK dahil olmak üzere üç ana alt tipte sınıflandırılabilir. BHRHK, RHK vakalarının %75-80'inde görülür ve RHK'un en agresif seyirli olan alt tipidir (2)(3).

Kanser tedavisinde son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. RHK tedavisindeki ilerlemelere ve kanser sürveyansındaki yeni gelişmelere rağmen, RHK hastalarının %25-30'u ilerlemiş veya uzak metastatik hastalıkla başvurmaktadır. Hastaların %20-40'ı küratif cerrahiden sonra rekürrens göstermektedir. Metastatik RHK ise kemoterapi ve radyoterapiye dirençlidir. Bu nedenle RHK'de tedavi seçenekleri sınırlıdır. Moleküler hedefli tedaviler bu hastaların tedavisinde büyük gelişmelere yol açmış olsa da, hedef proteinin ikincil mutasyonu ve moleküler değişiklikler nedeniyle hedeflenen tedavilere karşı kazanılmış direnç ortaya çıkar. Bu nedenle metastatik RHK hastaları halen kötü prognostik seyir göstermekte olup 5 yıllık sağkalım oranı %10 civarındadır (4). Bu hastalarda tedavide rol alabileceği düşünülen, kanser oluşum mekanizması ve bu mekanizmada rol oynayan etmenler esas alınarak kanser kök hücrelerine yönelik araştırmalar son yıllarda hız kazanmıştır.

Kanser kök hücresi (KKH) ne anlama gelmektedir? Kanser kök hücre teorisine göre, KKH'leri kendi kendilerini yenileme ve farklılaşma özelliğine sahip hücrelerdir (5). Son yıllarda KKH'leri lösemi ile meme, akciğer, kolon, prostat ve over gibi çeşitli solid kanser tiplerinde tespit edilmiştir (6)(7)(8)(9)(10). Tüm kanser kök hücrelerinin limitsiz çoğalma potansiyeli ve metastaz yeteneği vardır. Bu nedenle, kanser tedavisinde kanser kök hücrelerini hedefleyerek öldürmek gerekmektedir. KKH izole edilip tanımlanabildiğinden teşhiste kullanılabilecek yeni hücre yüzey belirteçleri ve bunlara yönelik tedavi hedeflerinin de bulunması söz konusudur (5).

SOX9 (Cinsiyet belirleyici bölge Y (SRY) ilişkili HMG box 9), SOX gen süperailisinin bir üyesidir. Erkek cinsiyet tayini, kondrogenez, nörogenez ve nöral krest gelişimi dahil olmak üzere gelişimsel süreçlerde rol oynar (11). Yakın zamanda elde edilen veriler, ektoderm ve endoderm kökenli dokuların kök hücre havuzlarında SOX9 eksprese etmeye devam ettiğini ve bunun da KKH'lerini düzenleyebileceğini düşündürmektedir (12). SOX9 hücrede bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görmektedir ve SOX9 geni, bir onkogen olarak çeşitli kanser türlerinde tanımlanmıştır (11)(13)(14)(15). Ancak bazı kanser türlerinde tümör süpresör gen olarak da davranabilmektedir. Yapılan çalışmalarda akciğer adenokarsinomu, meme karsinomu, kolorektal karsinom ve prostat karsinomunda artmış SOX9 ekspresyonu tespit edilmiştir (16)(17)(18)(19).

E-kadherin, hücre-hücre adezyonuna aracılık eden ve epitelyal dokularda eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir (20). E-kadherin kaybı, hücrelerin epitelyal fenotiplerini kaybettiği, göç etme yeteneği olan mezenkimal bir komponent kazandığı epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) için anahtar role sahiptir. E-kadherin homofilik bağlanmasının kaybına bağlı olarak hücre adezyonu ve hücreler arası bağlantılarda işlev kaybı gerçekleşir. Bu işlev kaybı da hücrelerin primer tümörden ayrılmasını, çevre dokulara invaze olmasını ve metastatik tümörler oluşturmalarını sağlar (21). Buna ek olarak E-kadherin'in hepatoselüler karsinom, baş boyun kanserleri, derinin ve özofagusun skuamöz hücreli karsinomu ile melanom gibi birçok kanserde tümör süpresör etki gösterdiği görülmüştür (22)(23)(24)(25)(26).

Kruppel benzeri faktör 4 (KLF4), hücre döngüsünün düzenlenmesi, pluripotensi ve epidermal gelişimin sürdürülmesinin yanısıra normal doku homeostazının sağlanması gibi birçok fizyolojik süreçte görev alan çinko parmak içeren kruppel benzeri faktör ailesinin bir üyesidir. İnce bağırsak, kolon ve timus epitel hücrelerinde bol miktarda bulunur (27)(28). Hücrede transkripsiyon faktörü olarak görev yapar. Hedef gene bağlı olarak farklı mekanizmalar üzerinden transkripsiyonu aktive edebilir veya baskılayabilir (27). Mide, kolorektal, hepatik kanserler ve prostat kanserlerinde KLF4 downregülasyonu görülmektedir (29)(30)(31)(32).

Bu çalışmada amacımız, BHRHK tanısı almış olgularda immunohistokimyasal yöntem ile kök hücre belirteçlerinden SOX9 ve KLF4 ile hücre göçünde en bilinen moleküllerden biri olan E-kadherin ekspresyonunu

incelemek ve prognostik önemi ispatlanmış klinikopatolojik parametrelerle ilişkilerini ortaya koymaktır. Kök hücre belirteçleri ile ilgili BHRHK olgularında yapılan az sayıda çalışma olması ve metastatik hastalıklarda da bu belirteçlerin belirgin rolünün olması bizi bu alanda çalışmaya yönlendirmiştir. Böylece BHRHK hastalarında prognozu iyileştirme amaçlı gelecekte her üç biyobelirtecine de hedefe yönelik tedavilerde yol gösterici olabileceği düşünülmüştür.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 BÖBREK

2.1.1 Embriyoloji

Ürogenital sistem üriner ve genital sistem olarak iki bileşene ayrılır. Ancak her iki sistem embriyolojik ve anatomik olarak iç içedir. Her ikisi de karın arka duvarı boyunca uzanan ara mezoderminden gelişir. Başlangıçta her iki sistem ortak bir boşluğa (kloakaya) açılmaktadır (33).

İntrauterin hayatta böbrek gelişimi kranialden kaudale doğru sırasıyla üç aşamada gerçekleşir: pronefroz, mezonefroz ve metanefroz. İlki, işlevsizdir. İkincisi, erken fetal dönemde kısa bir süreliğine işlev görebilir. Üçüncüsü ise kalıcı böbreği oluşturur (33).

2.1.1.1 PRONEFROZ

Pronefroz ilk olarak intrauterin yaşamın üçüncü haftasının sonlarında görülür ve beşinci haftanın başında tamamen dejenere olur. Pronefrik tübüllerin gelişimi torasik bölgede nefrojenik kordun kranial ucunda başlar ve kaudale doğru ilerler. Pronefrozun önemi, ürogenital sırt içinde kaudal olarak büyüyen pronefrik kanalın oluşumudur. Beşinci haftada pronefrik tübüller dejenere olurken, pronefrik kanal kaudale doğru ilerleyerek mezonefrik kanalı oluşturmaktadır (34).

2.1.1.2 MEZONEFROZ

Mezonefroz ve mezonefrik kanallar üst torasikten üst lomber segmentlere kadar uzanan ara mezoderminden gelişir. Dördüncü haftada pronefrozun gerilemesi sırasında mezonefrik tübüller ortaya çıkar. Hızla uzayarak bir kılcı damar kümesi oluştururlar ve glomerül şeklini alırlar. Glomerül çevresinde tübüller bowman kapsülünü oluşturur. Bu yapılar birlikte renal korpüskül adını alır. İkinci ayın ortasında kaudal tübüller farklılaşmaya devam ederken; kranial tübüllerde ve glomerüllerde dejeneratif değişiklikler görülür ve ikinci ayın sonunda çoğunluğu kaybolur. Erkeklerde birkaç kaudal tübül ve mezonefrik kanal genital sistemin yapısına katılırlar, ancak kadınlarda kaybolurlar (33).

2.1.1.3 METANEFROZ

Metanefroz veya kalıcı böbrek, üreter tomurcuklarının mezonefrik kanalın kaudal kısmından filizlenmesi ve metanefrik mezenkim ile kaynaşması sonucu başlangıçta sakral bölgede oluşur. Bu gelişim yaklaşık dördüncü haftada meydana gelir. Metanefrik mezenkim üreter tomurcuğunun uzamasını ve dallanmasını sağlar. Üreter tomurcuğu ise metanefrik mezenkimin yoğunlaşmasını ve nefronlara farklılaşacak tübüllerin oluşması için mezenkimal epitelyal dönüşümü indükler. Dallanan üreter tomurcuğu metanefrik mezenkimin epitelyal veziküllere dönüşümünü tetikler. Bunlar S-şekilli yapılar oluşturur. Daha fazla uzama ve büyüme sonucunda glomerül, proksimal tübül, henle kulbu ve distal tübül meydana gelir. Toplayıcı kanallar, kaliksler, pelvis ve üreter ise üreter tomurcuğundan gelişir. Böylece, metanefrik böbreğin idrar üretimi onuncu haftada başlar (34).

2.1.2 Anatomi

Böbrekler normalde 12.torasik vertebradan 3.lumbar vertebraya uzanan bir çift retroperitoneal organdır. Üst poler orta hatta doğru hafifçe meyillidir. Sağ böbrek sol böbreğe göre biraz daha aşağıda yerleşimlidir ve küçüktür. Ortalama bir erişkin böbreği 11-12 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde, 2,5-3 cm kalınlığındadır. Erkeklerde 125-170 gr, kadınlarda 115-155 gr ağırlığındadır (35).

Böbrekler kolayca ayrılabilen sert ve pürüzsüz fibröz bir kapsül yapısıyla çevrilidir. Her iki böbreğin etrafında renal hilus ve renal sinüse doğru uzanan perinefrik yağ dokusu bulunmaktadır. Böbrekler ve adrenal bezleri çevreleyen perinefrik yağ dokusu sıkı membranöz bir fasya (Gerota fasyası) ile çevrelenmiştir (36).

Böbreğin kesit yüzeyinde soluk görünümlü korteks ve daha koyu görünümlü medulla bulunmaktadır. Renal medulla, böbrek piramitleri olarak adlandırılan 8-18 adet, çizgili, konik şekilli alanlara bölünmüştür. Piramitlerin tepesi renal papillayı oluşturur ve her papilla ayrı bir minör kalikse açılır. Piramitlerin tabanı kortikomedüller sınırda yer alır. Renal korteks yaklaşık 1 cm kalınlığındadır. Korteks piramitlerin arasında medullaya doğru uzanarak Bertini sütunlarını oluşturur (36).

Hilusta toplayıcı sistem, sinir, arter, ven ve lenfatikler bulunur. Ana renal arter aorttan ayrılır, ön ve arka olmak üzere iki dal verir. Bu iki arter ise beş segmental artere ayrılır. Ön kısım böbreğin büyük çoğunluğunu besler. Segmental arterler böbrek dokusunda ilerleyerek interlobar, arkuat, interlobüler arterler ve arteriyollere dönüşür. Venöz drenaj için arkuat venler birleşerek üç segmental veni oluşturur ve pelvisin ön kısmında renal veni oluşturmak üzere birleşirler (35).

Ana lenfatik drenaj, kan damarlarını takip eder. Parankimden renal sinüse ve hilusa doğru devam ederek lateral aortakaval lenf nodlarında sonlanır. Yüzeyel korteksten gelen lenfatik drenaj ise anal lenfatik drenaja katılmak için kapsüle ve oradan hilusa doğru ilerler (35).

2.1.3 Histoloji

Böbreğin fonksiyonel birimi nefronlardır. Her yetişkin böbreğinde yaklaşık 1-4 milyon nefron mevcuttur. Nefronların çoğunluğunu kortikal nefronlar oluşturur, jukstamedüller nefronlar medullaya yakındır ve daha uzun bir henle kulbuna sahiptir. Nefron renal cisimcik ve devamında üç tübül yapısından oluşur. Her nefronun başlangıcında bulunan renal cisimcik, glomerüler kapiller yumak ve etrafındaki çift katlı bowman kapsülünden meydana gelmektedir. Bowman kapsülünün iç tabakası veya visseral tabaka ince pencereleri bulunan kapiller damarların etrafını sarar. Dış parietal tabaka kapsülün yüzeyini oluşturur. İki tabaka arasında kapiller damar ve visseral tabakadan süzülen sıvının biriktiği boşluk bulunur. Her renal cisimciğin afferent arteriolün girdiği, efferent arteriolün ayrıldığı vasküler kutbu ile proksimal tübülün başladığı tübüler kutbu vardır. Dış parietal tabaka skuamöz epitel ile örtülü olup tübüler kutupta bu epitel kübik epitele dönüşerek proksimal tübülde de devam eder (37).

Proksimal tübül hücreleri santral yerleşimli nükleuslara ve bol mitokondri içeriğinden dolayı asidofilik sitoplazmaya sahiptir. Apekte reabsorpsiyonu kolaylaştıran fırçamsı kenarlara sahip çok sayıda uzun mikrovillus bulunur. Proksimal tübül medullaya girerek henle kulbu olarak devam eder. Henle kulbu ince inen kol ve çıkan ince koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Her iki kol da skuamöz epitel ile örtülüdür. Çıkan ince kolda epitel tekrar kübik epitele dönüşür ve medulladan kortekse doğru çıkan kalın kol haline gelir. Kortekste glomerülün hemen yakınında makula densayı ve distal tübülü oluşturur (37).

Distal tübüllerin basit küboidal hücreleri daha küçük olmaları, fırçamsı kenarları olmaması, lümenlerinin büyük oranda boş olması ile proksimal tübül hücrelerinden farklılık göstermektedir. Ayrıca daha az sayıda mitokondri içerdiklerinden daha az asidofiliktir (37).

Nefronun son kısmı olan bağlantı tübüleri süzülen sıvıyı ihtiyaç halinde fazla sıvının geri emildiği toplayıcı sisteme buradan da minör kalikslere taşır. Nefronlardan çıkan bağlantı tübüllerinin bir kısmı birleşerek kortikomedüller ışınsal alanda toplayıcı kanalları oluşturur. Her piramidin tepesinde birkaç medüller toplayıcı kanal, idrarı direk minör kalikse ileten papiller kanalı (Bellini kanalı) oluşturmak için tekrar birleşir (37). Süzülen sıvının yaklaşık %90'ı emildikten sonra idrarı oluşturacak kalan kısım minör kalikslardan majör kalikslere oradan da pelvis, üreter ve mesaneye iletilir (36).

2.2 RENAL HÜCRELİ KARSİNOM

2.2.1 Genel Özellikler

RHK, genellikle erişkin çağda görülen bir tümördür. Ortalama tanı yaşı 55-60 yaşıdır. Çocuklarda tanı alan RHK'lerin çoğu yetişkinlerdekine benzer bir görünüm ve davranışa sahiptir. Ancak yüksek oranda MiT ailesi translokasyonu göstermektedir (38).

Erişkinlerde erkek ve kadınlarda görülme oranı 2:1'dir. Bilateralite %1 oranında görülmektedir. Sigara ve yüksek tansiyon risk faktörleri arasındadır. RHK, çoğunlukla sporadik olarak ortaya çıkmaktadır. Vakaların yalnızca %2-4'ü herediter olarak gelişmektedir. Herediter hastalıklar arasında Von Hippel-Lindau sendromu, Tuberoz skleroz, nöroblastom, erişkin tip otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı ve böbreğin edinsel kistik hastalıkları sayılabilir (38)(39).

2.2.2 Klinik Özellikler

RHK, genellikle hematüri, kostovertebral ağrı veya karında kitle ile prezente olur. Ancak, bu temel üç belirti yalnızca %9 hastada bir arada bulunur. Diğer belirtiler arasında kilo kaybı, anemi ve ateşin yanısıra metastaz bölgesine bağlı gelişen semptomlar sayılabilir. Nadir olarak lökomoid reaksiyon, sistemik

amiloidoz, gastrointestinal rahatsızlıklar, hepatosplenomegali, hiperkalsemi, polisitemi ve karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi paraneoplastik semptomlar da görülebilir (38).

Renal kitleden şüphelenildiğinde tanı aracı olarak Bilgisayarlı Tomografi (BT) veya Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin artan kullanımı ile RHK'li olgular artık insidental olarak da saptanabilmektedir (38).

2.2.3 Renal Hücreli Karsinomlarda Sınıflama

Renal hücreli tümörlerde kullanılan güncel sınıflama sistemi 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasıdır (39)(**Tablo 2-1**).

Tablo 2-1. Renal Hücreli Tümörler DSÖ sınıflaması

Berrak hücreli renal hücreli karsinom
Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm
Papiller renal hücreli karsinom
Hereditör leiomyomatozis ve renal hücreli karsinom-ilişkili renal hücreli karsinom
Kromofob renal hücreli karsinom
Toplayıcı duktus karsinomu
Renal medüller karsinom
MiT ailesi translokasyon tipi renal hücreli karsinom
Süksinat dehidrogenaz eksikliği ilişkili renal hücreli karsinom
Müsinöz tübüler ve içsi hücreli karsinom
Tübülökistik renal hücreli karsinom
Edinsel kistik hastalık ilişkili renal hücreli karsinom
Berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom
Renal hücreli karsinom, sınıflandırılmayan
Papiller adenom
Onkositom

2.2.4 Renal Hücreli Karsinomlarda Derecelendirme

Renal neoplaziler için çeşitli derecelendirme sistemleri önerilmiştir, ancak bunlar RHK'nin birçok tipi için standardize edilememiştir. Önerilen çok sayıda derecelendirme sisteminden en çok kullanılan Fuhrman ve ark.'nın geliştirdiği derecelendirme sistemidir. Fuhrman derecelendirmesinde nükleer boyut, nükleer şekil, nükleol belirginliği ve kromatin yapısı temel alınmaktadır (39)(40) (**Tablo 2-2**). Ancak nükleer pleomorfizm iyi tanımlanmamıştır ve nükleol belirginliği ile ilgili kriterler gözlemciler arasında farklılık göstermektedir. Özellikle derecede 2 ve 3 tümörler değerlendirildiğinde tek bir derecede birikim olduğu görülmüştür (41).

Tablo 2-2 Fuhrman Derecelendirme Sistemi

Fuhrman nükleer derece	Özellikler
Derece 1	*Tümör çekirdeği 10 mikron çapında, yuvarlak, uniform yapıdadır. *Çekirdekçik yok veya belirsizdir.
Derece 2	*Tümör çekirdeği yaklaşık 15 mikron çapında, hafif düzensiz sınırlıdır. *x400 büyütme ile görülebilen çekirdekçiğe sahiptir.
Derece 3	*Tümör çekirdeği yaklaşık 20 mikron çapında, belirgin derecede düzensiz sınırlıdır. *x100 büyütme ile görülebilen büyük çekirdekçiklere sahiptir.
Derece 4	*Tümör çekirdeği 20 mikronun üzerinde çapa sahip, pleomorfik, multilobüle, düzensiz sınırlıdır. *Kaba kromatin yapısı görülmektedir. *x40 büyütme ile görülebilen makronükleollere sahiptir.

Fuhrman sisteminin yorumlanması, geçerliliği ve tekrarlanabilirliği ile ilgili sorunlarla karşılaşıldığından DSÖ/International Society of Urological Pathology (ISUP) derecelendirme sistemi kullanılmaktadır (**Tablo 2-3**). Bu derecelendirme sistemi derece 1-3 tümörler için nükleol belirginliğini temel

almaktadır. Derece 4 tümörlerde ise belirgin nükleer pleomorfizm, tümör dev hücreleri ve/veya rabdoid ve/veya sarkomatoid diferansiasyon esas alınmaktadır. Derecelendirme, tümör içerisinde en yüksek nükleer pleomorfizm gösteren alana göre yapılmalıdır. Bu derecelendirme sisteminin berrak hücreli renal hücreli karsinom ve papiller renal hücreli karsinomlarda prognostik önemi doğrulanmıştır (39).

Tablo 2-3 DSÖ/ISUP Derecelendirme Sistemi

Derece	Nükleol ve diğer özellikler
1	Nükleol yok/belirsiz ve x400 büyütmede bazofilik
2	Nükleol x400 büyütmede belirgin ve eozinofilik, x100 büyütmede belirgin değil ancak görülebilir
3	Nükleol x100 büyütmede belirgin ve eozinofilik
4	Belirgin nükleer pleomorfizm, multinükleer dev hücreler ve/veya rabdoid ve/veya sarkomatoid diferansiasyon

2.2.5 Renal Hücreli Karsinomlarda Evreleme

Renal hücreli karsinomda prognozu büyük ölçüde etkileyen anatomik faktör tümör evresidir. Tümör evrelemesi üç kategoriden oluşmaktadır. “T” tümörü, “N” lenf nodunu, “M” metastazı temsil etmektedir. Böbreğe sınırlı tümörler, tümör boyutuna göre pT1a/b ve pT2a/b olarak iki kategoriye ayrılmaktadır. Bölgesel yayılım pT3’ü ifade eder ve yayılım bölgesine göre üç kategoriye ayrılır. Tümörün daha uzak bölgelere, ipsilateral adrenal gland ve gerota fasyasına yayılımı ise pT4’ü ifade eder (39)(42). 2010 American Joint Committee on Cancer (AJCC)’ye göre TNM sınıflaması ve evrelendirme sistemi sırasıyla **Tablo 2-4** ve **2-5’te** verilmiştir.

Tablo 2-4 Renal Hücreli Karsinomların 2010 TNM Sınıflaması

T-Primer Tümör	
TX	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümöre ait kanıt yok
T1	Tümörün en büyük çapı ≤ 7 cm, böbreğe sınırlı
T1a	Tümörün en büyük çapı ≤ 4 cm, böbreğe sınırlı
T1b	Tümörün en büyük çapı >4 cm, ancak ≤ 7 cm, böbreğe sınırlı
T2	Tümörün en büyük çapı >7 cm, böbreğe sınırlı
T2a	Tümörün en büyük çapı >7 cm, ancak ≤ 10 cm, böbreğe sınırlı
T2b	Tümörün en büyük çapı >10 cm, böbreğe sınırlı
T3	Tümör major venlere ya da perirenal dokulara uzanmış ancak ipsilateral adrenal bezi invaze etmemiş ya da Gerota fasyasını aşmamış
T3a	Tümör makroskopik olarak renal ven ya da kas içeren segmental dallarına uzanmış ya da perirenal ve/veya renal sinüs yağ dokuyu invaze etmiş, ancak Gerota fasyasını aşmamış
T3b	Tümör makroskopik olarak diyafram altındaki vena kava inferior'a uzanmış
T3c	Tümör makroskopik olarak diyafram üzerinde kalan vena kava inferior'a uzanmış ya da vena kava inferior duvarını invaze etmiş
T4	Tümör Gerota fasyasını aşmış (ipsilateral adrenal bez invazyonu dahil)
N-Lenf Nodları	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var
M-Uzak metastaz	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 2-5 Renal Hücreli Karsinomlarda Klinik Evreleme

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

2.3 BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOM

BHRHK, renal kanserlerin %60-80'ini oluşturan RHK'nin en sık görülen alttipidir. Tipik olarak, her iki böbrekte de eşit sıklıkta ortaya çıkan soliter kortikal tümörlerdir. Bazen, kitlenin sadece küçük bir kısmı kortekse bağlanır, büyük kısmı ekstrarenal kitle olarak görülür. Vakaların %5'inden azında multifokal ve/veya bilateral görülürler. Tümörün multifokal, bilateral olması veya erken yaşta görülmesi Von Hippel Lindau gibi kalıtsal hastalıkları akla getirmektedir. (38)(39).

2.3.1 Klinik Özellikler

Böbrek tümörlerinin yaklaşık %60-80'i ultasonografi (USG), BT veya MRG ile insidental olarak tespit edilirler. Semptomatik olduğunda en sık görülen belirtiler hematüri ve yan ağrısıdır. Kilo kaybı ve ateş geç evrelerde ortaya çıkar (39).

BHRHK'ler en sık renal sinüs damar yapıları, renal venler ve vena kava yoluyla hematojen metastaz yaparak akciğerlere ulaşır. Renal venler aracılığıyla lomber venlere uzanım sonucu tümör paravertebral venöz pleksusa ulaşır. Böylece merkezi sinir sistemi, baş-boyun ve kemik metastazını kolaylaştırır. BHRHK, torasik duktus aracılığıyla hiler, aortik ve kaval lenf nodlarına metastaz yapabilir (39).

2.3.2 Makroskopik Özellikler

BHRHK tipik olarak çevre dokulardan fibröz bir psödokapsül yapısıyla ayrılmış solid sarı-gri renkli alanlar barındıran tümöral kitle şeklinde ortaya çıkar. Tümörde sıklıkla hemoraji, nekroz, kalsifikasyon ve kistik değişiklikler de izlenmektedir. İleri derecede kistik dejenerasyon görülen vakalarda tümör mural nodül olarak kalır. Bazen mural nodül de ortadan kalkarak mikroskopik incelemede tümör tanısı verilmektedir (38). Vakaların yaklaşık %5'inde sarkomatoid diferansiasyon görülmektedir. Makroskopik olarak bu alanlar solid kirli beyaz renkte görülme eğilimindedir (43).

2.3.3 Mikroskopik Özellikler

BHRHK'de tümör hücreleri geniş berrak bir sitoplazmaya sahiptir. Sitoplazmanın berrak görünümü glikojen ve lipit birikiminden kaynaklanır. Sitoplazmada berrak görünümün yanısıra değişen formlarda granüler bir görünüm de izlenebilir. Çekirdekler genellikle santral yerleşimlidir. Çekirdek büyüklüğü, kromatin dağılımı ve nükleol belirginliği değişkenlik göstermektedir. Bu özellikler mikroskopik derecelendirmenin temelini oluşturmaktadır (38).

BHRHK'de en sık solid alveolar ve asiner patern görülür. Tipik olarak alveolar kümeler oluşturmuş tümör hücreleri etrafında ince küçük bir damar ağı dikkati çeker. Bu vasküler patern BHRHK'yi RHK'nin diğer alt tiplerinden ayırmada önemli bir bulgudur (43). Alveolar paternde lümen yapısı görülmezken, asiner paternde asidofilik seröz sıvı ve eritrositlerle dolu santral yerleşimli lümen yapısı mevcuttur. Alveolar ve asiner yapılar genişleyerek mikrokistik ve makrokistik paternler oluşturabilir. Nadiren belirgin tübüler patern, fokal olarak da psödopapiller patern görülebilir (39). Histolojik derece yükseldikçe sarkomatoid ve/veya rabdoid patern gelişimi göze çarpmaktadır. Rabdoid diferansiasyon, homojen eozinofilik sitoplazmalı eksantrik nükleuslu hücrelerle karakterizedir. Burada, tümör yapısal olarak undiferansiye tabakalar oluşturmuş tümör hücreleri ve bunlarla ilişkili kan damarlarından oluşmaktadır. RHK'de stroma toplayıcı duktus karsinomu ve ürotelyal karsinomdaki gibi desmoplastik değildir. Değişken derecelerde lenfositik infiltrat bulunabilir (38).

2.3.4 İmmunohistokimyasal Profil

İmmunhistokimyasal olarak BHRHK keratin ve EMA gibi epitelyal belirteçlerle pozitifdir. Tümör hücrelerinde mezenkimal bir belirteç olan vimentin de pozitif boyanma göstermektedir. Pozitif boyanan diğer immün boyalar arasında CD10, karbonik anhidraz IX, RCCma, PAX-2 ve PAX-8 sayılabilir. Sitokeratin 7 (CK 7), berrak sitoplazmalı diğer RHK tiplerini BHRHK'den ayırt etmede kullanılır. BHRHK'de negatif boyanır. Nadir pozitif boyandığı durumlarda ise fokal ya da yamasal aktivite gösterir (38).

2.3.5 Ayırıcı Tanı

Tipik renal hücreli karsinomun tanısı basit ve kolay bir şekilde konur. Sarkomatoid değişiklik görülen vakalar sarkomları taklit ettiği için tanı güçlüğü ortaya çıkar. Ancak renal sarkomlar oldukça nadir görüldüğünden dikkatli bir şekilde tanı verilmelidir. Kapsamlı örnekleme yapıldığında bu tümörlerde küçük de olsa tipik renal hücreli karsinom odakları bulunabilir. İmmunohistokimyasal boyamada sarkomatöz görülen alanlar genellikle epitelyal belirteçlerle pozitif boyanma gösterir. Bu da RHK tanısını koymada önemli bir bulgudur (43).

Özellikle tümör pelvis yerleşimliyse ve ağırlıklı sarkomatoid özellik gösteriyorsa ürotelyal karsinom veya renal hücreli karsinom alanlarını bulmak için kapsamlı örnekleme yapılmalıdır (43).

2.3.6 Prognostik Faktörler

BHRHK saptanan hastalarda prognoz en doğru şekilde patolojik evre ile tahmin edilir. Aynı evredeki tümörler arasında bakılması gereken diğer prognostik parametreler tümör derecesi, tümör nekrozunun varlığı, sarkomatoid ve rabdoid farklılaşmadır. İmmunohistokimyasal ve moleküler belirteçlerin potansiyel prognostik faktörler olarak kullanımı için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak klinikte rutin kullanıma girmemiştir (39).

BHRHK'nin 2010 TNM sınıflamasına göre pT1a, pT1b, pT2a, pT2b, pT3a, pT3b, pT3c, pT4 olan hastalar için 10 yıllık kansere özgü sağkalım oranları %96, %80, %66, %55, %36, %26, %25 ve %12 olarak tespit edilmiştir (44). Sarkomatoid

ve rabdoid farklılaşma kötü prognoz ile ilişkilidir. Sarkomatoid değişikliği olan tümörler için 5 yıllık median sağkalım oranı %15-22 iken rabdoid değişikliği olan tümörlerde median sağkalım 8-31 aydır. Tümör nekrozunun varlığı bağımsız bir prognostik öneme sahiptir. Genel olarak toplam tümör hacminin %10'undan fazlasını oluşturan tümör nekrozu daha olumsuz sonuçlar vermektedir (39).

2.3.7 Genetik Faktörler ve Tedavi

BHRHK vakalarının çoğunda promotor metilasyonu yoluyla 3p13'ü susturma ile başlayan kromozom 3'ün terminal kolunda delesyon ile VHL geninin tümör baskılayıcı özelliğinin değişmesi ve somatik mutasyonlar ortaya çıkmaktadır. VHL genindeki bu değişiklik BHRHK'ye özgüdür, diğer RHK tiplerinde bulunmaz. Ancak rutin uygulamada ayırıcı tanıda nadiren yapılır. Ayrıca BAP1 genindeki mutasyonlar yüksek dereceli tümörler ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (38).

Patogeneizde saptanan moleküler değişiklikler, BHRHK'nin bazı klinik ve morfolojik özelliklerine ışık tutarak çeşitli hedefe yönelik tedavilerin temelini oluşturmuştur. Örneğin; VHL gen ürünü, HIF-1a'nın degradasyonu için gereklidir. BHRHK'de VHL proteinin kaybıyla HIF-1a birikir, bu da çeşitli hipoksi ile indüklenebilir genlerin aktivasyonu ve aktivasyona bağlı meydana gelen ürünlerin artması ile sonuçlanır. Bu ürünler arasında VEGF, PDGF-B, TGF-a, GLUT-1, metalloproteinazlar ve eritropoetin bulunmaktadır. Ayrıca AKT/mTOR yolu da HIF-1a'yı aktive etmektedir. Bu nedenle hedefe yönelik tedavide VEGF ve PDGF reseptörlerine yönelik sunitinib ve sorafenib gibi tirozin kinaz inhibitörleri kullanılabilir. mTOR'u inhibe eden temsirolimus ve VEGF'yi inhibe eden antikorlardan bevacizumab kullanılabilecek tedavi yöntemleridir (38).

2.4 KÖK HÜCRE

Kök hücreler, çok hücreli organizmalarda bulunan, mitotik hücre bölünmesi ve çeşitli özel hücre tiplerine farklılaşma yoluyla kendi kendini yenileme yeteneğine sahip olan hücre tipidir. Kök hücrelerin ortak özellikleri arasında kendi kendini yenileme yeteneği, hücresel progeni oluşturma, özel nişler içerisinde lokalizasyon ve bir organ içerisinde tüm hücre tiplerine farklılaşma yer alır (45).

2.4.1 Kanser Kök Hücreleri

Son çalışmalar, neoplastik hücrelerin normal doku gelişimini taklit ettiğini ve küçük bir kök hücre popülasyonundan köken alabileceğini göstermiştir. Ayrıca, tümör heterojenitesinin tanınması kök hücre benzeri özelliklere sahip bir tümör hücre alt kümesinin var olduğunu iddia eden kanser kök hücre hipotezine yol açmıştır (45). Kanser kök hücre hipotezi, kanserlerin çok yönlü farklılaşma yeteneğine sahip kök veya progenitör hücre transformasyonundan kaynaklandığını savunmaktadır. KKH'leri, herhangi bir tümörün yalnızca küçük bir yüzdesini oluşturabilir, ancak bu küçük hücre popülasyonu tümörün hayatta kalabilmesi için kritik bir öneme sahiptir. Bu yüzden, bu hücrelerin ortadan kaldırılmasının hastalığın nüks etmemesi açısından önemli bir terapötik hedef olduğu varsayılmaktadır. KKH'nin en çok kabul edilen deneysel gösterimi, bir veya çok sayıda olası kanser kök hücre belirteciye dayalı olarak izole edilen tümör hücre popülasyonlarının immün sistemi baskılanmış farelere veya 3D hücre kültürü sistemlerine aktarımına dayanmaktadır. Bu deneylerde heterojen primer tümör oluşumu sağlanmaktadır. Bu deneysel strateji kullanılarak, lösemi, meme karsinomu ve beyin tümörlerinde kanser kök hücre hipotezini destekleyen ilk veriler elde edilmiştir (45). Bugüne kadar KKH akciğer, kolon, prostat, over tümörleri ve melanomlar olmak üzere birçok solid tümörde tespit edilmiştir (6).

Kanser kök hücre araştırması alanındaki zorluklardan biri, yalnızca KKH tarafından eksprese edilen bir belirteç eksikliğidir. Farklı tümör tiplerinde, kanser kök hücre fenotipi gösteren birçok belirteç tespit edilebilir. Ancak bir belirtecin varlığı ya da yokluğu her zaman bir hücrenin kanser kök hücresi olup olmadığı hakkında yeterli bilgi vermeyebilir (45).

2.4.2 Epitelyal-Mezenkimal Geçiş

Epitelyal orijinli tümörlerde bazı hücrelerin mezenkimal hücrelerin özelliklerini kazandığı tespit edilmiştir. Benzer bir süreç normal embriyogenez sırasında da meydana gelmektedir. Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT) olarak adlandırılan bu antite hücrelere bazal membran, yoğun bir kollajen matriksi, glikoproteinler ve proteoglikanlar gibi normalde epitel hücreleri için sınır görevi gören doku düzlemleri boyunca hareket etme yeteneği sağlar. Tümör hücrelerinin

bazal membrandan geçişi proteolitik aktivite oluşturur. Ayrıca tümör hücresi, ekstraselüler matrikste bulunan proenzimleri aktive eden faktörler üretebilir. Örneğın tümör hücreleri ürokinaz veya plazminojen aktivatörü üretebilir. İnterstisyel stromal bölgeye erişim sağladıktan sonra lenfatiklere ve kan damarlarına geçebilir ve metastaz yapabilir. Buna ek olarak EMT'nin hücelere invaziv özelliğın yanında kanser kök hücresi benzeri özellik de kazandırdığı görülmüştür. EMT'nin önemli bir özelliğı de epitel hüceleri arasında hücrelerel etkileşimi sağlayan sıkı bağılantıların kaybıdır. Bu mekanizma moleküler düzeyde temelde E-kadherin ekspresyonunun kaybıyla ilişkilidir (46). Sonuç olarak, bu sıkı bağlantı bileşenlerinde herhangi bir bozulma karsinogeneizde EMT indüksiyonunda önemli bir rol oynar (3).

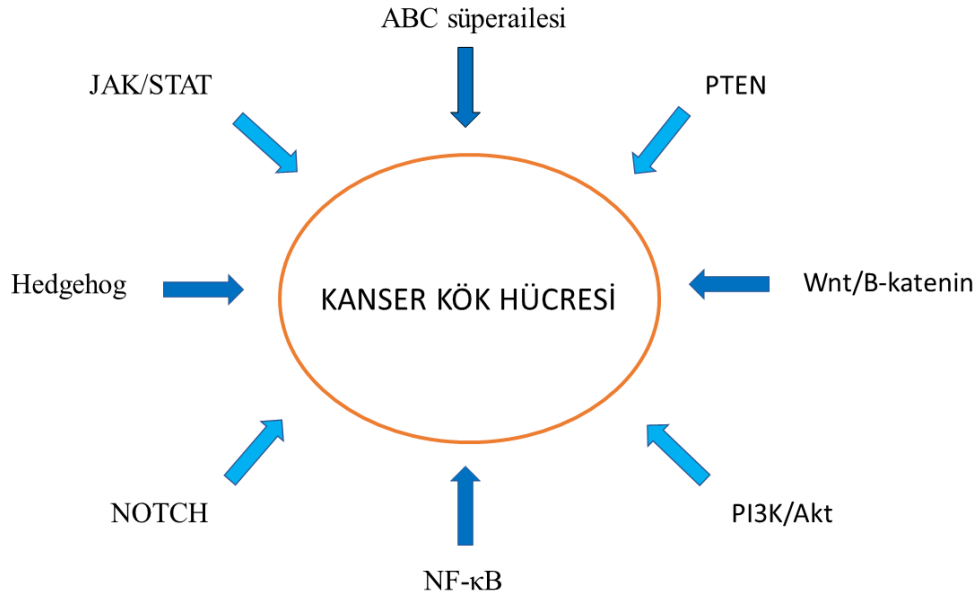
2.4.3 Wnt/B-katenin Sinyal Yolağı

Wnt sinyal yolağının E-kadherin aracılı düzenlenmesinde Wnt sinyalinin varlığı önemli bir rol oynar. Wnt sinyali yokluğunda B-katenin, E-kadherin'in sitoplazmik uzantılarıyla bağlanma gösterir veya sitoplazmada bir yıkım kompleksi (adenomatöz polipozis koli (APC), Axin, GSK3B) tarafından yıkılır. Wnt sinyali varlığında yıkım kompleksi inhibe edilerek B-katenin sitoplazmada stabilize edilir ve nükleusa doğru yer değıştirerek T cell factor/lymphoid enhancer factor (TCF/LEF) ailesi transkripsiyon faktörleri ile bağlanır. Böylece hedef gen ekspresyonunun aktivasyonu sağlanır. E-cadherin ekspresyonunun kaybında ise sitoplazmik bağlantıların kaybına bağılı olarak B-katenin serbest hale geçer. Ayrıca kaderinler, B-katenin'e yüksek bir bağlanma afinitesine sahiptir ve TCF/LEF ile B-katenin etkileşiminde rekabet ederek hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu önler (21).

2.4.4 Wnt/B-katenin Sinyal Yolağı ve Kanser Kök Hüceleri

Sinyal yolaklarında meydana gelen düzensizlikler KKH'lerinin kök hücre özelliklerini korumalarında önemli bir rol oynar. KKH'leri ve normal kök hücelerin kendi kendini yenilemesi ve farklılaşmasında rol oynayan sinyal yolakları arasında PI3K/Akt, PTEN, JAK/STAT, Wnt/B-katenin, hedgehog, Notch,

NF- κ B, Bcl-2 ve diğeri sayılabilir. KKH'leri ile ilişkili sinyal yolları **Şekil 2-1**'de gösterilmiştir (6).



Şekil 2-1 Kanser kök hücreleri ile ilişkili sinyal yolları

KKH'lerinin kök hücre özelliklerinin korunmasının, Wnt sinyal yolağı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Anormal Wnt/B-katenin sinyali lösemi, kolon, meme ve cilt kanserleri gibi çeşitli malignitelerde tanımlanmıştır. Üzerinde en çok çalışma yapılan tümörlerden biri olan kolon karsinomunun APC geninde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir. APC geninde meydana gelen mutasyonlar, B-katenin'in stabilizasyonunu sağlar. Böylece Wnt kaskadını aktive eder ve epitelial hücre transformasyonunu indüklemiş olur (6).

2.4.5 Kanser Kök Hücrelerini Hedef Alan Tedavi Stratejileri

Kansere karşı mevcut terapötik stratejiler sıklıkla tedavide başarısızlığa yol açan ciddi sınırlamalara sahiptir. Birçok malignitede tedavide başarısızlığın en sık nedeni kemoterapi ve radyoterapiye dirençtir. KKH'lerine yeterince spesifik olmayan birçok tedavi de sağlıklı dokular için toksik olabilir. Buna ek olarak, çoğu tedavi KKH'lerini ortadan kaldıramadığından hastalar nüks ve metastaz riskiyle karşı karşıya kalmaktadır. Bu zamana kadar elde edilen veriler, KKH

popölasyonlarının KKH olmayan popölasyonlara göre geleneksel kanser tedavilerine daha dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle KKH'lerinin ortadan kaldırılması, malign hastalıkların tedavisinde büyük önem taşımaktadır (6).

Son zamanlarda KKH'lerini öldürmek ve bu hücreleri destekleyen mikroçevreyi değıştirmek amacıyla çok sayıda yeni terapötik sistem tasarlanmıştır. Hem yüzey belirteç farklılıkları hem de sinyal yolaklarındaki değışiklikler terapötik hedeflerdir. Yapılan çalışmalarda ABC süperailesi, anti-apoptotik faktörler, detoksifiye edici enzimler, DNA tamir enzimleri ve onkolojik kaskadlar (Wnt/B-katenin, hedgehog, EGFR ve Notch yolları gibi) dahil olmak üzere birçok potansiyel KKH hedefi belirlenmiştir. Örneğin, yüksek B-katenin seviyelerinin kolon kanserinde KKH tümörojenitesiyle korele olduğu bildirilmiştir. Birçok farmakolojik ajan Wnt sinyal yolağı inhibitörü olarak araştırılmaktadır. Wnt yolağına karşı geliştirilmiş monoklonal antikolar umut verici bir anti-tümöral aktivite taşımaktadır. Benzer şekilde diğer terapötik ajanlar için de prelinik ve klinik çalışmalar devam etmektedir (6).

2.4.6 Geliştirilmekte Olan Kök Hücre Tedavileri

Fetal veya erişkin dokulardan izole edilen pluripotent hücreler potansiyel kök hücre kaynakları olarak kabul edilmektedir. Pluripotent hücreler arasında embriyonik kök hücre (EKH) veya indüklenmiş pluripotent kök hücre (İPKH) yer almaktadır. Her ikisi de kendi kendini yenileme ve farklı bir hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahip hücrelerdir. İPKH'ler bir hastanın kendi fibroblastlarını yeniden programlama genleriyle (Oct3/4, Sox2, c-Myc, KLF4) kök hücreye dönüştürülerek elde edilebilir (47).

Kök hücre tedavisi, iyileşme amacıyla hücrelerin doğrudan vücuda verilmesini içerir. Bu yaklaşımdaki tedavi birimi tek hücrelerdir. Rejeneratif tıpta hücre tedavisinin amacı, organ fonksiyonlarını yerine getirme kapasitesine sahip uzun vadeli bir greft oluşturmaktır. Buna örnek olarak, kemik iliğı transplantasyonu verilebilir. Kemik iliğı transplantasyonunda hematopoetik kök hücreler kemik iliğıne transfer edilerek tüm kan elemanlarını yeniden oluşturmaktadır (48).

Böbrekteki EKH'ler böbrek yetmezliğı için potansiyel bir tedavi olarak incelenmiştir. Ayrıca İPKH'den türetilen böbrek hücrelerinin invitro indüksiyonu ve bazı invivo klinik çalışmaların, böbrek hastalıklarının tedavisinde pozitif

terapötik etkileri olabileceğini göstermiştir. Ancak klinik deneylerin başlatılabilmesi için etik ikilemler, kontrolsüz büyümeden kaynaklanan tümör tehlikesi ve immünojenik problemlerin çözülmesi gerekmektedir (47).

2.5 TÜMÖR SÜPRESÖR GEN VE ONKOGEN KAVRAMLARINA GENEL BAKIŞ

DNA’da meydana gelen mutasyonlar protein fonksiyonunda ve ekspresyonunda değişiklikler yaparak kanserin başlaması, ilerlemesi veya metastaz potansiyelinin artmasına yol açar. Tümör süpresör genler normalde hücresel büyümeyi negatif yönde düzenler ve kontrol altında tutar. Bu genler ayrıca DNA onarımı ve hücre sinyalizasyonu için de önemlidir. Tümör süpresör gen fonksiyonunun yokluğu, normal hücre büyümesinde disregülasyona ve maligniteye yol açabilir (45).

Onkogenler, hücre büyümesi ve proliferasyonunda görev alırlar. Normalde hücrede bulunan genler olan protoonkogenlerin mutasyona uğramış şekillerinden oluşurlar. Protoonkogen aktifleştirilmiş bir onkogene üç mekanizma aracılığıyla dönüşmektedir. Bunlar, gen ürününün aktif bir formuyla sonuçlanan protoonkogenin mutasyonu, gen amplifikasyonu ve kromozomal yeniden düzenlenmedir. Birçok kanserde overekspresyonu tanımlanmış başlıca iki onkogen MYC ve MET onkogenleridir. Protoonkogen MYC, hücresel proliferasyonun düzenlenmesinden sorumlu bir transkripsiyon faktörü olan bir gen ürününü kodlar. MYC’in amplifikasyonu prostat kanserinde sık görülen bir olaydır ve insan prostat epitel hücrelerinde MYC ekspresyonu immortalizasyon ile ilişkilendirilmiştir (45).

Renal hücreli karsinomlarda MET ekspresyonunda artış tespit edilmiştir ve ayrıca daha yüksek dereceli kanserlerde daha sık eksprese edilmektedir. MET protoonkogeninin missense mutasyonları herediter renal hücreli karsinom ile ilişkili tümörlerde de MET proteininin yapısal aktivasyonuna neden olabilir (45).

2.6 ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYALAR

2.6.1 SOX9

SOX9, SOX (SRY (cinsiyet belirleyici bölge Y) box) gen süperaillesinin bir üyesidir. Erkek cinsiyet tayini, kondrogenez, nörogenez ve nöral krest gelişimi dahil olmak üzere gelişimsel süreçlerde rol oynar (11). Son moleküler ve fonksiyonel analizlerde mezoderm, ektoderm ve endoderm kökenli organların kök hücre biyolojisinde önemli rolü tespit edilmiştir. Endoderm ve ektodermden gelişen organlarda postnatal hasarın onarımında rol oynamaktadır. SOX9, bağırsak ve kıl foliküllerinde olduğu gibi hem kök hücreleri hem de progenitör hücreleri korur. Yakın zamanda elde edilen veriler, ektoderm ve endoderm kökenli dokuların kök hücre havuzlarında SOX9 eksprese etmeye devam ettiğini ve bunun da KKH'lerini düzenleyebileceğini düşündürmektedir (12).

Buna ek olarak, SOX9 hücrede transkripsiyon faktörü olarak işlev görür ve Wnt/B-katenin sinyal yolağını aktifleştirir. Böylece tümörlerin ortaya çıkması ve gelişmesi ile yakından ilişkilidir (49)(50)(51). SOX9 geni, bir onkogen olarak çeşitli kanser türlerinde tanımlanmıştır, ancak bazı kanser türlerinde tümör süpresör gen olarak da davranabilmektedir. Yapılan çalışmalarda akciğer adenokarsinomu, meme karsinomu, kolorektal karsinom ve prostat karsinomunda artmış SOX9 ekspresyonu tespit edilmiştir (16)(17)(18)(19).

Yapılan çok sayıda çalışmada, mikroRNA (miRNA) seviyelerinin renal hücreli karsinom da dahil olmak üzere birçok kanser türünde disregülasyona uğradığı görülmüştür. miRNA'lar, onkogen veya tümör süpresör olarak görev yaparlar. Böylece, tümör oluşumu ve ilerlemesinde rol oynarlar. Hu ve ark.nın yaptığı çalışmada miR-138 seviyesinin RHK hücre dizilerinde azaldığı ve bunun da histolojik derece, evre ve lenf nodu metastazı ile anlamlı bir şekilde korele olduğu görülmüştür. Ek olarak miR138'in etkisine benzer şekilde SOX9 ekspresyonunun azalmasının hücre proliferasyonunu ve invazyonu azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgular, RHK'de miR138'in SOX9'un doğrudan ve fonksiyonel hedefi olduğunu göstermektedir (2).

Li ve ark. BHRHK tanısı konulan vakalarda yaptıkları çalışmada tümör hücre dizileri ve dokularında SOX9 ekspresyonunda artış tespit etmiştir. SOX9

ekspresyonu gösteren ve göstermeyen olarak vakaları iki gruba ayırdıklarında; metastatik RHK'si olan SOX9(+) vakaların, SOX9(-) vakalara göre tirozin kinaz inhibitörü tedavisine (TKİ) daha iyi yanıt verdiklerini görmüşlerdir. Bu da SOX9'un gelecekte metastatik RHK'si olan vakalarda TKİ'lere cevabı değerlendirmede tedavide yeni bir hedef biomarker olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (52).

2.6.2 E-kadherin

Kaderinler, hücre-hücre adezyonu, hücre polaritesi, hücre çoğalması, hücre göçü ve farklılaşması ile homeostazda önemli rol oynayan transmembran glikoproteinlerin süperailisidir. Klasik kaderinler, epitelyal kaderin (E-kadherin), nöral kaderin (N-kadherin), plasental kaderin (P-kadherin) ve retinal kadherin (R-kadherin) olarak tanımlanabilir. E-kadherin, hücre-hücre adezyonuna aracılık eden ve epitelyal dokularda eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir (20). E-kadherinin sitoplazmik uzantısı hücre iskeletine bağlanan ve downstream sinyal yollarına aracılık eden kateninler (α , β ve p120) ile ilişkilidir. Bunlar arasında Hippo, Wnt, TGF β , NF- κ B ve diğer büyüme faktörü sinyal yolları bulunur (21).

E-kadherin kaybı, hücrelerin epitelyal fenotiplerini kaybettiği, göç etme yeteneği olan mezenkimal bir komponent kazandığı epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) için anahtar role sahiptir. Metastatik tümör oluşumunda ilk olarak kanser hücrelerinin EMT süreci ile primer tümörden ayrılması gerekir. E-kadherin homofilik bağlanmasının kaybına bağlı olarak hücre adezyonu ve hücreler arası bağlantılarda işlev kaybı gerçekleşir. Bu işlev kaybı da hücrelerin primer tümörden ayrılmasını, çevre dokulara invaze olmasını ve metastatik tümörler oluşturmalarını sağlar (21).

E-kadherin'in tümör süpresör rolü, EMT kaybı ve metastaz oluşumu sırasında meydana gelen değişikliklere bağlı olarak tanımlanmıştır. Bu rolden bağımsız olarak E-kadherin, primer tümör gelişimi ve ilerlemesinde de görev alabilir. Hücre yüzeyindeki ekspresyonunun tamamen kaybolması dışında E-kadherin seviyesinde meydana gelen değişiklikler ile adezyon gücü ve downstream sinyal etkileri bu süreçte etkin faktörlerdir (21). E-kadherin'in tümör süpresör rol oynadığı kanserler arasında hepatoselüler karsinom, baş boyun kanserleri, cilt ve özofagusun skuamöz hücreli karsinomu gibi çeşitli kanser tipleri sayılabilir (53).

Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda RHK/BHRHK'de de E-kadherin downregülasyonu görülmektedir. E-kadherin downregülasyonunun uzak metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (3)(20)(53).

2.6.3 KLF4

KLF4, hücre döngüsünün düzenlenmesi, pluripotensi ve epidermal gelişimin sürdürülmesinin yanısıra normal doku homeostazının sağlanması gibi birçok fizyolojik süreçte görev alan çinko parmak içeren kruppel benzeri faktör ailesinin bir üyesidir. İnce bağırsak, kolon ve timus epitel hücrelerinde bol miktarda bulunur (27)(28). Hücrede transkripsiyon faktörü olarak görev yapar. Hedef gene bağlı olarak farklı mekanizmalar üzerinden transkripsiyonu aktive edebilir veya baskılayabilir (27).

Kök hücreyi destekleyen aktivitesi ve gelişim sırasında büyüme ve farklılaşmayı düzenleme kabiliyeti göz önüne alındığında KLF4'ün karsinogeneizde çeşitli roller üstlenmesi beklenen bir durumdur. Mide kanseri ve kolorektal kanserlerde sıklıkla görülen KLF4 ekspresyon kaybı, KLF4'ün tümör süpresör rolünü araştıran çalışmaların önünü açmıştır (29)(30)(54)(55)(56). Buna ek olarak özofagusun skuamöz hücreli karsinomu, servikal karsinom, pankreas kanseri, mesane ve prostat kanserinde de KLF4 downregülasyonu görülmektedir (32)(57)(58)(59)(60)(61). Deride KLF4'ün aşırı ekspresyonunun skuamöz hücreli karsinoma yol açtığı görülmüştür (62).

Memde KLF4'ün tümör süpresör ve onkogen olarak farklı roller üstlenebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Memenin duktal karsinoma in situ lezyonunda (63) ve infiltratif duktal karsinomu olan vakalarda (64) yapılan çalışmalarda KLF4 ekspresyonunda artış tespit edilmiştir. Bu artışın agresif fenotipi işaret eden bir belirteç olabileceği gösterilmiştir. Ancak insan meme epitel hücrelerinde yapılan başka bir çalışmada KLF4 ekspresyonunda azalmanın metastatik ilerlemeye neden olan hücre göçü ve invazyona öncülük edebileceği tespit edilmiştir (65).

KLF4, nükleer transferi etkileyen iki bağımsız nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) içerir. Özofageal karsinomda in situ hibridizasyon ile nükleer ve sitoplazmik olarak saptanabilir. Meme karsinomunda ve skuamöz hücreli karsinomda non tümöral alanlarla karşılaştırıldığında güçlü nükleer boyanma görülür. Bunun

aksine, prostat karsinomunda sitoplazmik boyanma ön plandadır. KLF4 alt tiplerinden KLF4a, NLS'den yoksun olduğundan hem prostat hem pankreas karsinomunda sitoplazmada yerleşim gösterir. Ayrıca KLF4 sitoplazmada hücre iskeleti organizasyonunda da görev almaktadır. Bu durum KLF4'ün primer rolünün transkripsiyon faktörü olmasına rağmen sitoplazmada da yerleşerek farklı görevler üstlenebileceğini göstermektedir (28).

Yapılan çalışmalarda KLF4'ün p21WAF1/CIP1 (66), p27Kip1 (59)(65), siklin D1 (67) ve siklin B1 (68) gibi hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan gen promotor bölgelerine doğrudan bağlanabildiği gösterilmiştir. Böylece KLF4 hücre döngüsünün uygun olmayan ilerleyişini önlemek için kontrol noktalarını tetikler. KLF4'ün bozunması durumunda hücre döngüsünü engelleyici etkileri ortadan kalkar ve hücreler yeniden hücre döngüsüne girmiş olurlar. Sonuç olarak, KLF4 hücre döngüsünü G1/S ve G2/M geçişlerinde kontrol ederek hücre döngüsünün ilerlemesini düzenleyebilmektedir. KLF4 G1/S geçişini bloke ederek kolon (69), akciğer (70) ve servikal karsinom (59) hücre dizilerinin çoğalmasını engeller. Ayrıca KLF4, prostat kanseri hücre dizilerinde G2/M geçişini bloke ederek hücre döngüsü ilerlemesini durdurur (71).

Literatürde Song ve ark. nın (72) BHRHK'lerde, Li ve ark.nın (73) ise RHK'lerde yaptığı iki çalışmada KLF4'ün tümör gelişimini ve progresyonunu azaltarak tümör süpresör gen olarak görev yaptığı gösterilmiştir. Ancak KLF4'ün BHRHK, EMT ve metastazdaki rolünün altında yatan kesin mekanizmalar hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olgu Seçimi

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2015-2021 tarihleri arasında berrak hücreli renal hücreli karsinom tanısı alan olgulara ait parsiyel ve radikal nefrektomi materyalleri retrospektif olarak incelendi. Bu olgulara ait H&E kesitler ve parafin bloklar arşivden çıkarıldı. Olgulara ait lamalar Leica DM 2000 LED ışık mikroskobu ile tekrar değerlendirildi. Tümörü en iyi yansıtan ve immünohistokimyasal çalışma için en uygun bloklar seçilerek 92 olgu çalışmaya dahil edildi. Tümör bloklarında çoğunluğu kistik ve kanamalı alanlardan oluşan, lamaları ve blokları arşivde bulunamayan vakalar çalışma dışında bırakıldı.

Seçilen 92 olguya ait klinik veriler (yaş, cinsiyet, ameliyat yöntemi, metastaz varlığı) hastanemizin hasta bilgi sisteminden elde edildi. Berrak hücreli renal hücreli karsinom kesitlerinin histolojik dereceleri 2013 DSÖ/ISUP sınıflandırmasına göre değerlendirildi. Klinik evreleme ise 2010 AJCC'ye göre TNM sınıflaması kullanılarak yapıldı.

3.2 İmmünohistokimyasal Boyama

Formalin ile tespit edilmiş, parafine gömülü bloklardan 4 mikron kalınlığında ince kesitler alındı. Alınan kesitler ksilen ile deparafinize edilerek, seri alkol solüsyonları ile rehidrate edildi. Kesitler tam otomatik immünohistokimya cihazı kullanılarak standart compact polymer teknolojili kit ile SOX9 (Epitomics, Burlingame, USA, klon EP317, 1/150 dilüsyon, tavşan monoklonal antikoru), E-kadherin (Leica, Newcastle, UK, klon 36B5, 1/25 dilüsyon, fare monoklonal antikoru) ve KLF4 (Millipore, Temecula, USA, klon 1E6, 1/250 dilüsyon, fare monoklonal antikoru) immünohistokimya boyaları ile boyandı. Antijen açığa çıkarma işleminde EDTA, boyanmanın görülebilmesi için diaminobenzidin (DAB) kromojen kullanıldı. Son olarak Mayer's hematoxilen ile kesitler boyandı. Pozitif kontrol dokusu olarak SOX9 için kolon adenokarsinomu, E-kadherin için meme lobüler karsinomu metastatik aksiller lenf nodu, KLF4 için normal kolon dokusu kullanıldı.

3.3 İmmunoreaktivitenin Değerlendirilmesi

SOX9, E-kadherin ve KLF4 için immunohistokimyasal ekspresyon değerlendirilmesi, ışık mikroskopunda semi-kantitatif olarak yapıldı.

SOX9 için nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma yoğunluğu; boyanma yok (0), hafif (+1), orta (+2) ve şiddetli (+3) olarak değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı değerlendirmesi aşağıdaki değerlere göre skorlandı (32).

- SOX9 için boyanma yaygınlığı;
 - 1: %1-10 tümör hücre boyanması
 - 2: %11-40 tümör hücre boyanması
 - 3: %41-70 tümör hücre boyanması
 - 4: %71-100 tümör hücre boyanması

E-kadherin için membranöz boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma yoğunluğu; boyanma yok (0), hafif (+1), orta (+2) ve şiddetli (+3) olarak değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı değerlendirmesi aşağıdaki değerlere göre skorlandı (53).

- E-kadherin için boyanma yaygınlığı;
 - 0: Hücre boyanmasının olmaması
 - 1: %1-24 tümör hücre boyanması
 - 2: %25-49 tümör hücre boyanması
 - 3: %50-74 tümör hücre boyanması
 - 4: %75-100 tümör hücre boyanması

KLF4 için nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma yoğunluğu; boyanma yok (0), hafif (+1), orta (+2) ve şiddetli (+3) olarak değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı değerlendirmesi aşağıdaki değerlere göre skorlandı (56).

- KLF4 için boyanma yaygınlığı;
 - 0: Hücre boyanmasının olmaması
 - 1: $\leq$ %1 tümör hücre boyanması
 - 2: $>$ %1 tümör hücre boyanması

Boyanma yaygınlığı ve skorları toplanarak her bir immünohistokimyasal boyama için kombine immünskor elde edildi. İstatistiksel değerlendirmeler kombine immünskorlar üzerinden yapıldı.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

Tanımlayıcı istatistiklerde sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma değerleri, kategorik değişkenlerde ise sayı ve yüzde değerleri verilmiştir. İmmünohistokimyasal verilerin prognostik faktörlerle karşılaştırılmasında, iki grup arasında fark olup olmadığını belirlemede Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grup arasında fark olup olmadığını belirlemede Kruskal Wallis testi kullanıldı. Farklılık bulunduğu durumlarda ikili karşılaştırmalar ile fark oluşturan grup/gruplar belirlendi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı. Bağımlı değişkenler arasında fark olup olmadığını belirlemede Paired samples t test kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyaların boyanma yaygınlığı, şiddeti ve immünskorların korelasyon hesaplamasında Spearman korelasyon analizi uygulandı. Korelasyon analizinde anlamlılık, $r=0.01-0.19$ önemsiz, $r=0.20-0.49$ düşük, $r=0.50-0.69$ orta, $r=0.70-0.85$ yüksek, $r=0.86-1.00$ çok yüksek korelasyon olarak değerlendirildi. Analizler IBM SPSS v.20 kullanılarak gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

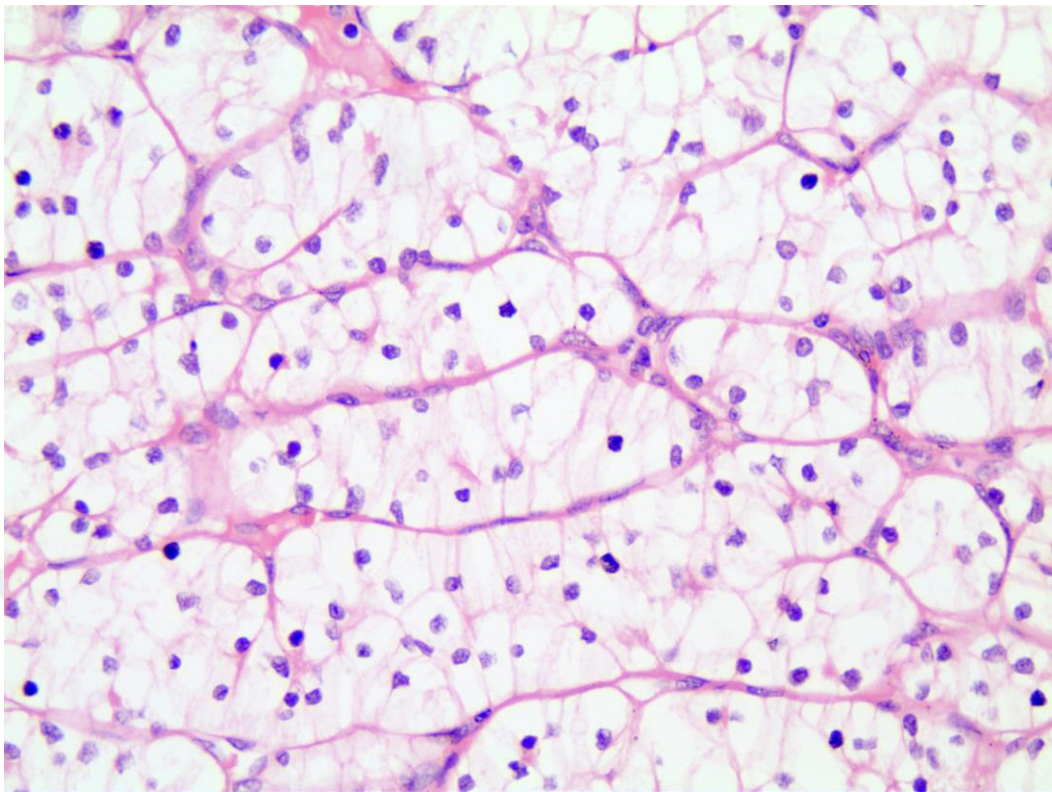
4.1 Klinik ve Patolojik Bulgular

Çalışmaya toplam 92 olgu dahil edilmiştir. Olguların yaşları 29 ile 85 yaş arasında değişmekte olup ortalama yaş 59.5 (± 10.6) idi. Olguların 69'u (%75) erkek, 23'ü (%25) kadın idi. Tümör çapı 3 mm ile 13 cm arasında değişmekte olup ortalama tümör çapı 5.46 (± 3.02) cm olarak ölçüldü. Median değer 4.50 cm idi. Klinik bulgular **Tablo 4-1**'de verilmiştir.

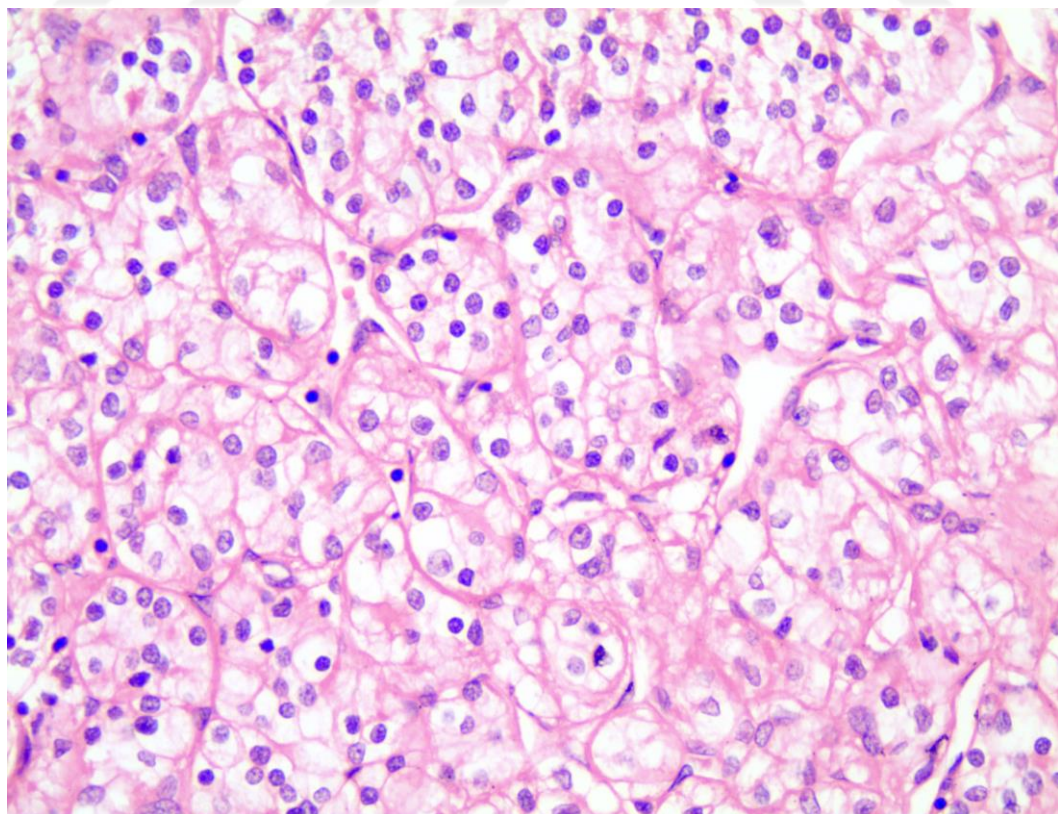
Tablo 4-1 Klinik bulgular

		N (%)	Total (%)
Yaş	≤ 60 yaş	47 (%51.1)	92 (%100)
	> 60 yaş	45 (%48.9)	
Cinsiyet	Kadın	23 (%25)	92 (%100)
	Erkek	69 (%75)	
Ameliyat prosedürü	Parsiyel nefrektomi	22 (%29.1)	92 (%100)
	Radikal nefrektomi	70 (%76.1)	
Tümör yerleşimi	Sağ böbrek	50 (%54.3)	92 (%100)
	Sol böbrek	42 (%45.7)	
Tümör fokalitesi	Unifokal	88 (%95.7)	92 (%100)
	Multifokal	4 (%4.3)	
Tümör çapı	≤ 4 cm	40 (%43.5)	92 (%100)
	> 4 cm	52 (%56.5)	

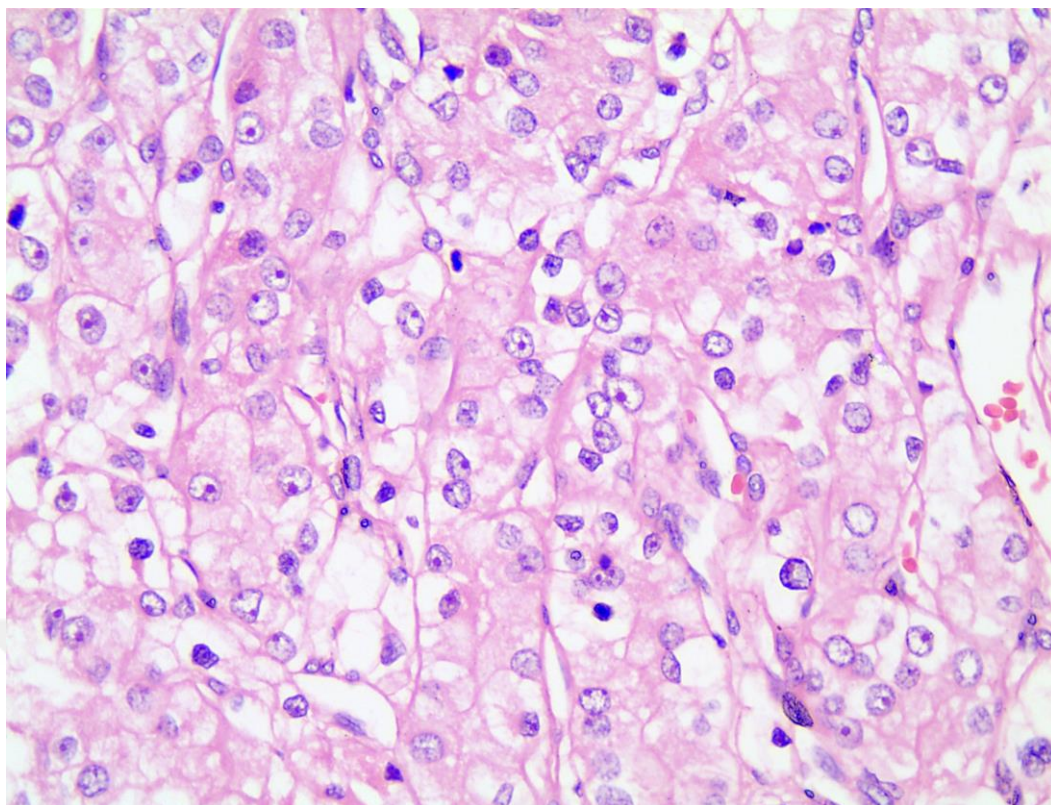
DSÖ/ISUP sınıflamasına göre olguların 9'unda (%9.8) nükleer derece 1, 53'ünde (%57.6) nükleer derece 2, 23'ünde (%25) nükleer derece 3, 7'sinde (%7.6) nükleer derece 4 idi (**Fotoğraf 4-1, 4-2, 4-3, 4-4**).



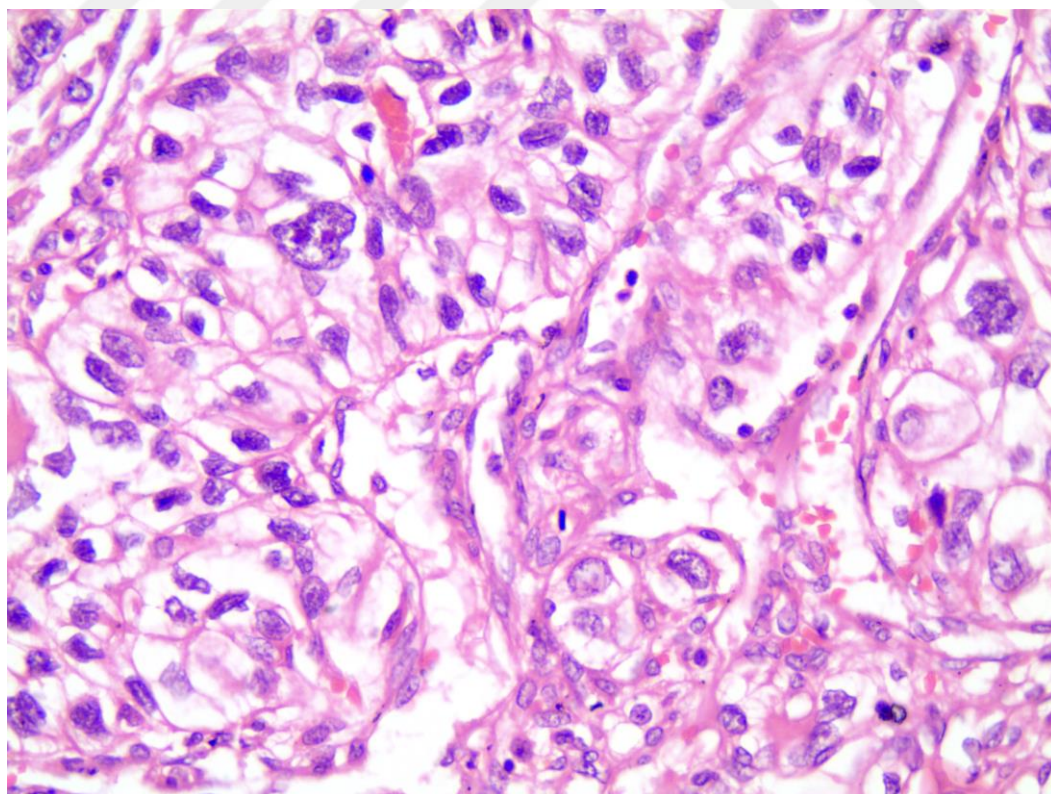
Fotoğraf 4-1 Derece 1, H&E x 400



Fotoğraf 4-2 Derece 2, H&E x 400

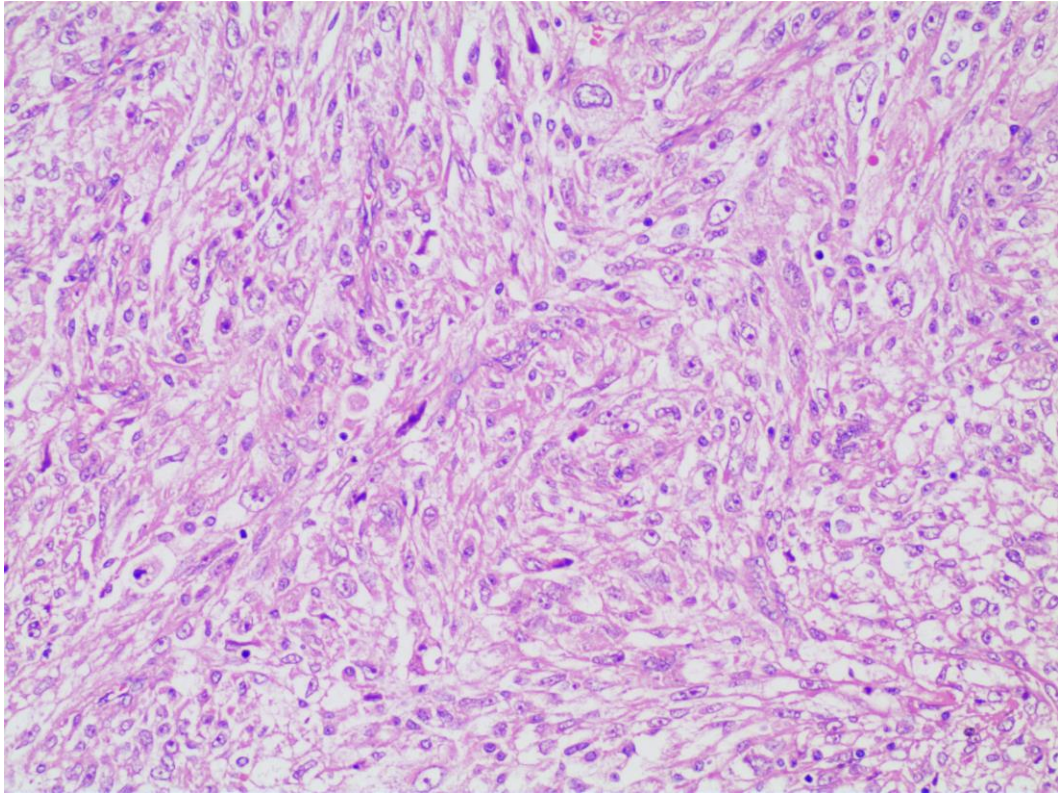


Fotoğraf 4-3 Derece 3, H&E x 400

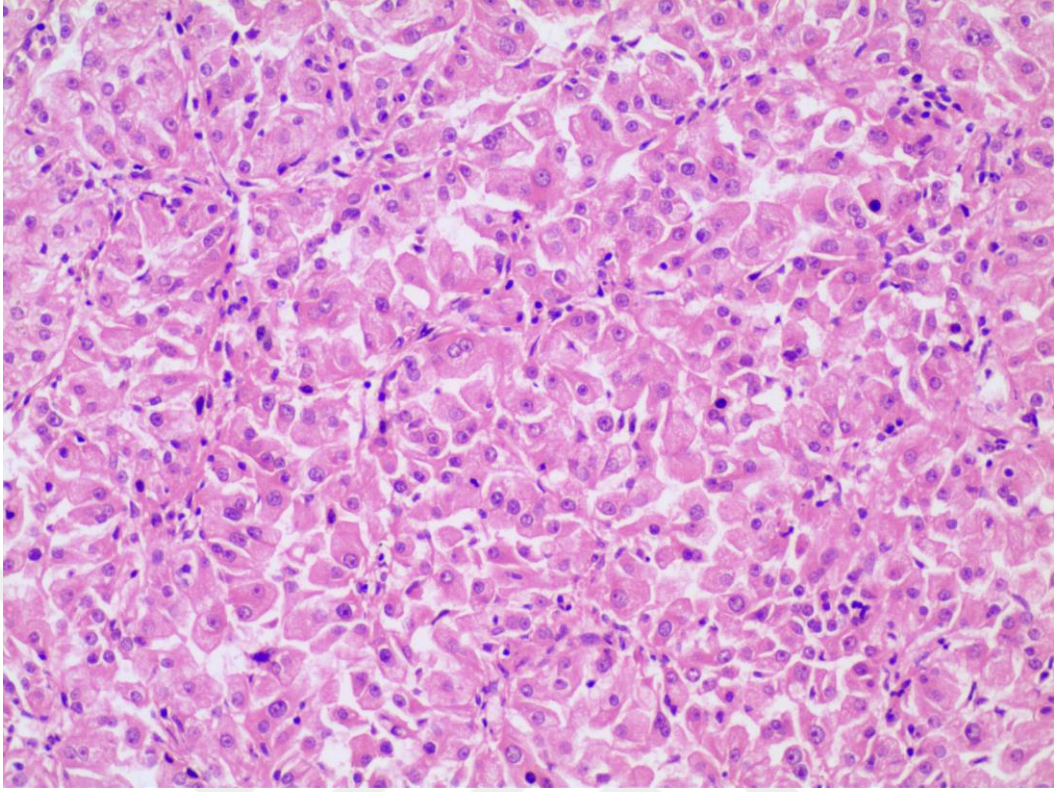


Fotoğraf 4-4 Derece 4, H&E x 400

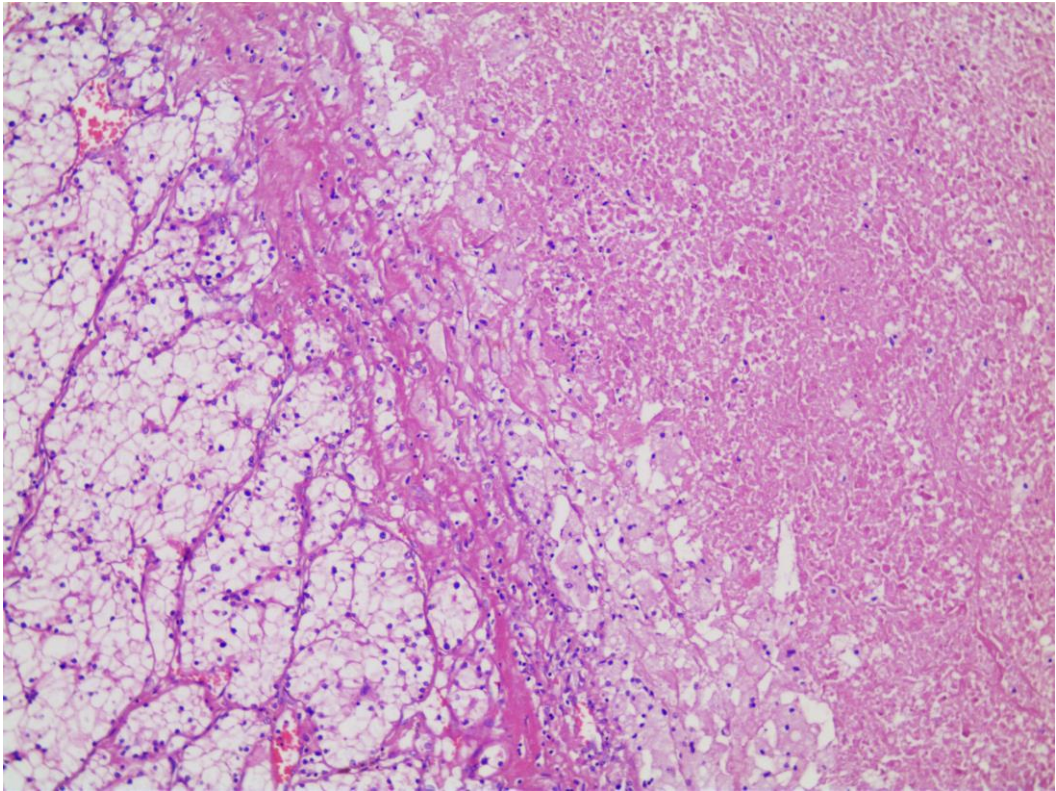
Olguların 3'ünde (%3.3) sarkomatoid diferansiasyon (**Fotoğraf 4-5**), 2'sinde (%2.2) rabdoid diferansiasyon (**Fotoğraf 4-6**) izlendi. 92 olgudan 29'unda (%31.5) nekroz (**Fotoğraf 4-7**) mevcut iken, 63'ünde (%68.5) nekroz görülmedi. Ortalama nekroz yüzdesi %3,52 (± 8.16) idi. Nekroz görülen olguların 8'inde (%27.6) nekroz yüzdesi %10'un üzerinde idi. Lenfovasküler invazyon (LVI) 14 olguda (%14) görüldü (**Fotoğraf 4-8**). Bu veriler **Tablo 4-2'de** gösterilmiştir.



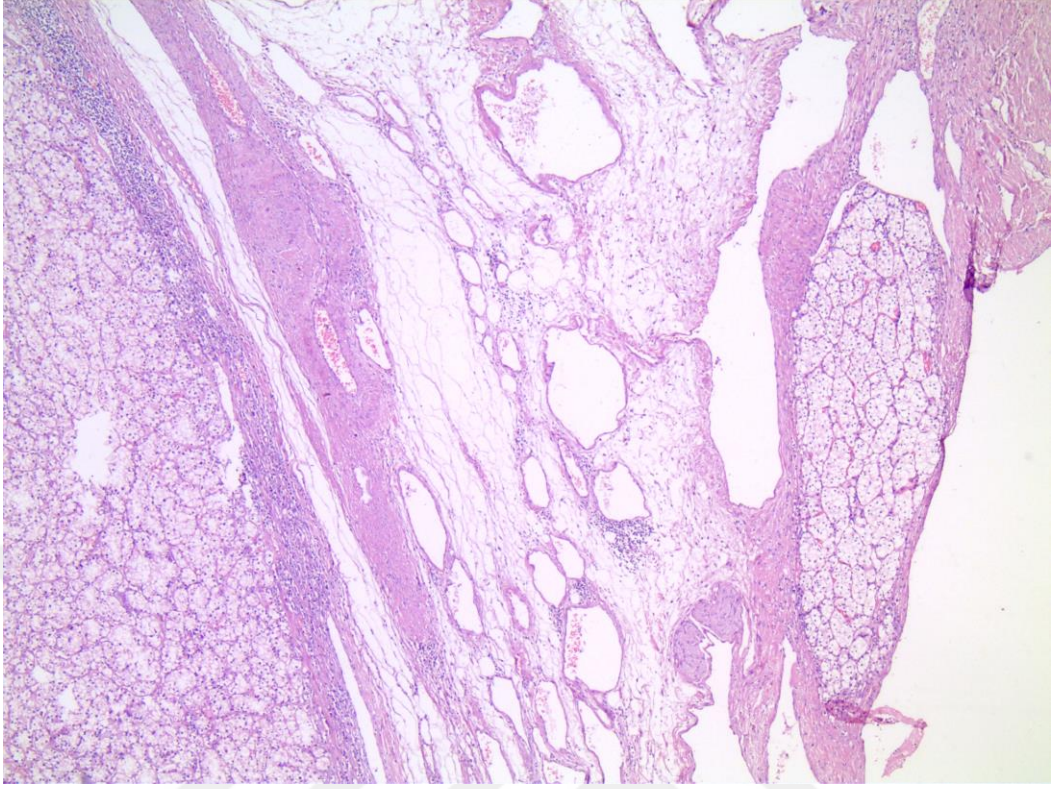
Fotoğraf 4-5 Sarkomatoid diferansiasyon, H&E x 200



Fotoğraf 4-6 Rabdoid diferansiasyon, H&E x 200



Fotoğraf 4-7 Nekroz, H&E x 200

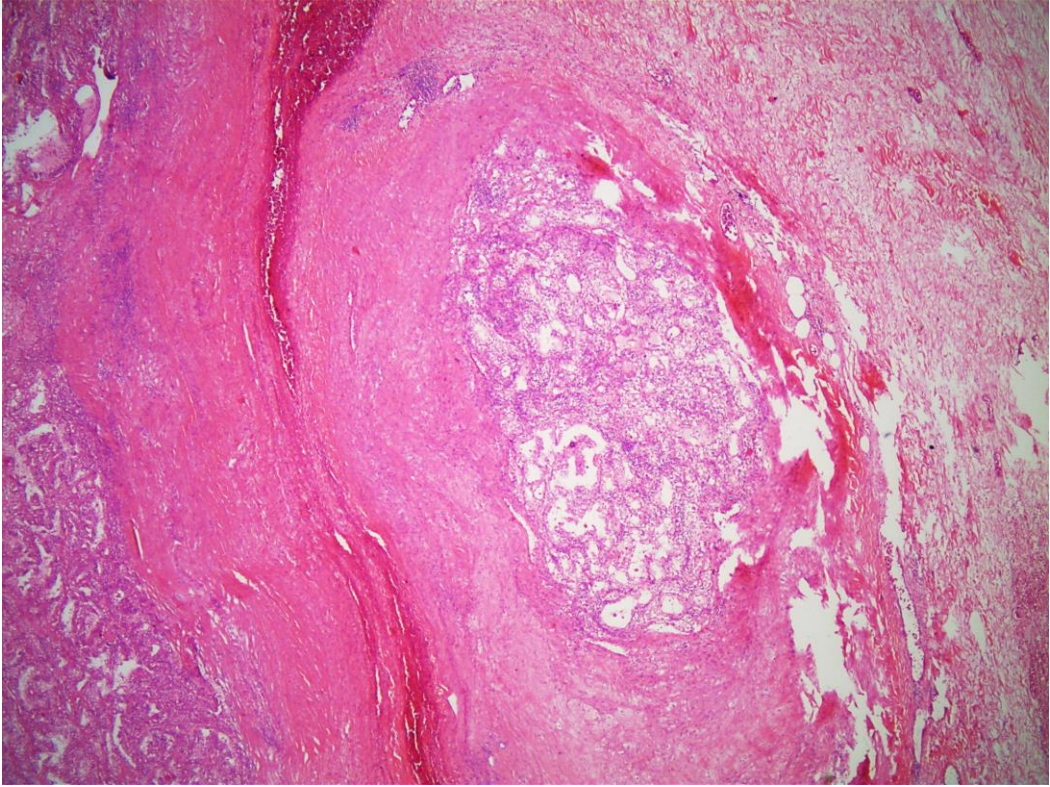


Fotoğraf 4-8 Lenfovasküler invazyon, H&E x 40

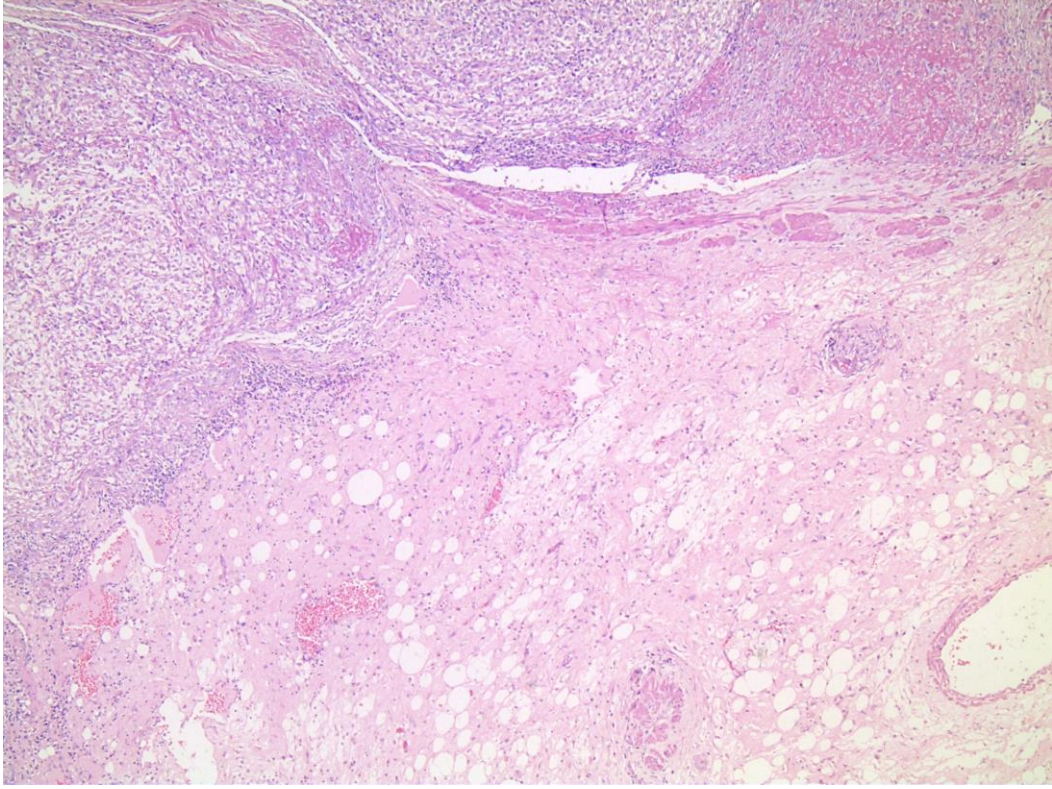
Tablo 4-2 Tümöre ait morfolojik bulgular

		N (%)	Total (%)
Nükleer derece	Derece 1	9 (%9.8)	92 (%100)
	Derece 2	53 (%57.6)	
	Derece 3	23 (%25)	
	Derece 4	7 (%7.6)	
Sarkomatoid diferansiasyon	Var	3 (%3.3)	92 (%100)
	Yok	89 (%96.7)	
Rabdoid diferansiasyon	Var	2 (%2.2)	92 (%100)
	Yok	90 (%97.8)	
Tümör nekrozu	Var	29 (%31.5)	92 (%100)
	Yok	63 (%68.5)	
Lenfovasküler invazyon	Var	14 (%15.2)	92 (%100)
	Yok	78 (%84.8)	

Radikal nefrektomi yapılan 70 olgu renal kapsül invazyonu (RKİ) (**Fotoğraf 4-9**) ve perirenal yağ doku invazyonu (PRYDİ) açısından değerlendirildiğinde, RKİ 13 olguda (%18.6), PRYDİ 11 olguda (%15.7) izlendi. Renal sinüs invazyonu (RSİ) (**Fotoğraf 4-10**) 44 olguda (%62.9) ve renal pelvis invazyonu (RPİ) 8 olguda (%11.4) tespit edildi. 70 olgunun 4'ünde (%5.7) renal ven invazyonu görüldü. Adrenal bez rezeksiyonu yapılan 22 olgudan 1'inde adrenal bez invazyonu mevcuttu. Tümör yayılımını gösteren bulgular **Tablo 4-3**'te gösterilmiştir.



Fotoğraf 4-9 Renal kapsül invazyonu, H&E x 25



Fotoğraf 4-10 Renal sinus invazyonu, H&E x 40

Tablo 4-3 Tümör yayılımını gösteren bulgular

		N (%)	Total (%)
RKİ	Var	13 (%18.6)	70 (%100)
	Yok	57 (%81.4)	
PRYDİ	Var	11 (%15.7)	70 (%100)
	Yok	59 (%84.3)	
Gerota fasya invazyonu	Var	1 (%1.4)	70 (%100)
	Yok	69 (%98.6)	
RSİ	Var	25 (%35.7)	70 (%100)
	Yok	45 (%64.3)	
RPİ	Var	8 (%11.4)	70 (%100)
	Yok	62 (%88.6)	
Üreter invazyonu	Var	0 (%0)	70 (%100)
	Yok	70 (%100)	
Renal ven invazyonu	Var	4 (%5.7)	70 (%100)
	Yok	66 (%94.3)	
Adrenal bez invazyonu	Var	1 (%4.5)	22 (%100)
	Yok	21 (%95.5)	

2010 TNM evreleme sistemine göre olguların 37'si (%40.2) pT1a, 19'u (%20.7) pT1b, 4'ü (%4.3) pT2a, 3'ü (%3.3) pT2b, 27'si (%29.3) pT3a, 2'si (%2.2) pT4 olarak sınıflandı. Radikal nefrektomi yapılan 70 olgunun 3'ünde lenf nodu metastazı tespit edildi. 70 olgunun postoperatif takibinde 2 olguda (%2.9) lokal rekürrens, 14 olguda (%20) uzak metastaz görüldü. Parsiyel nefrektomi yapılan 22 vakada lenf nodu metastazı ve uzak metastaz görülmedi. Patolojik evrelendirmesi yapılan olgulara ait veriler **Tablo 4-4**'te verilmiştir.

Tablo 4-4 Tümörün patolojik evrelendirmesi

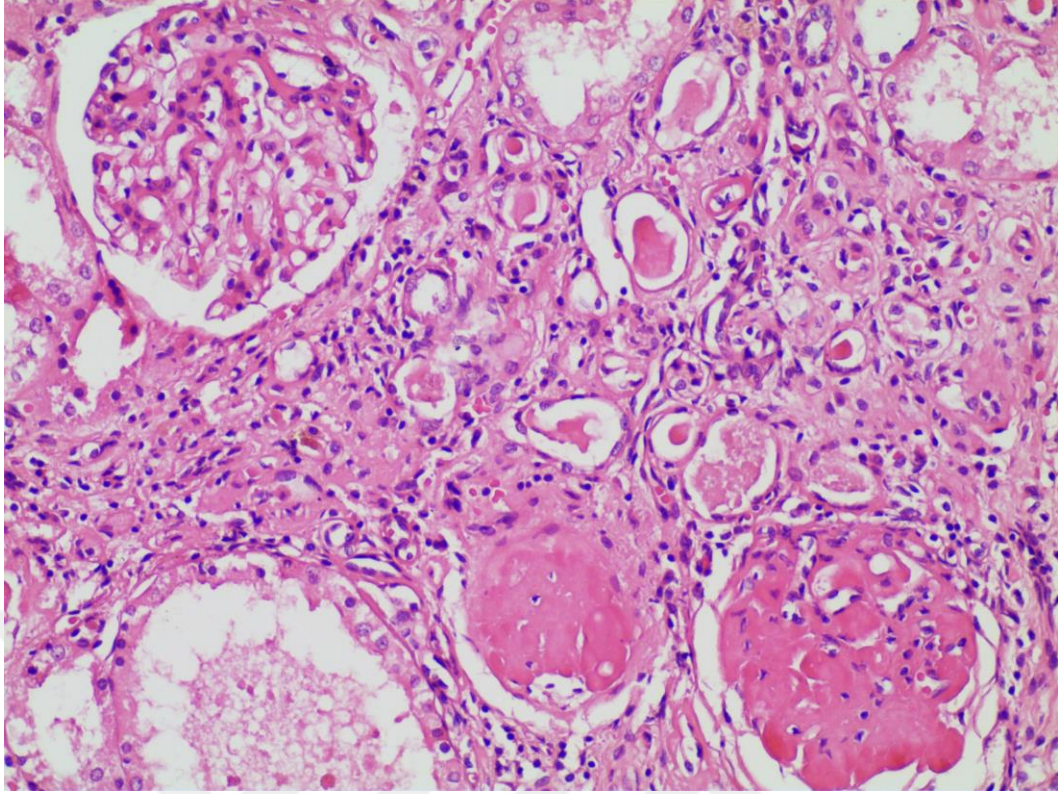
Patolojik evre		N (%)	Total (%)
pT	pT1a	37 (%40.2)	92 (%100)
	pT1b	19 (%20.7)	
	pT2a	4 (%4.3)	
	pT2b	3 (%3.3)	
	pT3a	27 (%29.3)	
	pT4	2 (%2.2)	
pN	N0	67 (%95.7)	70 (%100)
	N1	3 (%4.3)	
pM	M0	56 (%80)	70 (%100)
	M1	14 (%20)	

Uzak metastaz görülen 14 olgunun 4'ünde (%28.6) multipl odakta tümör metastazı izlendi. En sık metastaz izlenen organ akciğer olup beş olguda (%35.7) akciğer metastazı mevcuttu. Metastaz izlenen bölgeler **Tablo 4-5**'te verilmiştir.

Tablo 4-5 Metastaz izlenen bölgeler

	N (%)
Diğer böbrek	1 (%7.1)
Akciğer	5 (%35.7)
Akciğer+karaciğer	1 (%7.1)
Akciğer+beyin	1 (%7.1)
Akciğer+adrenal	1 (%7.1)
İnen kolon+peritonitis karsinomatoza	1 (%7.1)
Multipl metastaz	4 (%28.6)
Toplam	14 (%100)

Tümör çevresindeki böbrek parankimi incelendiğinde 92 olgunun 75'inde parankimal değişiklikler tespit edildi. Çevre böbrek parankiminde en sık kronik piyelonefrit bulguları izlenmekteydi (**Fotoğraf 4-11**). Bu değişikliklere ait veriler **Tablo 4-6**'da gösterilmiştir.



Fotoğraf 4-11 Kronik piyelonefrit, H&E x 200

Tablo 4-6 Tümör çevresindeki böbrek parankiminde meydana gelen değişiklikler

	N (%)
Kronik piyelonefrit	57 (%76)
Kronik piyelonefrit+basit kist	14 (%18.7)
Kronik piyelonefrit+papiller adenom	1 (%1.3)
Kronik piyelonefrit+metanefrik adenom	1 (%1.3)
Kronik piyelonefrit+basit kist+renal taş	2 (%2.7)
Toplam	75 (%100)

4.2 İmmunohistokimyasal Bulgular

4.2.1 SOX9

Vakaların tümünde SOX9 ile tümör hücrelerinde nükleer boyanma izlenmiştir. Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğundan elde edilen kombine immünskor 2-7 arasında değişmektedir. SOX9'un normal böbrek parankimiyle birleştiği invaziv kenarlarda daha yoğun boyandığı görülmüştür. Boyanma

yaygınlığı, yoğunluğu ve toplam kombine immünskora ait veriler **Tablo 4-7, 4-8 ve 4-9**'da gösterilmiştir (**Fotoğraf 4-12, 4-13, 4-14**).

Tablo 4-7 SOX9 boyanma yaygınlığı

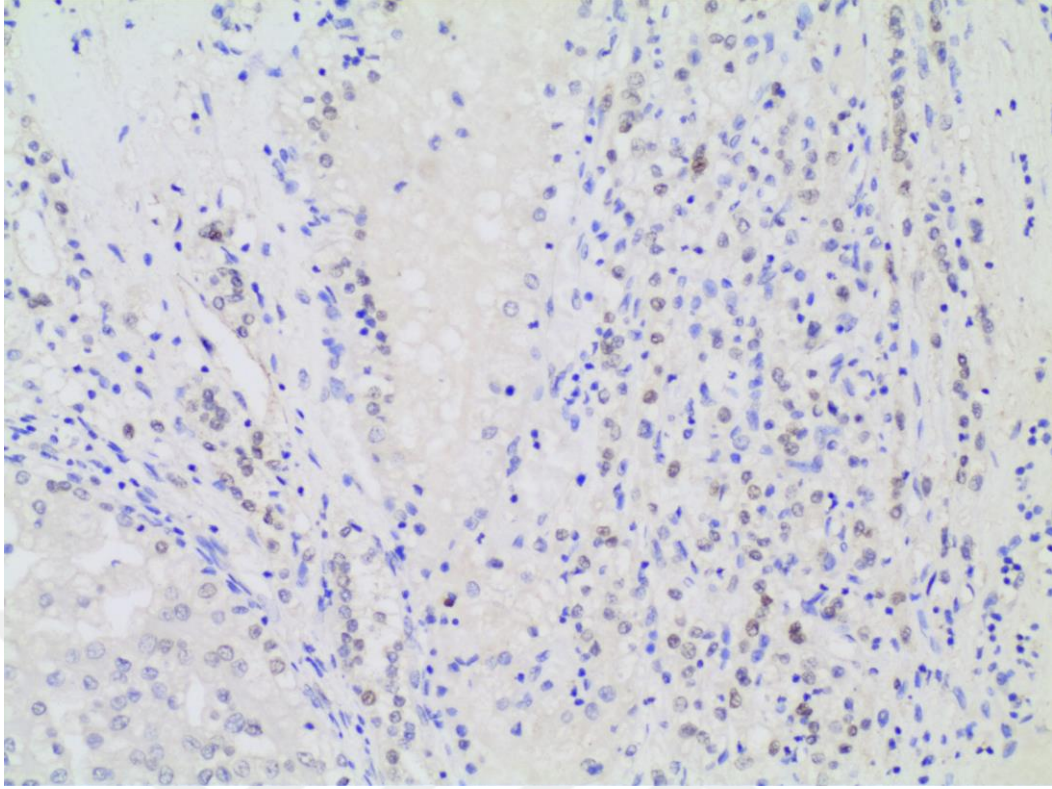
	%1-10 N (%)	%11-40 N (%)	%41-70 N (%)	%71-100 N (%)	Total N (%)
SOX9	22 (%23.9)	22 (%23.9)	22(%23.9)	26 (%28.3)	92 (%100)

Tablo 4-8 SOX9 boyanma yoğunluğu

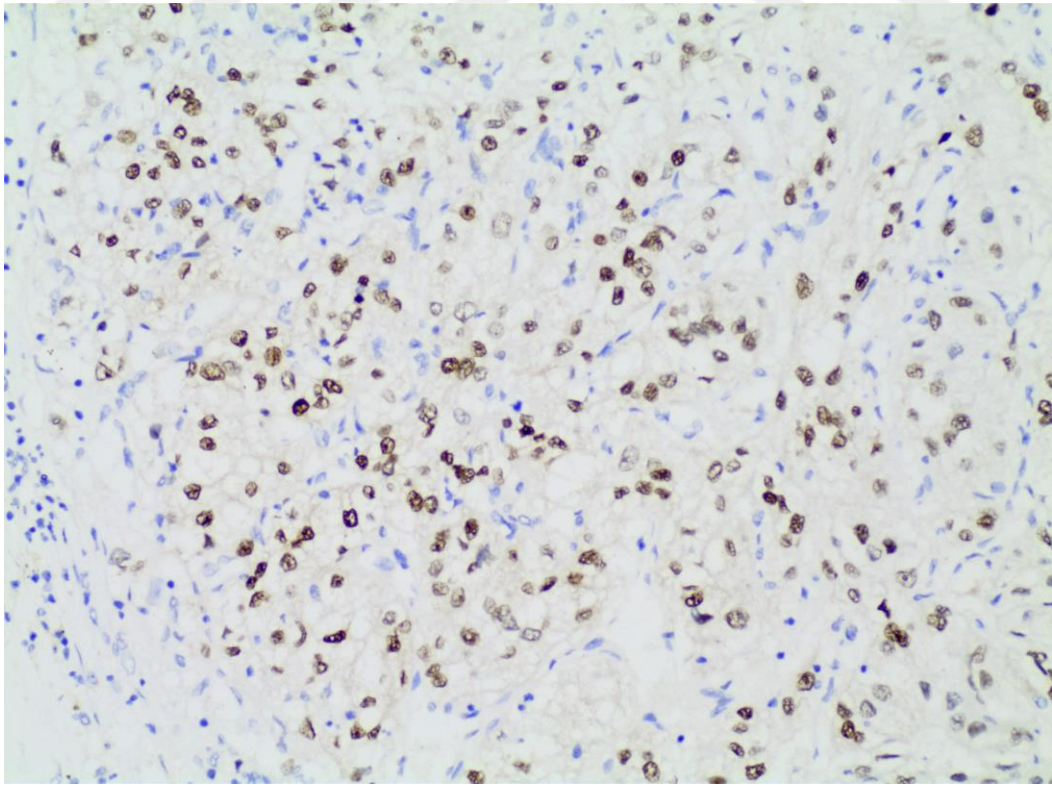
	Hafif N (%)	Orta N (%)	Şiddetli N (%)	Total N (%)
SOX9	17 (%18.5)	32 (%34.8)	43 (%46.7)	92 (%100)

Tablo 4-9 SOX9 kombine immünskoru

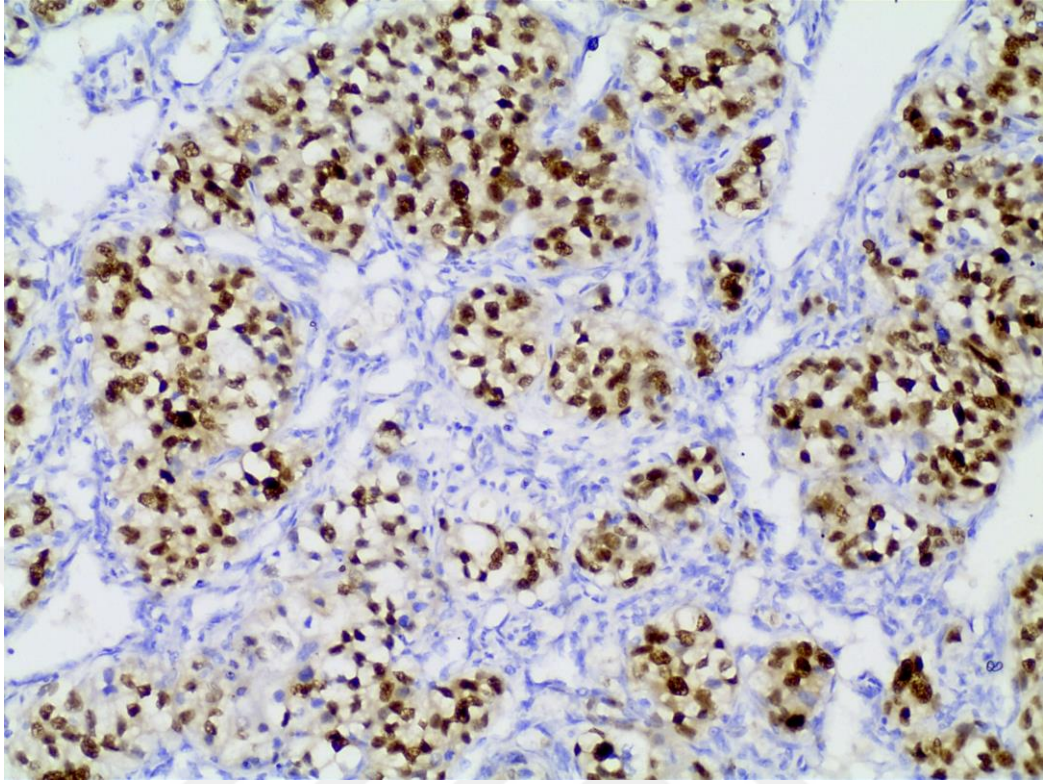
	2 N (%)	3 N (%)	4 N (%)	5 N (%)	6 N (%)	7 N (%)	Total N (%)
SOX9	10 (%10.9)	15 (%16.3)	19 (%20.7)	8 (%8.7)	15 (%16.3)	25 (%27.2)	92 (%100)



Fotoğraf 4-12 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-13 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-14 Tümör hücrelerinde şiddetli SOX9 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200

Nükleer dereceye göre kombine immünskor ortalamalarına bakıldığında, ortalamanın derece 2 tümörlerde en düşük, derece 4 tümörlerde en yüksek olduğu görülmüştür. SOX9 kombine immünskoru ile dört grup arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark izlenmiştir ($p=0.005$). Buna göre kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-10**'da verilmiştir.

Tablo 4-10 SOX9 ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi

	SOX9 kombine immünskoru	
	Mean ($\pm$ SD)	p
Derece 1	5.56 ($\pm$ 1.50)	0.005
Derece 2	4.51 ($\pm$ 1.76)	
Derece 3	4.74 ($\pm$ 1.68)	
Derece 4	6.86 ($\pm$ 0.37)	

Farkı oluşturan grupları belirlemek amacıyla Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda, derece 4 tümörlerde derece 1, 2 ve

3 tümörlere göre daha yüksek SOX9 ekspresyonu izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla, $p=0.034$, $p=0.001$, $p=0.003$)

Patolojik evreye göre kombine immünskorlar karşılaştırıldığında SOX9 ekspresyonunun pT2 tümörlerde en düşük, pT4 tümörlerde en yüksek olduğu görülmüştür. pT4 tümörlerde pT2 tümörlere göre daha yüksek SOX9 ekspresyonu izlenmektedir. Ancak SOX9 kombine immünskoru ile patolojik evre grupları arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.428$). Patolojik evre alt gruplarına ait kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-11**'de verilmiştir.

Tablo 4-11 SOX9 ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi

	SOX9 kombine immünskoru	
Patolojik evre	Mean ($\pm$ SD)	p
pT1	4.96 ($\pm$ 1.68)	0.428
pT2	4.43 ($\pm$ 1.71)	
pT3	4.59 ($\pm$ 1.94)	
pT4	6.50 ($\pm$ 0.70)	

Lenf nodu metastazı ile SOX9 ekspresyonu ilişkisine bakıldığında, lenf nodu metastazı olan olgularda kombine skor ortalaması 6.00 ± 1.73 iken görülmeyen olgularda 4.81 ± 1.75 'tir. Buna göre SOX9 ekspresyonu lenf nodu metastazı görülen olgularda daha yüksek bulunmuştur. Ancak vaka sayısı az olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Uzak metastaz ile SOX9 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında, uzak metastaz yapan olgularda SOX9 ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.025$). Gruplara ait kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-12**'de verilmiştir.

Tablo 4-12 SOX9 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi

	SOX9 kombine immünskoru	
Uzak metastaz	Mean ($\pm$ SD)	p
M0	4.68 ($\pm$ 1.71)	0.025
M1	5.79 ($\pm$ 1.76)	

SOX9 ekspresyonu ile sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon varlığı arasındaki ilişkiye bakıldığında, her iki gruptaki vaka sayısı azlığı nedeniyle gruplar birleştirilerek istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. Buna göre SOX9 ekspresyonu sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyonu olan olgularda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0.010**).

SOX9 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, lenfovasküler invazyon, perirenal yağ doku invazyonu ve renal sinüs invazyonu arasında Mann Whitney U testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Gruplara göre kombine immünskor ortalamaları ve p değerleri **Tablo 4-13**'te verilmiştir.

Tablo 4-13 SOX9 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

		SOX9 kombine immünskoru	
		Mean ($\pm$ SD)	p
Yaş	≤ 60	5.00 (± 1.69)	0.392
	> 60	4.69 (± 1.83)	
Cinsiyet	Kadın	4.78 (± 1.85)	0.727
	Erkek	4.87 (± 1.74)	
Tümör çapı	≤ 4 cm	5.09 (± 1.63)	0.198
	> 4 cm	4.61 (± 1.86)	
Nekroz	Var	5.00 (± 1.85)	0.619
	Yok	4.78 (± 1.72)	
LVİ	Var	5.14 (± 1.83)	0.464
	Yok	4.79 (± 1.75)	
PRYDİ	Var	4.45 (± 2.29)	0.454
	Yok	4.90 (± 1.68)	
RSİ	Var	4.88 (± 1.96)	0.890
	Yok	4.84 (± 1.69)	

SOX9 ile tümör dışı böbrek parankiminde tüm vakalarda pozitif boyanma görülmüştür. Glomerüller hariç proksimal, distal ve toplayıcı tübüllerde yaygın nükleer boyanma göstermiştir. Vakaların 40'ında (%43.5) hafif şiddette, 36'sında

(%39.1) orta şiddette, 16'sında (%17.4) şiddetli boyanma mevcuttur. Tümör dokusundaki SOX9 ekspresyonunun şiddeti ile tümör dışı böbrek parankimindeki SOX9 ekspresyonunun şiddeti Paired samples t test ile karşılaştırılmıştır. Tümör dokusunda SOX9 ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.000$).

4.2.2 E-kadherin

E-kadherin, 88 (%95.7) vakada membranı çevreler tarzda pozitif boyanma gösterirken vakaların 4'ünde (%4.3) negatif boyanma göstermiştir. E-kadherin ile tümörün farklı alanlarında heterojen boyanmalar izlenmiştir. Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğundan elde edilen immünskor 0-7 arasında değişmektedir. Boyanma yaygınlığı, yoğunluğu ve toplam kombine immünskora ait veriler **Tablo 4-14, 4-15 ve 4-16**'da gösterilmiştir (**Fotoğraf 4-15, 4-16, 4-17, 4-18**).

Tablo 4-14 E-kadherin boyanma yaygınlığı

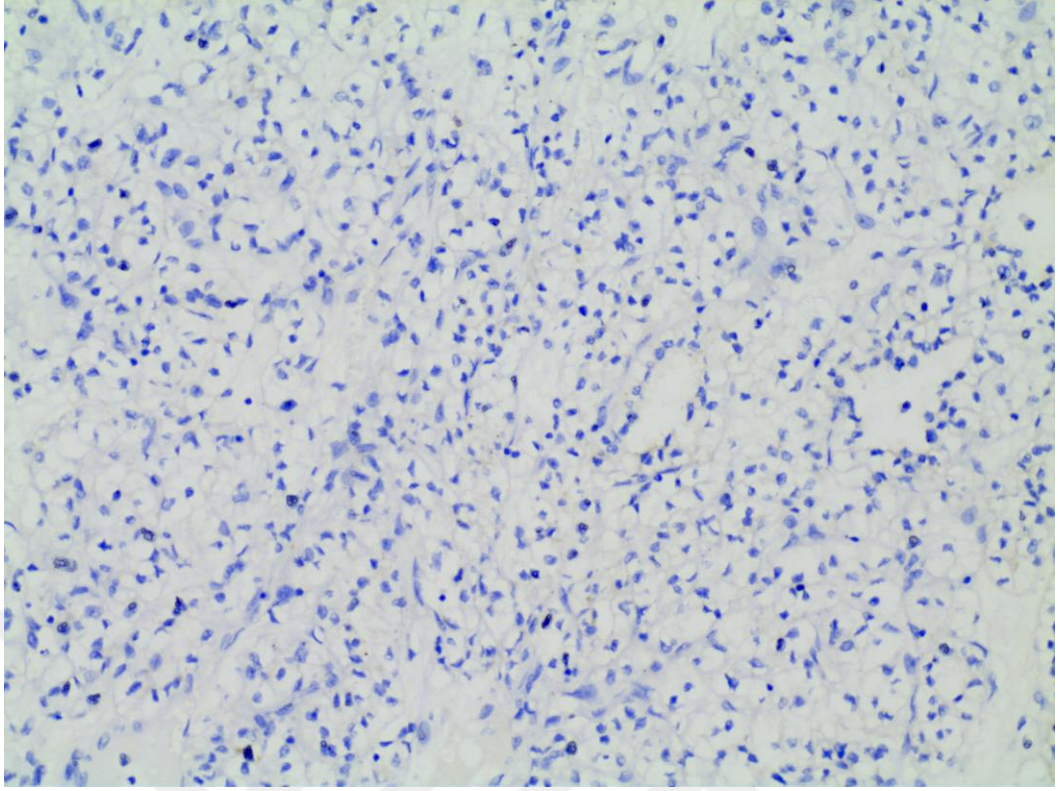
	%0 N (%)	%1-24 N (%)	%25-49 N (%)	%50-74 N (%)	%75-100 N (%)	Total N (%)
E-kadherin	4 (%4.3)	14 (%15.2)	29 (%31.5)	31 (%33.7)	14 (%15.2)	92 (%100)

Tablo 4-15 E-kadherin boyanma yoğunluğu

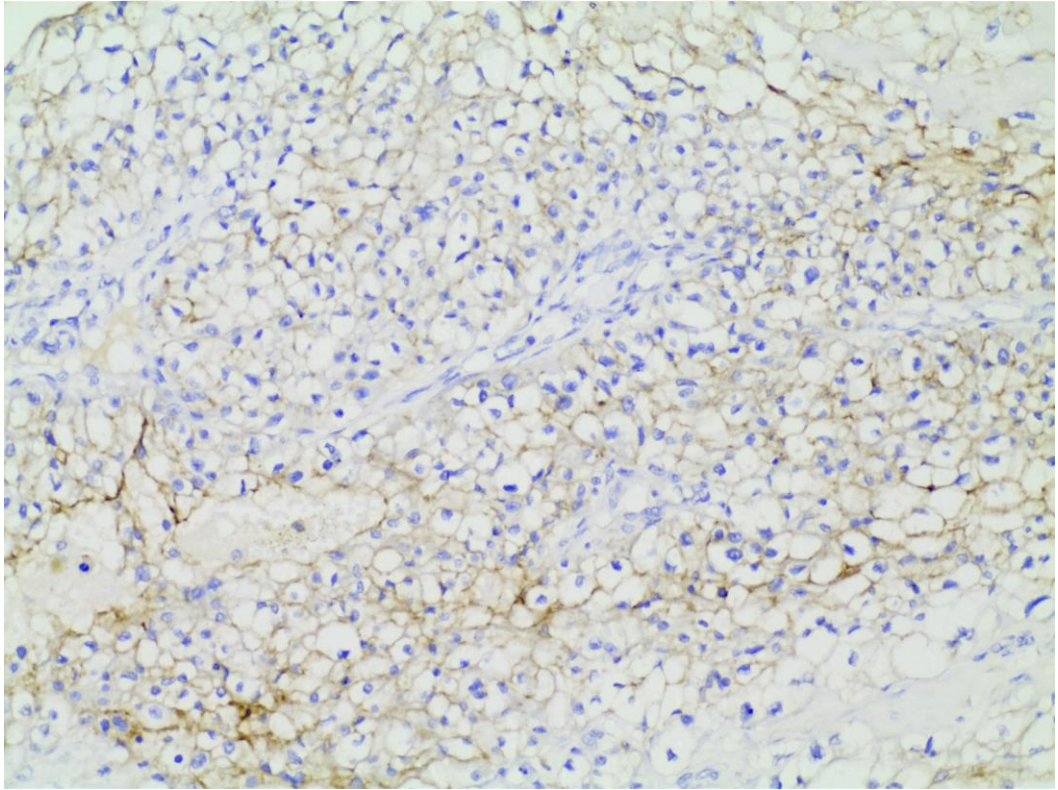
	Negatif N (%)	Hafif N (%)	Orta N (%)	Şiddetli N (%)	Total N (%)
E-kadherin	4 (%4.3)	27 (%29.3)	42 (%45.7)	19 (%20.7)	92 (%100)

Tablo 4-16 E-kadherin kombine immünskoru

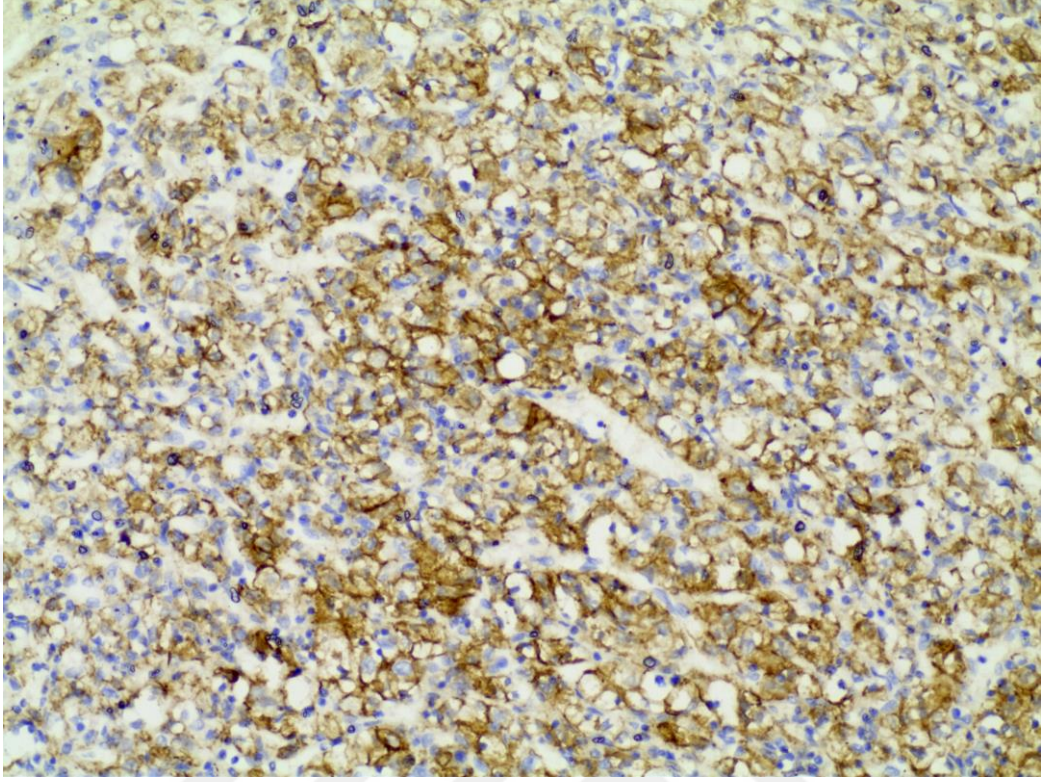
	0 N (%)	2 N (%)	3 N (%)	4 N (%)	5 N (%)	6 N (%)	7 N (%)	Total N (%)
E-kadherin	4 (%4.3)	5 (%5.4)	20 (%21.7)	21 (%22.8)	22 (%23.9)	11 (%12)	9 (%9.8)	92 (%100)



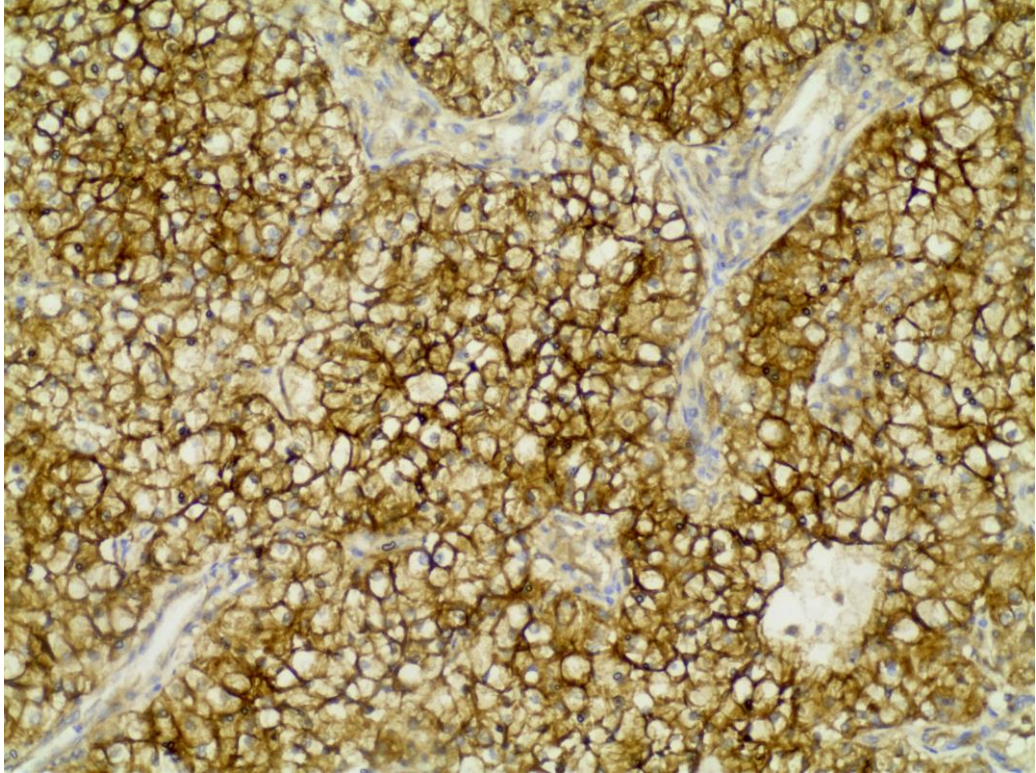
Fotoğraf 4-15 Tümör hücrelerinde negatif E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-16 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-17 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-18 Tümör hücrelerinde şiddetli membranöz E-kadherin ekspresyonu, immün peroksidaz, x200

Nükleer dereceye göre kombine immünskor ortalamasına bakıldığında ortalamanın derece 4 tümörlerde en düşük, derece 1 tümörlerde en yüksek olduğu görülmüştür. E-kadherin kombine immünskoru ile dört grup arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark izlenmiştir ($p=0.002$). Buna göre kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-17**'de verilmiştir.

Tablo 4-17 E-kadherin ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi

	E-kadherin kombine immünskoru	
	Mean ($\pm$ SD)	p
Derece 1	4.78 ($\pm$ 1.30)	0.002
Derece 2	4.68 ($\pm$ 1.49)	
Derece 3	3.78 ($\pm$ 1.38)	
Derece 4	2.14 ($\pm$ 2.03)	

Farkı oluşturan grupları belirlemek amacıyla Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda, derece 4 tümörlerde derece 1, 2 ve 3 tümörlere göre daha düşük E-kadherin ekspresyonu izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla, $p=0.010$, $p=0.002$, $p=0.023$). Ayrıca derece 3 tümörlerde derece 2 tümörlere göre daha düşük E-kadherin ekspresyonu görülmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.020$).

Patolojik evreye göre kombine immünskorlar karşılaştırıldığında E-kadherin ekspresyonunun pT4 tümörlerde en düşük, pT2 tümörlerde en yüksek olduğu görülmüştür. pT4 tümörlerde pT2 ve pT3 tümörlere göre daha düşük E-kadherin ekspresyonu izlenmektedir. Ancak E-kadherin kombine immünskoru ile patolojik evre grupları arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.216$). Patolojik evre alt gruplarına ait kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-18**'de verilmiştir.

Tablo 4-18 E-kadherin ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi

	E-kadherin kombine immünskoru	
Patolojik evre	Mean ($\pm$ SD)	p
pT1	4.34 ($\pm$ 1.37)	0.216
pT2	4.71 ($\pm$ 2.43)	
pT3	4.15 ($\pm$ 1.91)	
pT4	2.50 ($\pm$ 0.70)	

Lenf nodu metastazı ile E-kadherin ekspresyonu ilişkisine bakıldığında, lenf nodu metastazı görülen olgularda kombine immünskor ortalaması 4.00 ± 2.00 iken görülmeyen olgularda 4.28 ± 1.63 'tür. Buna göre lenf nodu metastazı görülen olgularda E-kadherin ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Ancak vaka sayısı az olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Uzak metastaz ile E-kadherin ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında, uzak metastaz yapan olgularda E-kadherin ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0.040**). Gruplara ait kombine skor ortalamaları **Tablo 4-19**'da verilmiştir.

Tablo 4-19 E-kadherin ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi

	E-kadherin kombine immünskoru	
Uzak metastaz	Mean ($\pm$ SD)	p
M0	4.44 ($\pm$ 1.51)	0.040
M1	3.36 ($\pm$ 2.02)	

E-kadherin ekspresyonu ile sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon varlığı arasındaki ilişkiye bakıldığında, her iki gruptaki vaka sayısı azlığı nedeniyle gruplar birleştirilerek istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. E-kadherin ekspresyonu, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyonu olan olgularda anlamlı derecede düşük bulunmuştur (**p=0.031**).

E-kadherin ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, lenfovasküler invazyon, perirenal yağ doku invazyonu ve renal sinüs invazyonu arasında Mann Whitney U testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı

bir ilişki saptanmamıştır. Gruplara göre kombine immünskor ortalamaları ve p değerleri **Tablo 4-20**'de verilmiştir.

Tablo 4-20 E-kadherin ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

		E-kadherin kombine immünskoru	
		Mean ($\pm$ SD)	p
Yaş	≤ 60	4.13 (± 1.81)	0.456
	> 60	4.42 (± 1.43)	
Cinsiyet	Kadın	4.09 (± 1.73)	0.360
	Erkek	4.33 (± 1.61)	
Tümör çapı	≤ 4 cm	4.17 (± 1.51)	0.616
	> 4 cm	4.37 (± 1.76)	
Nekroz	Var	3.79 (± 1.87)	0.087
	Yok	4.49 (± 1.48)	
LVİ	Var	3.57 (± 2.10)	0.178
	Yok	4.40 (± 1.52)	
PRYDİ	Var	4.36 (± 1.74)	0.966
	Yok	4.26 (± 1.63)	
RSİ	Var	3.88 (± 1.83)	0.217
	Yok	4.42 (± 1.54)	

E-kadherin tümör dışı böbrek parankiminde distal ve toplayıcı tübüllerde yaygın membranöz boyanma göstermektedir. 92 vakanın tamamında pozitif boyanma görülmüştür. Vakaların 55'inde (%59.8) şiddetli, 34'ünde (%37) orta şiddette, 3'ünde (%3.3) hafif şiddette pozitif boyanma mevcuttur. Tümör dokusundaki E-kadherin ekspresyonunun şiddeti ile tümör dışı böbrek parankimindeki E-kadherin ekspresyonunun şiddeti Paired samples t test ile karşılaştırılmıştır. Tümör dışı böbrek parankiminde E-kadherin ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0.000**).

4.2.3 KLF4

KLF4, 21 vakada (%22.8) nükleer pozitif boyanma göstermiştir. Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğundan elde edilen immünskor 0-5 arasında değişmektedir. Boyanma yaygınlığı, yoğunluğu ve toplam kombine immünskora ait veriler **Tablo 4-21, 4-22 ve 4-23**'te gösterilmiştir (**Fotoğraf 4-19, 4-20, 4-21, 4-22**).

Tablo 4-21 KLF4 boyanma yaygınlığı

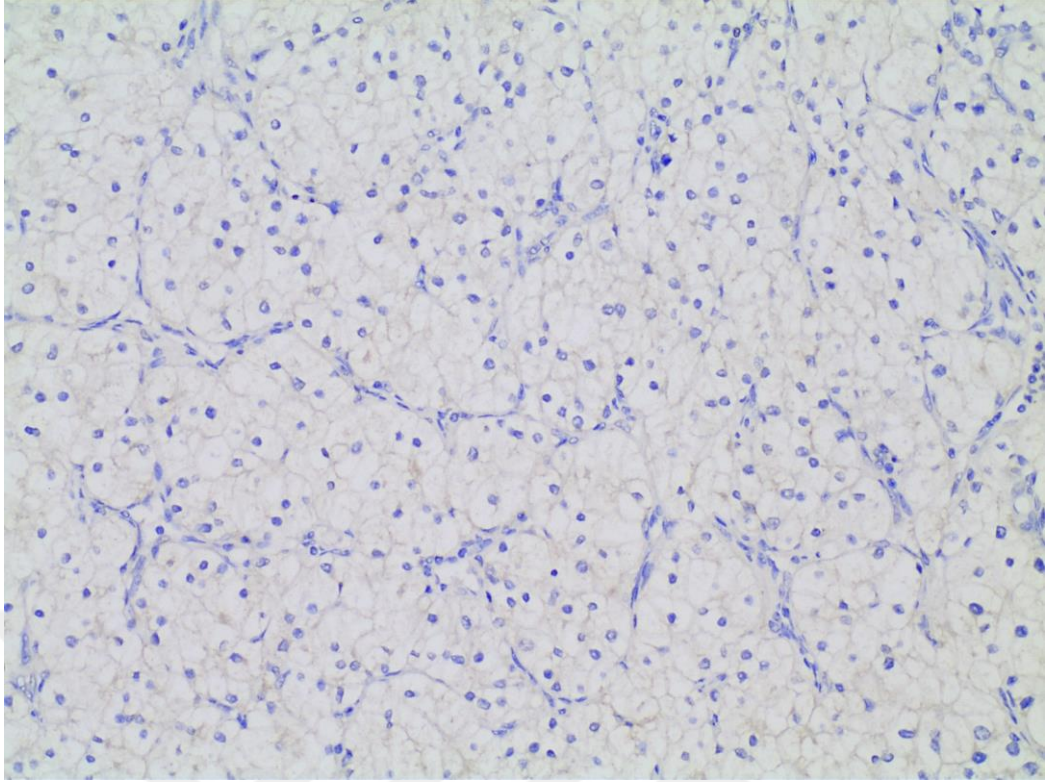
	%0 N (%)	≤ %1 N (%)	> %1 N (%)	Total N (%)
KLF4	71 (%77.2)	14 (%15.2)	7 (%7.6)	92 (%100)

Tablo 4-22 KLF4 boyanma yoğunluğu

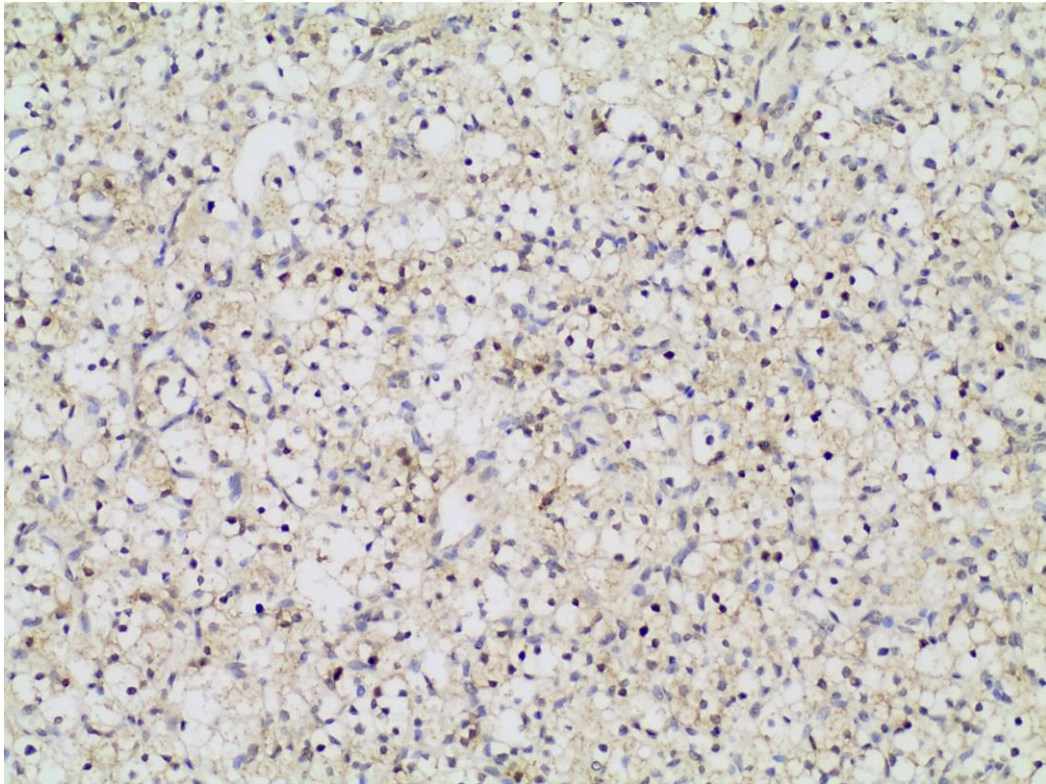
	Negatif N (%)	Hafif N (%)	Orta N (%)	Şiddetli N (%)	Total N (%)
KLF4	71 (%77.2)	5 (%5.4)	9 (%9.8)	7 (%7.6)	92 (%100)

Tablo 4-23 KLF4 kombine immünskoru

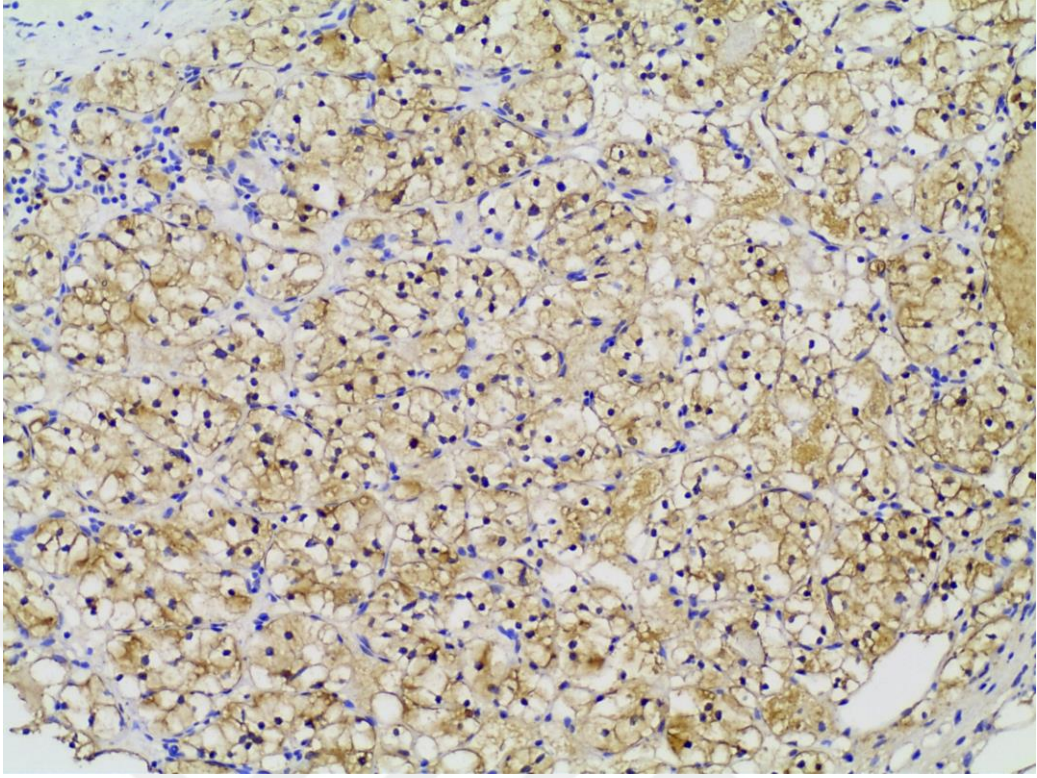
	0 N (%)	2 N (%)	3 N (%)	4 N (%)	5 N (%)	Total N (%)
KLF4	71 (%77.2)	5 (%5.4)	7 (%7.6)	4 (%4.3)	5 (%5.4)	92 (%100)



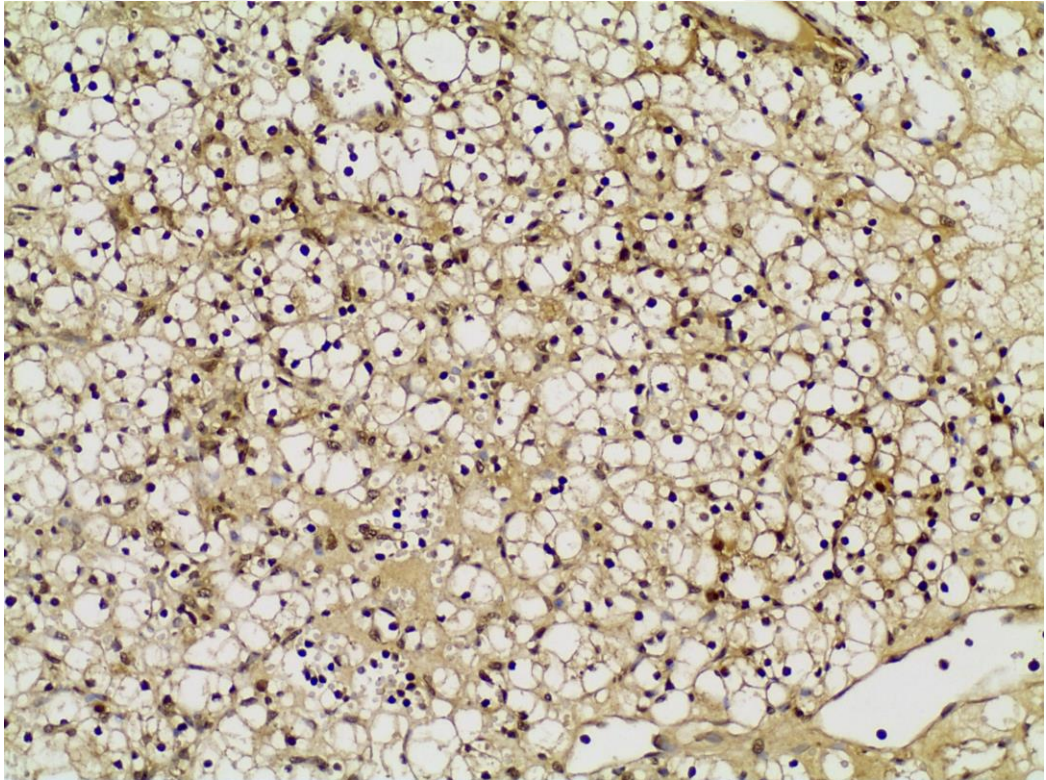
Fotoğraf 4-19 Tümör hücrelerinde negatif KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-20 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-21 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4-22 Tümör hücrelerinde şiddetli KLF4 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200

KLF4, derece 1 tümörlerin 7'sinde (9/7), derece 2 tümörlerin 12'sinde (53/12), derece 3 tümörlerin 2'sinde (23/2) pozitif boyanma göstermiştir. Derece 4 tümörlerde boyanma gözlenmemiştir. Nükleer dereceye göre immünskor ortalamasına bakıldığında ortalamanın derece 1 tümörlerde en yüksek, derece 4 tümörlerde en düşük olduğu görülmüştür. KLF4 immünskoru ile dört grup arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark izlenmiştir (**p=0.000**). Buna göre kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-24**'te verilmiştir.

Tablo 4-24 KLF4 ekspresyonu ile nükleer derece ilişkisi

	KLF4 kombine immünskoru	
	Mean ($\pm$ SD)	p
Derece 1	3.00 ($\pm$ 2.06)	0.000
Derece 2	0.74 ($\pm$ 1.44)	
Derece 3	0.26 ($\pm$ 0.91)	
Derece 4	0.00 ($\pm$ 0.00)	

Farkı oluşturan grupları belirlemek amacıyla Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda, derece 1 tümörlerde derece 2, 3 ve 4 tümörlere göre daha yüksek KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla, **p=0.000**, **p=0.000**, **p=0.004**).

KLF4, pT1 tümörlerin 19'unda (56/19) ve pT3 tümörlerin 2'sinde (27/2) pozitif boyanmıştır. pT2 ve pT4 tümörlerde negatiftir. Patolojik evreye göre kombine immünskorlar karşılaştırıldığında en yüksek KLF4 ekspresyonu pT1 tümörlerde görülmüştür. KLF4 kombine immünskoru ile patolojik evre grupları arasında Kruskal-Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark izlenmiştir (**p=0.014**). Patolojik evre alt gruplarına ait kombine immünskor ortalamaları **Tablo 4-25**'te verilmiştir.

Tablo 4-25 KLF4 ekspresyonu ile patolojik evre ilişkisi

	KLF4 kombine immünskoru	
	Mean ($\pm$ SD)	p
pT1	1.20 ($\pm$ 1.80)	0.014
pT2	0.00 ($\pm$ 0.00)	
pT3	0.19 ($\pm$ 0.68)	
pT4	0.00 ($\pm$ 0.00)	

Patolojik evre alt grupları arasında farkı oluşturan grupları belirlemek amacıyla Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda pT3 tümörlerde pT1 tümörlere göre düşük KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0.007**).

KLF4, lenf nodu metastazı görülen olgularda negatif boyanmıştır. Lenf nodu metastazı görülmeyen olgularda kombine immünskor ortalaması 0.81 ± 1.55 'tir.

Uzak metastaz ile KLF4 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında, uzak metastaz yapan olgularda KLF4 ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.107$). Gruplara ait kombine skor ortalamaları **Tablo 4-26**'da verilmiştir.

Tablo 4-26 KLF4 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi

	KLF4 kombine immünskoru	
	Mean ($\pm$ SD)	p
Uzak Metastaz		
M0	0.90 ($\pm$ 1.63)	0.107
M1	0.14 ($\pm$ 0.53)	

KLF4, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon görülen olgularda negatif boyanmıştır. Sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon görülmeyen olgularda kombine immünskor ortalaması 0.83 ± 1.57 'dir.

Tümör çapı 4 cm'nin üzerinde olan olgularda KLF4 ekspresyonu daha düşük bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0.004**). Renal sinüs invazyonu olan olgularda KLF4 ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0.031**). KLF4 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet,

nekroz, lenfovasküler invazyon, perirenal yağ doku invazyonu ve uzak metastaz arasında Mann Whitney U testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Gruplara göre kombine immünskor ortalamaları ve p değerleri **Tablo 4-27**'de verilmiştir.

Tablo 4-27 KLF4 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

		KLF4 kombine immünskoru	
		Mean ($\pm$ SD)	p
Yaş	≤ 60	0.64 (± 1.49)	0.234
	> 60	0.93 (± 1.58)	
Cinsiyet	Kadın	1.04 (± 1.69)	0.317
	Erkek	0.70 (± 1.48)	
Tümör çapı	≤ 4 cm	1.26 (± 1.84)	0.004
	> 4 cm	0.30 (± 0.96)	
Nekroz	Var	0.48 (± 1.12)	0.298
	Yok	0.92 (± 1.68)	
LVİ	Var	0.36 (± 0.92)	0.336
	Yok	0.86 (± 1.61)	
PRYDİ	Var	0.18 (± 0.60)	0.204
	Yok	0.86 (± 1.61)	
RSİ	Var	0.20 (± 0.70)	0.031
	Yok	1.00 (± 1.70)	

KLF4 tümör dışı böbrek parankiminde çoğunlukla distal ve toplayıcı tübüller olmak üzere tübüllerde nükleer boyanma göstermektedir. 92 vakanın 10'unda (%10.9) hafif şiddette pozitif boyanma görülmüştür. Bu vakaların 7'sinde tümör negatif boyanırken, 3'ünde tümörde de eşlik eden pozitiflik mevcuttur.

4.2.4 SOX9, E-kadherin ve KLF4 Genlerinin İmmunohistokimyasal Ekspresyonlarının Korelasyon Analizi

SOX9, E-kadherin ve KLF4'ün kombine immünskorlarının Spearman korelasyon analizi yöntemi ile korelasyonu incelenmiştir.

SOX9 ile E-kadherin kombine immünskorları arasında negatif yönlü zayıf korelasyon mevcuttur ($r=-0.415$, $p=0.000$).

SOX9 ile KLF4 kombine immünskorları arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon mevcuttur ($r=0.321$, $p=0.002$).

E-kadherin ile KLF4 kombine immünskorları arasında önemsiz derecede negatif yönlü korelasyon mevcuttur ($r=-0.102$, $p=0.335$).

Korelasyon analizine ait veriler **Tablo 4-28**'de verilmiştir.

Tablo 4-28 İmmunohistokimyasal boyaların korelasyon analizi

Kombine immünskor		SOX9	E-kadherin	KLF4
SOX9	r		-0.415	0.321
	p		0.000	0.002
E-kadherin	r	-0.415		-0.102
	p	0.000		0.335
KLF4	r	0.321	-0.102	
	p	0.002	0.335	

5. TARTIŞMA

Renal kanserler, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının (IARC) 2020 Küresel Kanser Gözlem Verilerine (GLOBOCAN) göre en sık görülen kanserler arasında 14. sırada yer almaktadır. Tüm erişkin organ kanserlerinin yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Mevcut verilere göre 2020 yılında dünyada 19.3 milyon yeni kanser vakası görülmüştür. Bunlardan 431.288'ini renal kanserler oluşturmaktadır. Renal kanserlerin erkeklerde ve kadınlarda görülme oranı 6.1/3.2'dir. 2020 yılında 179.368 hastada renal kansere bağlı ölüm gerçekleşmiştir (1). Türkiye'de ise 5.125 yeni vaka görülmüş olup 1.965 vakada ölüm meydana gelmiştir. 5 yıllık sağkalım oranı ise 16.8/100.000'dir (74).

Berrak hücreli renal hücreli karsinom (BHRHK), Renal hücreli karsinom (RHK)'un en sık görülen alttipidir ve renal kanserlerin %60-80'ini oluşturmaktadır. Genellikle sporadik olarak ortaya çıkmaktadır. Bazı çalışmalarda birtakım tetikleyici ajanlarla ilişkisi tanımlanmıştır. Tipik olarak korteks yerleşimlidirler ve proksimal nefron kökenli oldukları düşünülmektedir. Histolojik olarak berrak veya eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşmaktadır (39).

BHRHK, genellikle erişkinlerde görülmektedir. Ortalama görülme yaşı 55-60 yaş arasında değişmektedir. Erkeklerde görülme sıklığı daha yüksektir. Erkek ve kadınlarda görülme oranı 2/1 veya 3/1 oranında değişmektedir (20)(38)(39)(75). Bu bilgiler ışığında çalışmamıza 92 BHRHK olgusu dahil edilmiş olup olguların 69'u erkek, 23'ü kadın hastalardan oluşmaktadır. Erkeklerde görülme sıklığı daha yüksektir ve oran 3/1'dir. Ortalama görülme yaşı 60 yaştır. En genç vaka 29 yaşındadır.

BHRHK'de multifokalite ve bilateralite oldukça az oranda görülmektedir (38)(39). Bizim çalışmamızda da 4 olguda multifokalite görülmüştür. Multifokalite görülen 4 olguda görülme yaşı 45-65 yaş arası değişmektedir. Bilateralite gösteren olgu görülmemiştir. Literatürde bildirilen vakalarda ortalama tümör çapı 5-7 cm arasında değişkenlik göstermektedir (76)(77). Çalışmamızda tümör çapı 3 mm ile 13 cm arasında değişmekte olup ortalama tümör çapı 5.4 cm'dir.

BHRHK'de çeşitli prognostik faktörler tanımlanmıştır. Bunlar arasında en önemli prognostik faktör tümörün patolojik evresidir. Aynı evredeki tümörler arasında kötü prognostik parametreler tümör derecesi, nekroz varlığı, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyondur (39).

Literatür verilerine bakıldığında vaka dağılımının düşük patolojik evrelerde (pT1 ve pT2) yoğunlaştığı görülmektedir. Li ve ark.nın (52) çalışmasında pT1 ve pT2 tümörler vakaların %55'ini, Harb ve ark.nın (3) çalışmasında %58'ini, Jang ve ark.nın (20) çalışmasında %88'ini oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda da önceki çalışmalarla benzer şekilde vakaların büyük kısmını pT2 ve altında olan vakalar (%68.5) oluşturmaktadır. pT4 vaka sayısı oldukça azdır ve tüm vakaların yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır.

Tümörde nekroz varlığının bağımsız bir prognostik önemi vardır. Genel olarak toplam tümör hacminin %10'undan fazlasında tümör nekrozu görülen vakalar daha kötü prognoz göstermektedir. Evre 1 ve 2 tümörler için ise bu oran %20'dir. (39). Yapılan çalışmalarda nekroz oranı değişkenlik göstermektedir (20)(76). Çalışmamızda vakaların yaklaşık 3/1'inde nekroz görülmüştür. Bu olguların 8'inde nekroz tümör hacminin %10'undan fazlasını oluşturmaktadır.

Tümör derecesi Fuhrman derecelendirme sistemi kullanılarak verilmektedir. Vakaların çoğunu düşük dereceli tümörler (derece 1 ve 2) oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu oran %60 ile %80 arasında değişmektedir (3)(72)(76)(78). Derece 4 tümörler oldukça düşük oranlarda (%10-12) görülmektedir (3)(20). Bizim çalışmamızda da derece 1 ve 2 tümörler (%67.4) vakaların büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Tüm vakaların sadece %7.6'sı derece 4 tümörlerden oluşmaktadır.

Sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon vakaların yaklaşık %5'inde görülür ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Sarkomatoid diferansiasyonu olan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %15-22, rabdoid diferansiasyonu olan hastalarda 5 yıllık median sağkalım oranı 8-31 ay arasında değişmektedir (39). Langner ve ark.nın (79) çalışmasında vakaların %6'sında sarkomatoid ve rabdoid değişiklik tespit edilmiştir. Çalışmamızda da sarkomatoid ve rabdoid değişiklik gösteren vakalar, literatürdekine benzer şekilde, tüm vakaların %5'ini oluşturmaktadır.

Lenfovasküler invazyon oranı çalışmalarda değişkenlik göstermektedir. Andreiana ve ark.nın (76) çalışmasında %19.5, Jang ve ark.nın (20) çalışmasında %7 oranında görülmüştür. Bizim çalışmamızda lenfovasküler invazyon vakaların %15.2'sinde izlenmiştir.

Lenf nodu metastazı ve uzak metastaz yüksek patolojik evresi olan hastalarda daha sık görülmektedir. Spachmann ve ark.'nın (80) RHK tanısı verilen pT3b ve pT3c olgularda yaptıkları çalışmada 18 olguda lenf nodu metastazı, 48

olguda (yaklaşık yarısından fazlasında) uzak metastaz tespit edilmiştir. BHRHK'si olan hastalarda yapılan çalışmalarda lenf nodu metastazını ve uzak metastazı sırasıyla Cai %26/%21, Harb ve ark. %44/%22, Jang ve ark. %10/%7 oranında görmüşlerdir (3)(20)(81). Bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı vakalarının %4.3'ünde, uzak metastaz %20'sinde görülmüştür. pT3 ve pT4 vakalarının yaklaşık yarısında (%44.8) uzak metastaz tespit edilmiştir. Bu bulgular, ileri patolojik evresi olan hastalarda daha yüksek oranda metastaz görüldüğünü işaret etmektedir.

Son zamanlarda hücre gelişmesi ve farklılaşmasında rol oynayan genlerin ekspresyonunu sağlayan mekanizmaların hakkında artan bir ilgi mevcuttur. Bunun nedeni tümör hücrelerinin özel bir fenotipi olan kök hücre benzeri özelliklere sahip kanser kök hücreleri (KKH'leri) ile ilişkisidir. KKH'lerinin tümör oluşumu ve metastaz gelişiminde ana unsur olduğu kabul edilmektedir. KKH'leri kendi kendini yenileme, farklılaşma kapasitesi ve apoptoza direnç dahil olmak üzere çeşitli hücre özelliklerine sahiptir. KKH'leri genellikle kemoterapiye dirençlidir ve nihayetinde tümörde nükse yol açar. Kök hücre düzenleyici proteinler, KKH fenotipini düzenleme özelliklerinden dolayı potansiyel onkogenler olarak tanınmaktadır (12).

RHK ve en sık görülen alt tipi olan BHRHK'de prognozu belirlemede KKH ile ilişkili faktörlerin klinik kullanımı için immunohistokimyasal ve moleküler olarak geniş çapta araştırmalar yapılmaktadır (11)(52)(72)(73)(78). Çalışmamızda SOX9 ve KLF4'ün kök hücre biyolojisinde bilinen rolü ve KKH fenotipininin düzenlenmesinde görev almaları nedeniyle BHRHK gelişimi ve prognozunu belirlemedeki rolü araştırılmıştır. Elde edilen verilerin, ileri evre ve metastatik hastalıkta en iyi bilinen faktörlerden biri olan E-kadherin ekspresyonu ile korelasyonları incelenmiştir.

SOX9, DNA bağlayıcı bölge ve transaktivasyon alanlarına sahip olan SOX transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. Hücre gelişiminde kondrogenenezis ve erkek gonad oluşumu açısından incelenmiştir. SOX9 çeşitli transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek proliferasyonun desteklenmesi, yaşlanma inhibisyonu ve neoplastik transformasyon dahil olmak üzere birçok proonkogenik özellik sergilemektedir. Yapılan çalışmalar, çeşitli kanser tiplerinde SOX9 aşırı ekspresyonunun tümör progresyonu ve klinik parametrelerle ilişkili olduğunu göstermiştir (12).

SOX9'un meme, mesane, mide, over, pankreas, kolon karsinomlarında ve hepatoselüler karsinomda overekspresyona uğradığı görülmüştür (11)(17)(13)(14)(15)(18)(82)(83)(84). Prostat kanserinde ise ekspresyonu değişkenlik göstermekte olup overekspresyonu veya downregülasyonu görülebilmektedir (19)(85). Meme kanserinde proliferasyon, karsinogenez, metastaz ve kötü sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (17). Mesane kanserinde karsinogenezi desteklemekte ve kötü sağkalıma yol açmaktadır (11). Pankreas ve kolon kanserinde kemorezistanstan sorumludur (14)(15)(18).

SOX9 ile ilgili RHK'de yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (2)(11)(52). Bu çalışmalardan iki tanesinde SOX9'un immünohistokimyasal olarak ekspresyonuna ve prognostik faktörlerle ilişkisine bakılmıştır. Çalışmalardan bir tanesinde ise hücre dizilerinde ve dokularda moleküler çalışmalar eşliğinde SOX9 ekspresyonu tayin edilmiştir (2).

Wan ve ark.nın (11) çalışmasında RHK vakalarının %90'ında yüksek SOX9 ekspresyonu, Li ve ark.nın (52) çalışmasında vakaların yaklaşık yarısında SOX9 pozitifliği tespit edilmiştir. SOX9, tümör dokusunda normal böbrek dokusuna göre anlamlı derecede yüksek boyanma göstermiştir (11)(52). Çalışmamızda SOX9 tüm vakalarda tümör bitişindeki normal böbrek parankiminde değişken şiddette pozitif boyanmıştır. Yapılan çalışmalara benzer şekilde SOX9'un tümör dokusunda normal böbrek dokusuna göre anlamlı derecede yüksek boyandığı görülmüştür.

SOX9 ile prognostik faktörler arasındaki ilişkiye bakıldığında Wan ve ark.nın (11) çalışmasında pT2 üzerinde patolojik evresi olan hastalarda daha yüksek SOX9 ekspresyonu görülmüştür. Ancak SOX9 ekspresyonu ile patolojik evre arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Li ve ark.nın (52) çalışmasında ise benzer şekilde SOX9 ekspresyonu ile patolojik evre arasında ilişki tespit edilememiştir. Çalışmamızda da pT4 ve pT3 tümörlerde pT2 tümörlere göre daha yüksek SOX9 ekspresyonu izlenmektedir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bunun nedenleri arasında ileri patolojik evrelerdeki vaka sayımızın az olması ve patolojik evre grupları arasında eşit vaka dağılımı olmaması sayılabilir.

Her iki çalışmada da SOX9 ekspresyonu ile artan tümör derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (11)(52). Li ve ark.nın (52) çalışmasında metastaz görülen 38 vakanın 16'sında SOX9 pozitifdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde derece 4 tümörlerde derece 2 ve 3 tümörlere göre anlamlı derecede yüksek

SOX9 ekspresyonu izlenmiştir. Uzak metastaz görülen 14 vakada ise anlamlı derecede yüksek SOX9 ekspresyonu görülmüştür.

Genel olarak renal kanserler kemoterapiye ve konvansiyonel immünoterapiye dirençlidir. Bu yüzden metastatik RHK'li hastalarda prognoz kötü seyretme eğilimindedir. Sunitinib ve sorafenib gibi hedefe yönelik tedaviler ilerlemiş veya metastatik BHRHK'li hastalarda kullanılan standart ilaçlardır. Ancak bu tedavilere nadiren tam yanıt alınır ve küratif etkiler genellikle gözlenmez (86). SOX9'un terapötik bir biyobelirteç olarak RHK'li hastalarda tedavide kullanımı ile ilgili sınırlı veri mevcuttur. Li ve ark.'nın (52) çalışmasında metastatik RHK'li hastalarda Sorafenib/Sunitinib'e verilen terapötik yanıt SOX9 pozitif ve negatif hastalar arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Bu bulgulara göre metastatik RHK'li olgularda tirozin kinaz inhibitörlerinin (TKI) rezistansı durumunda SOX9 ekspresyonunun disregülasyonu da düşünülmelidir. Gelecekte SOX9'un TKI'lara yanıtı öngören bir biyobelirteç olarak kullanılması beklenmektedir.

Epitelyal mezenkimal geçiş (EMT), embriyonik gelişim sırasında normal hücre göçünü ve normal yetişkin doku homeostazını kontrol eden genetik programdır. EMT aktivasyonunun malign epitel hücrelerinde gerçekleşmesi kanser kök hücrelerinin oluşumuna ve metastaza yol açar. Böylece invazyon ve metastaz süreçlerinin tüm aşamalarında önemli rol oynar. Bu süreçte rol alan birçok faktör keşfedilmiştir. EMT'de rol oynayan başlıca faktör E-kadherin downregülasyonudur. E-kadherin normal epitel hücre zarında bulunan, B-katenin'e bağlanarak aktin hücre iskeletine bağlı bir protein kompleksi oluşturan bir hücre adhezyon molekülüdür. Sıkı bağlantı bileşenlerindeki herhangi bir bozukluk karsinogenez sırasında EMT indüksiyonunda önemli rol oynar (3).

Azalan E-kadherin ekspresyonu sonucunda, tümör hücreleri primer tümörden ayrılarak invazyon ve metastaza yol açarlar. Bu yüzden E-kadherin'in metastazı engelleyerek bir tümör süpresör olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Hepatoselüler karsinom, baş boyun kanserleri, derinin ve özofagusun skuamöz hücreli karsinomu ile melanom gibi birçok kanserde tümör süpresör etki gösterdiği görülmüştür. E-kadherin'in yeniden eksprese edilmesi ise tümör hücrelerinin agresif hareketini azaltmak için yeterlidir (53).

Yapılan çalışmalarda E-kadherin'in BHRHK'de tümör dokusu ile tümör dokusuna bitişik böbrek parankimi ve normal böbrek dokusundaki ekspresyonunu

karşılaştırıldığında, E-kadherin ekspresyonunun tümör dokusunda anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür (3)(81).

E-kadherin downregülasyonu ile prognostik faktörler arasındaki ilişkiye bakıldığında yapılan çalışmalarda yüksek patolojik evre (20) ve yüksek derece (3)(53)(76)(81) ile düşük E-kadherin ekspresyonunun anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür. Bu verilerle benzer doğrultuda tümörde sarkomatoid komponentte de azalmış E-kadherin ekspresyonu izlenmektedir (79). Çalışmamızda yüksek dereceli tümörlerde anlamlı düzeyde E-kadherin ekspresyon kaybı görülmüştür. Sarkomatoid ve rabdoid komponentte de benzer şekilde anlamlı derecede düşük E-kadherin ekspresyonu izlenmiştir.

Ancak E-kadherin ekspresyonu ile patolojik evre arasında anlamlı bir ilişki saptanmayan çalışmalar da mevcuttur. Langner ve ark. nın (79) çalışmasında pT1 71 vaka, pT2 5 vaka, pT3 61 vaka görülmüştür. Toplamda 7 hastada pozitif boyanma izlenmiş olup hastaların 5 tanesi pT3'tür. Yapılan istatistiksel değerlendirmede E-kadherin ekspresyonu ile patolojik evre arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da pT4 tümörlerde pT2 ve pT3 tümörlere göre daha düşük E-kadherin ekspresyonu izlense de E-kadherin ekspresyonu ile patolojik evre arasında anlamlı düzeyde bir ilişki tespit edilememiştir. İleri patolojik evresi olan az sayıda vaka bulunması buna ek olarak gruplar arasında eşit olmayan vaka dağılımı E-kadherin ekspresyonu ve patolojik evre arasında anlamlı bir ilişki bulunamamasının nedenleri arasında sayılabilir.

Nekrozu olan vakalarda daha düşük E-kadherin ekspresyonu görülmektedir. Ancak tümör nekrozu ile E-kadherin ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir ilişki tespit edilememiştir (77). Çalışmamızda da benzer şekilde nekrozu olan vakalarda E-kadherin ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Ancak E-kadherin ekspresyonu ve nekroz arasında anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmamıştır.

Düşük E-kadherin ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında anlamlı derecede ilişki saptanmıştır (20)(76). Çalışmamızda lenfovasküler invazyonu olan vakalarda daha düşük E-kadherin ekspresyonu görülmektedir. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

Yapılan çalışmalarda E-kadherin ekspresyon kaybının tümör invazyonu, tümör metastazı ve kötü sağkalımla ilişkili olduğu görülmüştür. Metastatik RHK'lerde de anlamlı derecede düşük E-kadherin ekspresyonu izlenmektedir

(3)(20)(53)(81). Ancak Spachmann ve ark.'nın (80) RHK'de vena kava trombüsü olan pT3 vakalarda yaptığı çalışmada, güçlü E-kadherin ekspresyonu ile lenf nodu metastazı ve uzak metastazın anlamlı derecede ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda kötü sağkalım ve kansere özgü sağkalımla ilişkili olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda uzak metastaz ile düşük E-kadherin ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. E-kadherin ekspresyon kaybının EMT'yi doğrudan etkileyerek metastaza yol açması beklenen bir durumdur. Bulgularımız da mevcut literatür verileriyle uyumludur (3).

E-kadherin ekspresyonu ile yaş ve cinsiyet ilişkisine bakıldığında anlamlı bir fark izlenmemektedir (3)(77)(81). Harb ve ark.nın (3) çalışmasında tümör çapı 7 cm'nin üzerinde olan vakalarda daha fazla oranda negatif E-kadherin ekspresyonu görülmüştür. Jang ve ark.nın (20) çalışmasında ise düşük E-kadherin ekspresyonu ile tümör çapı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde yaş ve cinsiyet ile E-kadherin ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Tümör çapı 7 cm'in üzerinde olan vakalarda daha düşük E-kadherin ekspresyonu izlenmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

BHRHK heterojen bir neoplazidir ve klinik yönetimiyle ilgili çoğu problem bu noktaya dayanmaktadır. Prognostik ve prediktif belirteçlerin heterojenliği bireysel tümör alt klonları arasında fonksiyonel farklılıkların varlığını ortaya koyar. BHRHK'deki intratümöral heterojeniteye (İTH) tümör gelişimi sırasında birbirinden bağımsız çoğalan hücre klonları sebep olmaktadır. Primer tümördeki tek bir alt klondan türetilen çoklu metastazlar, bireysel alt klonların hastalık prognozunda belirleyici bir faktör olabileceğini göstermiştir. Metastaz, primer tümörde tespit edilmesi zor olan azınlık bir klondan meydana gelebilmektedir. Bu yüzden geleneksel olarak tümör profillemesi için tekli biyopsilere dayanan prognostik biomarkır yaklaşımları yetersiz kalmaktadır ve hedefe yönelik tedavilerin tanımlanmasında zorluklar meydana gelmektedir. Son yıllarda BHRHK'deki İTH moleküler bir bakış açısıyla özel olarak incelenmiştir. Ancak bu sorunu klinik rutin bir yaklaşımla ele alan az sayıda çalışma mevcuttur (75)(87).

Zaldumbide ve ark. BHRHK'de İTH'nin yaygın bir olay olduğunu görmüşlerdir. Hücre tipi (berrak/granüler) ve Fuhrman derecesi vakaların %60'ında heterojenite göstermiştir. Hücre tipinin homojen (berrak hücre tipinde) olduğu vakaların %88'inin düşük dereceye sahip olduğu görülmüştür. 3.7 cm'den büyük

tümörlerde vimentin boyamasında %72 oranında heterojenite izlenmiştir. Vakaların %60'ında E-kadherin kaybı mevcuttur ve E-kadherin'de heterojen bir boyanma paterni görülmüştür. Buna ek olarak, berrak ve granüler hücrelerin bir arada bulunması vakaların %83'ünden fazlasında yüksek tümör derecesini belirlediğinden (G3/G4), hücre tipi ile tümör derecesinin ilişkili olduğu gösterilmiştir (75). Bizim çalışmamızda da derece 3 tümörlerin tamamında berrak ve granüler hücreler bir arada bulunmaktadır. Derece 4 tümörlerde sarkomatoid/rabdoid komponent baskın karakterdedir. Derece 4 tümörlerin 3'ünde pleomorfik atipik hücreler görülmüştür. İTH'nin derece 3 tümörlerde yüksek oranda görülmesi nedeniyle E-cadherin boyanmasının değerlendirilmesinde çeşitli zorluklarla karşılaşmıştır. Bu durumda derecesi yüksek alanlar dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır.

Zhang ve ark. nın RHK'li hastalarda yaptığı çalışmada E-kadherin/B-katenin protein kompleksinin klinik değerini analiz etmişlerdir. B-katenin proteininin sitoplazmik birikimi ve E-kadherin ekspresyonunun azalması RHK'lerin agresif biyolojik davranışı ile ilişkilendirilmiştir. E-kadherin(-)/B-katenin(+) RHK'li hastalarda daha kötü prognoz tespit edilmiştir. Bu da RHK'nin progresyonunda ve metastatik hastalığa ilerlemesinde Wnt/B-katenin sinyal yolağının rol aldığını destekler. Buna dayalı olarak, RHK'lerde tedavi düzenlenirken E-kadherin ve B-katenin ekspresyon durumuna dikkat edilmesi gerektiği sonucu açığa çıkmaktadır (77).

KLF4, ilk olarak büyümenin düzenlenmesinde rol alan transkripsiyon faktörleri içinde, çinko parmak içeren transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır. Hücre döngüsünün negatif düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Proliferasyonu artıran çok sayıda geni baskımlarken proliferasyon inhibitörlerini aktive eder. Ayrıca deri, kolon ve göz gibi çeşitli dokuların organogenezi sırasında farklılaşmada önemli bir rol oynar. İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerin (İPKH) ortaya çıkmasıyla KLF4, somatik hücreleri kök hücre benzeri bir duruma yeniden programlayabilen ve kendi kendini yenilemeyi sürdürebilme yeteneğine sahip hale getirebilen genlerden biri olarak kabul görmüştür (88).

KLF4 gelişme ve tümör oluşumu sırasında da epitel hücrelerinde çoğalma ve farklılaşmanın transkripsiyonel düzenleyicisidir. KLF4 farklı hücresel mekanizmalara bağlı olarak tümör süpresör gen veya onkogen olarak işlev görebilir. Mide, kolorektal, özofagus, pankreas, mesane, prostat, küçük hücreli dışı

akciğer kanseri ve lösemide tümör süpresör gen olarak görev almaktadır (27)(32)(60). Laringeal skuamöz hücreli karsinom, memenin duktal karsinomunda, ciltte displazi gelişiminde KLF4'ün overekspresyon gösterdiği ve onkogen olarak görev aldığı görülmektedir (27). Son zamanlardaki yeni bulgulara göre pankreas (89), kolon (90) ve prostat kanseri (91) gelişiminde KLF4 veya KLF4 izoformlarının onkogenik rolü bildirilmiştir.

KLF4'ün RHK ve BHRHK gelişimindeki rolü ile ilgili bugüne kadar yapılmış 3 adet çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda KLF4'ün BHRHK gelişiminde tümör süpresör rolü olduğu bildirilmiştir (72)(73)(78). Song ve ark.nın (72) yaptıkları çalışmada KLF4 aşırı ekspresyonunun insan BHRHK hücre dizilerinde proliferasyonu önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca KLF4 aşırı ekspresyonu, p21 ekspresyonunu upregüle, siklin D1 ekspresyonunu downregüle ederek G1/S fazı geçişinde hücre döngüsünün ilerlemesini durdurmaktadır. Bu veriler KLF4'ün BHRHK'nin büyümesini baskılamada önemli bir işlevi olduğunu göstermiştir.

Song ve ark. (72) BHRHK vakalarının %40'ında tümör dokusunda orta şiddette ve şiddetli pozitif boyanma tespit etmişlerdir. Li ve ark. nın (73) çalışmasında ise bu oran %13'tür. Liu ve ark. nın (78) moleküler yöntemler kullanarak KLF4 ekspresyonunu incelediği çalışmada, vakaların %16'sında KLF4 downregülasyonu görmüşlerdir. Her üç çalışmada da tümör dokusunda normal böbrek parankimine göre anlamlı derecede düşük KLF4 ekspresyonu izlenmektedir. Çalışmamızda KLF4 vakaların %22.8'inde pozitif boyanmıştır. Normal böbrek parankiminde ise %10.9 oranında bir pozitiflik mevcuttur. Normal böbrek parankimi ile tümör dokusundaki KLF4 ekspresyonu karşılaştırıldığında tümör dokusunda daha yüksek KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Normal böbrek parankiminde daha az sayıda vakada pozitif boyanma olmasının bu sonuca neden olduğu düşünülmektedir.

KLF4 ekspresyonunun prognostik faktörlerle ilişkisine bakıldığında, yapılan çalışmalarda düşük KLF4 ekspresyonunun patolojik evre ve nükleer derece ile anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (72)(73). Çalışmamızda pT3 tümörlerde pT1 tümörlere göre anlamlı derecede düşük KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Tümör derecesi arttıkça KLF4 ekspresyonu anlamlı derecede azalmaktadır.

Li ve ark. (73) düşük KLF4 ekspresyonu ile klinik evre ve lenf nodu metastazı arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir. Çalışmamızda uzak metastaz yapan olgularda KLF4 ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Song ve ark.nın (72) çalışmasında tümör çapı yüksek (7 cm'nin üzerinde) olan vakalarda anlamlı derecede düşük KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Her üç çalışmada da yaş ve cinsiyet ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (72)(73)(78). Çalışmamızda KLF4 ekspresyonunun tümör çapı ile olan ilişkisine bakıldığında tümör çapı 4 cm'nin üzerinde olan vakalarda anlamlı derecede düşük KLF4 ekspresyonu görülmüştür. Tümör çapı 7 cm altı ve üzeri olarak gruplandığında da benzer şekilde tümör çapı yüksek olan grupta anlamlı derecede düşük KLF4 ekspresyonu izlenmiştir. Yaş ve cinsiyet ile KLF4 ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır.

KLF4 hücre döngüsünü G1/S ve G2/M geçişlerinde kontrol ederek hücre döngüsünün ilerlemesini düzenleyebilmektedir (59). Hücre döngüsü kontrol noktalarında yer alan P21WAF1/CIP1, p27Kip1, siklin D1 ve B-katenin gibi bazı önemli onkogenleri ilgili dizinin promotoruna bağlanarak doğrudan modüle edebilir (59)(65)(66)(67)(68)(72). Bu onkogenlerin insan BHRHK gelişiminde ve tedavisinde önemli işlevleri olduğu bilinmektedir (92)(93). Çoğu RHK'de upregüle olan p21WAF1/CIP1, RHK için prognostik bir belirteçtir (94). Artan p21WAF1/CIP1 hedefe yönelik tedavilerde başarısızlığa yol açmaktadır (95). Mevcut veriler, bahsedilen genlerin BHRHK karsinogenezi ve tedavisinde önemli fonksiyonlara sahip olduğunu göstermiştir. Bu yüzden KLF4 ekspresyonu bu genlerin işlevlerinde değişikliğe yol açarak BHRHK progresyonunda önemli bir görev üstlenebilir.

Bu bulgular BHRHK gelişiminde ve progresyonunda, KLF4 ekspresyonunda azalmanın önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca KLF4'ün BHRHK için değerli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda SOX9 ve E-kadherin arasında yapılan korelasyon analizinde negatif yönlü zayıf korelasyon tespit edilmiştir. Bu bulguyu SOX9'un BHRHK gelişimi ve ilerlemesinde onkogen olarak rol aldığı, E-kadherin'in ise tümör süpresör görevi görerek tümör gelişimi ve ilerlemesini durdurduğu yönünde yorumlamak mümkündür. Huang ve ark.nın (96) papiller tiroid karsinomunda

yaptıkları çalışmada SOX9 seviyelerinde azalmanın tümör hücre proliferasyonunu, invazyonu ve EMT'yi, Wnt/B-katenin sinyal yolağı üzerinden inhibe ettiği gösterilmiştir. Akciğerin non small cell karsinomunda yapılan bir çalışmada ise benzer şekilde SOX9 overekspresyonunun E-kadherin ekspresyonunu azaltarak EMT prosesini aktive ettiği ve metastaza neden olduğu görülmüştür (51).

Yori ve ark.(88) insan meme epitel hücrelerinde yaptıkları çalışmada KLF4 süpresyonunun, epitelyal-mezenkimal geçişin göstergesi olan epitel hücre morfolojisinde ve hücre göçünde değişikliklere yol açtığını görmüşlerdir. Bu değişikliklerle uyumlu olarak azalan KLF4 seviyeleri E-kadherin proteininin kaybına neden olmuştur (88). Buna ek olarak Zhu ve ark.nın (60) pankreas kanseri olan dokularda, Zhang ve ark.nın (32) prostat kanseri olan dokularda, Li ve ark.nın (73) RHK'li dokularda yaptıkları çalışmada KLF4'ün E-kadherin ekspresyonunu artırarak EMT'yi ve metastazı inhibe ettiği görülmüştür. Ancak, çalışmamızda E-kadherin ve KLF4 arasında yapılan korelasyon analizinde anlamlı derecede bir korelasyon tespit edilememiştir. Bunun nedeni olarak KLF'ün vakalar arasında heterojen bir boyanma paternine sahip olması ve az sayıda vakada pozitif boyanması gösterilebilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular SOX9 ve KLF4 ekspresyonlarının BHRHK gelişimi ve progresyonunda önemli rol üstlendiğini göstermektedir. SOX9, E-kadherin ve KLF4'ün birlikte kullanımının BHRHK'de prognozu ve tedaviye yanıtı belirlemede etkin bir görev alacağını düşündürmektedir. Bunun için her üç biyobelirteç ile ilgili yapılacak geniş çapta araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda berrak hücreli renal hücreli karsinomlarda prognostik parametreler ile SOX9, E-kadherin ve KLF4 immünohistokimyasal boyama sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık. Bu immün belirteçlerin ekspresyonlarının BHRHK gelişimi ve progrediyonuna etkileri ile karsinogenezin hangi aşamalarında rol aldıklarını ortaya koymayı hedefledik.
2. Bu çalışmada 92 BHRHK tanısı almış olgu incelendi. Vakaların 69'u (%75) erkek, 23'ü (%25) kadın idi. Olguların yaşları 29 ile 85 yaş arasında değişmekte olup ortalama yaş 59,5 (± 10.6)'ti.
3. Tümör çapı 3 mm ile 13 cm arasında değişmekte olup ortalama tümör çapı 5.46 (± 3.02) cm olarak ölçüldü. Median değer 4.5 cm idi.
4. DSÖ/ISUP sınıflamasına göre olguların 9'unda (%9.8) nükleer derece 1, 53'ünde (%57.6) nükleer derece 2, 23'ünde (%25) nükleer derece 3, 7'sinde (%7.6) nükleer derece 4 idi.
5. Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitlere SOX9, E-kadherin ve KLF4 antikorları uygulandı. Antikorların ekspresyon oranlarına ışık mikroskopi ile bakılarak tüm prognostik faktörlerle ilişkileri incelendi.
6. İmmünohistokimyasal boyama sonucuna göre SOX9 vakaların tümünde nükleer pozitif boyandı. Tümör dokusunda normal böbrek dokusuna göre daha yüksek oranda pozitif boyanma izlendi.
7. İmmünohistokimyasal boyama sonucuna göre E-kadherin 88 vakada (%95.7) membranöz tarzda pozitif boyanma gösterdi. Tümör dokusunda tümör dışı böbrek parankimine göre daha düşük E-kadherin ekspresyonu izlendi.
8. İmmünohistokimyasal boyama sonucuna göre KLF4 21 vakada (%22.8) nükleer pozitif boyanma gösterdi. KLF4 tümör dışı böbrek parankiminde 10 vakada (%10.9) pozitif boyandı.
9. SOX9 overekspresyonu ile nükleer derece, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon, uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.

10. Düşük E-kadherin ekspresyonu ile nükleer derece, sarkomatoid ve rabdoid diferansiasyon ve uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi.
11. Düşük KLF4 ekspresyonu ile nükleer derece, patolojik evre, tümör çapı ve arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü.
12. Tümör çapı 4 cm'nin üzerinde, lenfovasküler invazyon ve tümör nekrozu olan gruplarda daha yüksek SOX9 ekspresyonu izlendi.
13. Tümör çapı 4 cm'nin üzerinde, lenfovasküler invazyon ve tümör nekrozu olan gruplarda daha düşük E-kadherin ekspresyonu görüldü.
14. Lenfovasküler invazyon ve tümör nekrozu olan gruplarda daha düşük KLF4 ekspresyonu tespit edildi.
15. SOX9'un tümör dokusunda daha yüksek oranda pozitif boyanma gösterdiği ve literatürdekine benzer şekilde BHRHK'de onkogen görevi üstlendiği sonucuna varıldı.
16. E-kadherin'in tümör dokusunda ekspresyon kaybına uğradığı ve birçok organdakine benzer şekilde BHRHK'de de tümör süpresör görevi üstlendiği görüldü.
17. KLF4 ekspresyonunun tümör dokusunda boyanma özelliği ve prognostik faktörlerle ilişkisine bakıldığında BHRHK'de literatürdekine benzer şekilde ekspresyon kaybına uğradığı görüldü.
18. SOX9 ekspresyonu ile E-kadherin ekspresyonu arasında negatif yönlü zayıf korelasyon tespit edildi.
19. SOX9 ve KLF4 ekspresyonu arasında pozitif yönlü zayıf korelasyon olduğu görüldü. KLF4 pozitif vaka sayısının SOX9 pozitif vaka sayısına göre daha az olması nedeniyle değerlendirme dışında bırakıldı.
20. E-kadherin ve KLF4 ekspresyonları arasında önemsiz derecede negatif yönlü korelasyon saptandı. KLF4 pozitif vaka sayısının E-kadherin vaka sayısına göre oldukça az olması nedeniyle değerlendirme dışında bırakıldı.
21. BHRHK gelişimi ve progresyonunda altta yatan mekanizma daha fazla araştırma gerektirse de sonuçlar SOX9 upregülasyonu ve KLF4 downregülasyonunun BHRHK'de prognozu etkileyen faktörlerden biri olabileceğini düşündürmektedir.

Özetle, BHRHK'si olan vakalarda kök hücre ile ilişkili faktörlerle ilgili analizimizin sonuçları, bu faktörlerin ekspresyonlarında meydana gelen değişikliklerin BHRHK patogenezinin altında yatan onkojenik mekanizmalardan biri olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle SOX9 ekspresyonunun karsinogenezde ve RHK'nin ilerlemesinde rol oynadığını ve muhtemelen RHK patogenezinde kanser kök hücrelerinin yer aldığını göstermektedir. Ancak SOX9 ve KLF4'ün BHRHK gelişimi ve progresyonundaki işlevi ve ayrıntılı mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi için daha geniş vaka sayısına sahip yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. International Agency for Research on Cancer (World Health Organization). Kidney: Globocan 2020 - The Global Cancer Observatory. Globocan 2020. 2020;419:1–2.
2. Hu B, Wang J, Jin X. MicroRNA-138 suppresses cell proliferation and invasion of renal cell carcinoma by directly targeting SOX9. *Oncol Lett.* 2017;14(6):7583–8.
3. Harb OA, Elfeky MA, El Shafaay BS, Taha HF, Osman G, Harera IS, et al. SPOP, ZEB-1 and E-cadherin expression in clear cell renal cell carcinoma (cc-RCC): Clinicopathological and prognostic significance. *Pathophysiology.* 2018;25(4):335–45.
4. Cheng B, Yang G, Jiang R, Cheng Y, Yang H, Pei L, et al. Cancer stem cell markers predict a poor prognosis in renal cell carcinoma: A meta-analysis. *Oncotarget.* 2016;7(40):65862–75.
5. Tuna M. Solid tümörlerde ve lösemilerde kanser kök hücreleri. *Türk Onkol Derg.* 2009;24(1):42–7.
6. Chen K, Huang YH, Chen JL. Understanding and targeting cancer stem cells: Therapeutic implications and challenges. *Acta Pharmacol Sin.* 2013;34(6):732–40.
7. Kim CFB, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell.* 2005;121(6):823–35.
8. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature.* 2007 Jan;445(7123):106–10.
9. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res.* 2005;65(23):10946–51.
10. Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, Dinulescu DM, Connolly D, Foster R, et al. Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(30):11154–9.
11. Wan YP, Xi M, He HC, Wan S, Hua W, Zen ZC, et al. Expression and Clinical Significance of SOX9 in Renal Cell Carcinoma, Bladder Cancer and Penile Cancer. *Oncol Res Treat.* 2017;40(1–2):15–20.
12. Aguilar-Medina M, Avendaño-Félix M, Lizárraga-Verdugo E, Bermúdez M, Romero-Quintana JG, Ramos-Payan R, et al. SOX9 Stem-Cell Factor: Clinical and Functional Relevance in Cancer. *J Oncol.* 2019;1-15

13. Raspaglio G, Petrillo M, Martinelli E, Donatella D, Puma L, Mariani M, et al. Sox9 and Hif-2 α regulate TUBB3 gene expression and affect ovarian cancer aggressiveness. *Gene*. 2014;542(2):173–81.
14. Miura K, Kimura K, Amano R, Yamazoe S, Ohira G, Nishio K, et al. Analysis of the origin of anaplastic pancreatic cancer and the mechanism of its dedifferentiation. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2017;24(3):176–84.
15. Lü B, Fang Y, Xu J, Wang L, Xu F. Analysis of SOX9 Expression in Colorectal Cancer. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:897–904.
16. Chen W, Zhao W, Chen S, Zhang L, Guo Z, Wang L, et al. Expression and correlation of MALAT1 and SOX9 in non-small cell lung cancer. *Clin Respir J*. 2018;12(7):2284–91.
17. Chakravarty G, Rider B, Mondal D. Cytoplasmic compartmentalization of SOX9 abrogates the growth arrest response of breast cancer cells that can be rescued by trichostatin A treatment. *Cancer Biol Ther*. 2011;11(1):71–83.
18. Lise M, Espersen M, Dmsc DL, Christensen IJ, Alamili M, Dmsc JTT, et al. SOX9 expression predicts relapse of stage II colon. *Hum Pathol*. 2016;52:38–46.
19. Song W, Kwon GY, Kim JH, Lim JE, Gyun H. Immunohistochemical staining of ERG and SOX9 as potential biomarkers of docetaxel response in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget*. 2016;7(50):83735–43.
20. Jang N-R, Choi JH, Gu MJ. Aberrant Expression of E-cadherin, N-cadherin, and P-cadherin in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Association With Adverse Clinicopathologic Factors and Poor Prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021;29(3):223–30.
21. Mendonsa AM, Na TY, Gumbiner BM. E-cadherin in contact inhibition and cancer. *Oncogene*. 2018;37(35):4769–80.
22. Gao Z, Tretiakova MS, Liu W, Gong C, Farris PD, Hart J. Association of E-cadherin, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors of metalloproteinases with the progression and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol*. 2006;19(4):533–40.
23. Wang D, Su L, Huang D, Zhang H, Shin DM, Chen ZG. Downregulation of E-Cadherin enhances proliferation of head and neck cancer through transcriptional regulation of EGFR. *Mol Cancer*. 2011;10:116.
24. Bozdogan O, Vargel I, Cavusoglu T, Karabulut AA, Karahan G, Sayar N, et al. Metastasis suppressor proteins in cutaneous squamous cell carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2016 Jul;212(7):608–15.
25. Ma L, Yang R, Gu J, Jiang H, Li H. The expression of AGGF1, FOXC2, and E-cadherin in esophageal carcinoma and their clinical significance. *Medicine*. 2020;99(37):e22173.
26. Venza M, Visalli M, Catalano T, Biondo C, Beninati C, Teti D, et al. DNA

- methylation-induced E-cadherin silencing is correlated with the clinicopathological features of melanoma. *Oncol Rep.* 2016;35(4):2451–60.
27. Evans PM, Liu C. Roles of Krüppel-like factor 4 in normal homeostasis, cancer and stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2008;40(7):554–64.
 28. Van Schaijik B, Davis PF, Wickremesekera AC, Tan ST, Itinteang T. Subcellular localisation of the stem cell markers OCT4, SOX2, NANOG, KLF4 and c-MYC in cancer: A review. *J Clin Pathol.* 2018;71(1):88–91.
 29. Kong F, Sun T, Kong X, Xie D, Li Z, Xie K. Krüppel-like Factor 4 Suppresses Serine/Threonine Kinase 33 Activation and Metastasis of Gastric Cancer through Reversing Epithelial–Mesenchymal Transition. *Clin Cancer Res.* 2018;24(10):2440–51.
 30. Nandan M, Lamb NE, Yang VW. Identification of Krüppel-like factor 4 as a potential tumor suppressor gene in colorectal cancer. *Oncogene.* 2004;23(2):395–402.
 31. Xue M, Zhou C, Zheng Y, Zhang Z, Wang S, Fu Y, et al. The association between KLF4 as a tumor suppressor and the prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Aging.* 2020 Aug;12(15):15566–80.
 32. Zhang N, Su P, Li X, Xi J, Li XU, Xu LUO. Downregulated Krüppel - like factor 4 expression is associated with the aggressiveness of prostate cancer. *Oncol Rep.* 2019;41:1789–96.
 33. Sadler TW. Langman’s Essential Medical Embryology. Langmans Essent Med Embryol. 2012;384.
 34. Lerman S, McAleer I, Kaplan G. Embryology of the genitourinary tract. Twelfth Ed. The Kelalis-King-Belman Textbook of Clinical Pediatric Urology, Fifth Edition. Elsevier Inc.; 2006. 231–233 p.
 35. Shahrier Amin MD, Bonsib SM. Nonneoplastic Diseases of the Kidney. In: Urologic Surgical Pathology. 2020. p. 1-82.e12.
 36. Elkoushy MA, Andonian S. Surgical, Radiologic, and Endoscopic Anatomy of the Kidney and Ureter. Twelfth Ed. Campbell-Walsh Urology. Elsevier Inc.; 2016. 967-977.e2 p.
 37. Devi V. Basic Histology: A Color Atlas and Text. Basic Histology: A Color Atlas and Text. 2016.
 38. Mckenney JK. Kidney: Tumors and Tumorlike Conditions. In: Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology - 2 Volume Set. Eleventh E. Elsevier Inc.; 2021. p. 1025–9.
 39. Moch H., Amin MB., Argani P., Cheville J. D, B., Martignoni G., Medeiros L.J, Srigley J.R. TPHTSK. Tumours of the kidney. In: Moch, Holger, Humphrey Peter A., Ulbright Thomas M. RVE, editor. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th ed. 2016. p. 12–21.

40. Novara G, Martignoni G, Artibani W, Ficarra V. Grading systems in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2007;177(2):430–6.
41. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, Mckenney J, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Grading System for Renal Cell Carcinoma and Other Prognostic Parameters The Members of the ISUP Renal Tumor Panel. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(10):1490–504.
42. Suárez C, Campayo M, Bastús R, Castillo S, Etxanitz O, Guix M, et al. Prognostic and Predictive Factors for Renal Cell Carcinoma. *Target Oncol*. 2018;13(3):309–31.
43. Eble JN, Grignon DJ, Young RH. Tumors of the Urinary Tract PART A Tumors of the Kidney. In: *Diagnostic Histopathology of Tumors*. 2021. p. 605–9.
44. Kim SP, Alt AL, Weight CJ, Costello BA, Cheville JC, Lohse C, et al. Independent Validation of the 2010 American Joint Committee on Cancer TNM Classification for Renal Cell Carcinoma: Results From a Large, Single Institution Cohort. *J Urol*. 2011;185(6):2035–9.
45. Sfanos KS, Gonzalgo ML. Molecular Genetics and Cancer Biology. In: *Campbell Walsh Wein Urology*. Twelfth Ed. Elsevier Inc.; 2021. p. 1346-1369.e14.
46. Burstein E. Cellular Growth and Neoplasia. In: *Feldman Mark, Friedman Lawrence S BLJ, editor. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 11th ed. 2021. p. 1–12.
47. Ko IK, Yoo JJ, Atala A. Regenerative Medicine Approaches for the Kidney. In: *Principles of Regenerative Medicine* [Internet]. Elsevier Inc.; 2021. p. 1165–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00066-7>
48. Freedman BS. Stem Cells, Kidney Regeneration, and Gene and Cell Therapy in Nephrology. In: *Brenner and Rector's The Kidney, 2-Volume Set*. Eleventh E. Elsevier Inc.; 2021. p. 2662-2677.e6.
49. Majid S, Saini S, Dahiya R. Wnt signaling pathways in urological cancers : past decades and still growing. *Mol Cancer*. 2012;11(7):1–13.
50. Blache P, van de Wetering M, Duluc I, Domon C, Berta P, Freund J-N, et al. SOX9 is an intestine crypt transcription factor, is regulated by the Wnt pathway, and represses the CDX2 and MUC2 genes. *J Cell Biol*. 2004;166(1):37–47.
51. Huang J-Q, Wei F-K, Xu X-L, Ye S-X, Song J-W, Ding P-K, et al. SOX9 drives the epithelial-mesenchymal transition in non-small-cell lung cancer through the Wnt/ β -catenin pathway. *J Transl Med*. 2019;17(1):143.
52. Li XL, Chen XQ, Zhang MN, Chen N, Nie L, Xu M, et al. SOX9 was involved in TKIs resistance in renal cell carcinoma via Raf/MEK/ERK signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(4):3871–81.

53. Gao Y, Yan Y, Guo J, Zhang Q, Bi D, Wang FEN, et al. HNF - 4 α downregulation promotes tumor migration and invasion by regulating E - cadherin in renal cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2019;42:1066–74.
54. Dang DT, Chen X, Feng J, Torbenson M, Dang LH, Yang VW. Overexpression of Krüppel-like factor 4 in the human colon cancer cell line RKO leads to reduced tumorigenicity. *Oncogene.* 2003;22(22):3424–30.
55. Joon B, Gu Y, Whie J, Jae C, Young S, Woo S, et al. Altered expression of the KLF4 in colorectal cancers. *Pathol Res Pract.* 2006;202:585–9.
56. Xiu DH, Chen Y, Liu L, Yang HS, Liu GF. Tumor-suppressive role of Kruppel-like factor 4 (KLF-4) in colorectal cancer. *Genet Mol Res.* 2017;16(1):1–10.
57. Wang N, Liu Z, Ding F, Wang X, Zhou C, Wu M, et al. Down-regulation of gut-enriched Krüppel-like factor expression in esophageal cancer. *World J Gastroenterol.* 2002;8(6):966–70.
58. Yang Y, Goldstein BG, Chao HH, Katz JP. KLF4 and KLF5 regulate proliferation, apoptosis and invasion in esophageal cancer cells. *Cancer Biol Ther.* 2005;4(11):1216–21.
59. Yang W, Zheng P. Krüppel-Like Factor 4 Functions as a Tumor Suppressor in Cervical Carcinoma. *Cancer.* 2012;3691–702.
60. Zhu Z, Yu Z, Wang J, Zhou L, Zhang J, Yao B, et al. Krüppel-Like Factor 4 Inhibits Pancreatic Cancer Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Metastasis by Down- Regulating Caveolin-1 Expression. *Cell Physiol Biochem.* 2018;46:238–52.
61. Ohnishi S, Ohnami S, Laub F, Aoki K, Suzuki K, Kanai Y, et al. Downregulation and growth inhibitory effect of epithelial-type Krüppel-like transcription factor KLF4, but not KLF5, in bladder cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;308:251–6.
62. Huang CC, Liu Z, Li X, Bailey SK, Nail CD, Wade K, et al. KLF4 and PCNA identify stages of tumor initiation in a conditional model of cutaneous squamous epithelial neoplasia. *Cancer Biol Ther.* 2005;4(12):1401–8.
63. K. Wade Foster, Andra R. Frost, Peggy McKie-Bell, Chin-Yu Lin, Jeffrey A. Engler, William E. Grizzle and JMR. Increase of GKLF Messenger RNA and Protein Expression during Progression of Breast Cancer. *Cancer Res.* 2000;60:6488–95.
64. Pandya AY, Talley LI, Frost AR, Fitzgerald TJ, Trivedi V, Chakravarthy M, et al. Nuclear Localization of KLF4 Is Associated with an Aggressive Phenotype in Early-Stage Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:2709–19.
65. Daoyan Wei, Masahsi Kanai, Zhiliang Jia, Xiangdong Le and KX. Krüppel-like Factor 4 Induces p27Kip1 Expression in and Suppresses the Growth and Metastasis of Human Pancreatic Cancer Cells. *Cancer Res.* 2008;68(12):4631–9.

66. Coqueret O. New roles for p21 and p27 cell-cycle inhibitors : a function for each cell compartment ? *Trends Cell Biol.* 2003;13(2):65–70.
67. Shie J, Chen ZY, Fu M, Pestell RG, Tseng C. Gut-enriched Krüppel-like factor represses cyclin D1 promoter activity through Sp1 motif. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(15):2969–76.
68. Yang HSY and VW. Requirement of Krüppel-like Factor 4 in Preventing Entry into Mitosis following DNA Damage. *J Biol Chem.* 2004;279(6):5035–41.
69. Xinming Chen, David C. Johns, Deborah E. Geiman, Eduardo Marban, Duyen T. Dang, Gina Hamlin, Ronggai Sun and VWY. Krüppel-like Factor 4 (Gut-enriched Krüppel-like Factor) Inhibits Cell Proliferation by Blocking G1/S Progression of the Cell Cycle. *J Biol Chem.* 2001;276(32):30423–8.
70. Wenxian Hu, Wayne L. Hofstetter, Hong Li, Yanbin Zhou, Yong He, Abujiang Pataer, Li Wang, Keping Xie SGS and BF. Putative Tumor-Suppressor Function of Krüppel-Like Factor 4 in Primary Lung Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2009;15(18):5688–95.
71. Wang J, Place RF, Huang V, Wang X, Noonan EJ, Magyar CE, et al. Prognostic value and function of KLF4 in prostate cancer: RNAa and vector-mediated overexpression identify KLF4 as an inhibitor of tumor cell growth and migration. *Cancer Res.* 2010;70(24):10182–91.
72. Song E, Ma X, Li H, Zhang P, Ni D, Chen W, et al. Attenuation of Krüppel-Like Factor 4 Facilitates Carcinogenesis by Inducing G1/S Phase Arrest in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *PLoS One.* 2013;8(7):1–11.
73. Li H, Wang J, Xiao W, Xia D, Lang B, Yu G, et al. Epigenetic alterations of Krüppel-like factor 4 and its tumor suppressor function in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis.* 2013;34(10):2262–70.
74. Globocan-Küresel Kanser İnsidansı Mortalite ve Prevalansı. Türkiye IARC Kanseri verileri. *World Heal Organ.* 2020;264:1–2.
75. Zaldumbide L, Erramuzpe A, Guarch R, Pulido R, Cortés JM, López JL. Snail heterogeneity in clear cell renal cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2016;16(194):1–8.
76. Andreiana BC., Stepan AE., Margaritescu C., Taisescu O., Osman A. SC. Snail and E-Cadherin Immunoexpression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Curr Heal Sci J.* 2019;45(2):185–9.
77. Zhang X, Yang M, Shi H, Hu J, Wang Y, Sun Z, et al. Reduced E-cadherin facilitates renal cell carcinoma progression by WNT/ β -catenin signaling activation. *Oncotarget.* 2017;8(12):19566–76.
78. Liu Y, Zhang C, Fan J, Xiao L, Yin B, Zhou L, et al. Comprehensive analysis of clinical significance of stem-cell related factors in renal cell cancer. *World J Surg Oncol.* 2011;9:121.
79. Langner C, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Zigeuner R. Expression of

- MUC1 (EMA) and E-cadherin in renal cell carcinoma : a systematic immunohistochemical analysis of 188 cases. *Mod Pathol.* 2004;17:180–8.
80. Spachmann PJ, Breyer J, Kalogirou C, Lausenmeyer EM, Weber F, Prohaska S, et al. Impact of e-cadherin and β -catenin as prognostic factor in renal cell carcinoma with tumor thrombus of the vena cava. *Urol Int.* 2019;102(4):413–20.
 81. Cai J. Roles of transcriptional factor Snail and adhesion factor E-cadherin in clear cell renal cell carcinoma. *Exp Ther Med.* 2013;6(6):1489–93.
 82. Santos JC, Carrasco-garcia E, Garcia-puga M, Aldaz P, Montes M, Fernandez-reyes M, et al. SOX9 Elevation Acts with Canonical WNT Signaling to Drive Gastric Cancer Progression. *Am Assoc Cancer Res.* 2016;76(22):6735–46.
 83. Guo X, Xiong L, Sun T, Peng R, Zou L, Zhu H, et al. Expression features of SOX9 associate with tumor progression and poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Diagn Pathol.* 2012;7(44):1–7.
 84. Richtig G, Aigelsreiter A, Schwarzenbacher D, Ress AL, Adiprasito JB, Stiegelbauer V, et al. SOX9 is a proliferation and stem cell factor in hepatocellular carcinoma and possess widespread prognostic significance in different cancer types. *PLoS One.* 2017;12(11):1–15.
 85. Burdelski C, Bujupi E, Tsourlakis MC, Hube-magg C, Graefen M, Heinzer H, et al. Loss of SOX9 Expression Is Associated with PSA Recurrence in ERG-Positive and PTEN Deleted Prostate Cancers. *PLoS One.* 2015;10(6):1–14.
 86. Coppin C, Kollmannsberger C, Le L, Porzsolt F, Wilt TJ. Targeted therapy for advanced renal cell cancer (RCC): a Cochrane systematic review of published randomised trials. *BJU International.* 2011;108:1556–63.
 87. Gerlinger M, Catto JW, Orntoft TF, Real FX, Zwarthoff EC, Swanton C. Intratumour Heterogeneity in Urologic Cancers : From Molecular Evidence to Clinical Implications. *Eur Urol.* 2015;67(4):729–37.
 88. Yori JL, Johnson E, Zhou G, Jain MK, Keri RA. Krüppel-like factor 4 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition through regulation of E-cadherin gene expression. *J Biol Chem.* 2010;285(22):16854–63.
 89. Wei D., Wang L., Kanai M., Jia Z., Le X., Li Q., Wang H. XK. KLF4 α Upregulation Promotes Cell Cycle Progression and Reduces Survival Time of Patients with Pancreatic Cancer. *Gastroenterology.* 2010;139(6):2135–45.
 90. Leng Z, Tao K, Xia Q, Tan J, Yue Z, Chen J, et al. Krüppel-Like Factor 4 Acts as an Oncogene in Colon Cancer Stem Cell-Enriched Spheroid Cells. *PLoS One.* 2013;8(2):e56082.
 91. Bubendorf L, Ruiz C, Zlobec I, Mengus C. Klf4 transcription factor is expressed in the cytoplasm of prostate cancer cells. *Eur J Cancer.* 2013;49:955–63.

92. Delahunt B., Bethwaite B. NJ. Outcome prediction for renal cell carcinoma : evaluation of prognostic factors for tumours divided according to histological subtype. *Pathology*. 2007;39(5):459–65.
93. Barroca H, Castedo S, Vieira J, Teixeira M, Müller-Höcker J. Altered expression of key cell cycle regulators in renal cell carcinoma associated with Xp11.2 translocation. *Pathol Res Pract*. 2009;205:466–72.
94. Weiss RH, Borowsky AD, Seligson D, Lin P, Dillard-telm L, Belldegrün AS, et al. p21 is a Prognostic Marker for Renal Cell Carcinoma : Implications for Novel Therapeutic Approaches. *The Journal of Urology*. 2007;177:63–9.
95. López CM, Esteban E, Berros JP, Pardo P, Astudillo A, Izquierdo M, et al. Prognostic Factors in Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma. *Clin Genitourin Cancer*. 2012;10(4):262–70.
96. Huang J, Guo L. Knockdown of SOX9 Inhibits the Proliferation , Invasion , and EMT in Thyroid Cancer Cells. *Oncol Res*. 2017;25:167–76.