

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA
HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 EKSPRESYONLARININ ANALİZİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HATİCE KUZULAR

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR. NİLAY ŞEN TÜRK

DENİZLİ – 2019

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOMLARDA
HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 EKSPRESYONLARININ ANALİZİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HATİCE KUZULAR

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR. NİLAY ŞEN TÜRK

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 16.10.2018 tarih ve 53250830-604.01.01/ sayılı kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2019

Prof.Dr. Nilay ŞEN TRK danıŐmanlıęında Dr. Hatice KUZULAR tarafından yapılan "Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinomlarda HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1 ve PD-L1 Ekspresyonlarının Analizi" baŐlıklı tez çalışması 26/08/2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŐKAN

Prof. Dr. Neğihan YALÇIN

ÜYE

Prof. Dr. Nil GLHAŐI

ÜYE

Prof. Dr. Nilay ŞEN TRK

Yukarıdaki imzaların adı geçen ğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

26/08/2019

T.C.

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANI

Prof. Dr. Osman GİFTÇİ

III

III

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocalarım başta tez danışmanım Prof. Dr. Nilay ŞEN TÖRK olmak üzere, Prof. Dr. Neőe ÇALLI DEMİRKAN, Prof. Dr. Nagihan YALÇIN, Prof. Dr. Ferda BİR, Yrd. Doç. Dr. Yeliz ARMAN KARAKAYA, Yrd. Doç. Dr. Emel KILIÇARSLAN'a, istatistiksel analiz konusundaki yardımları için Hande ŐENOL'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, tezimin teknik kısmında büyük katkıları olan laboratuvar personeline, sekreter arkadaşlara ve tüm bölüm çalışanlarına, bugünlere gelmemde bana her zaman destek olan aileme teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
RESİMLER DİZİNİ	XI
TABLOLAR DİZİNİ.....	XII
ÖZET.....	XIII
ABSTRACT	XV
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. BÖBREK.....	3
2.1.1. Embriyoloji.....	3
2.1.2. Anatomi.....	4
2.1.3. Histoloji.....	6
2.2. RENAL HÜCRELİ KARSİNOM	7
2.2.1. Epidemiyoloji	8
2.2.2. Etiyoloji.....	9
2.2.4. Derecelendirme	12
2.2.5. Evrelendirme.....	13
2.3. BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOM	15
2.3.1. Klinik Özellikler.....	15
2.3.2. Etiyolojik Faktörler	15

2.3.3. Lokalizasyon.....	16
2.3.4. Makroskopik Özellikler	16
2.3.5. Mikroskopik Özellikler	16
2.3.6. İmmüfenotip.....	18
2.3.7. Genetik Özellikler	19
2.3.8. Ayırıcı Tanı.....	20
2.3.9. Prognostik Faktörler ve Tedavi.....	22
2.4. TÜMÖROGENEZDE HİPOKSİNİN ÖNEMİ.....	23
2.5. İMMÜN SİSTEMİN ANTİTÜMÖRAL FONKSİYONU.....	27
2.5.1. Tümörün immün sistemden kaçış mekanizmaları	28
GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	34
BULGULAR.....	35
4.1. KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR.....	35
4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR.....	38
4.3. PATOLOJİK EVRE İLE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	42
4.4. PATOLOJİK EVRE İLE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	44
4.5. NÜKLEER DERECE İLE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	45
4.6. NÜKLEER DERECE İLE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	47
4.7. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER İLE DİĞER KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	48
4.8. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	54
4.9. SAĞKALIM ANALİZİ.....	56

4.9.1. Klinikopatolojik Parametreler ile Sağkalım İlişkisi.....	57
4.9.2. İmmünohistokimyasal Belirteçler ile Sağkalım İlişkisi.....	60
TARTIŞMA	64
SONUÇLAR	81
KAYNAKLAR	86



KISALTMALAR

AJCC	: <i>American Joint Committee on Cancer</i>
BHP-RHK	: Berrak hücreli papiller Renal Hücreli Karsinom
BHRHK	: Berrak hücreli Renal Hücreli Karsinom
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EPAS-1	: Endotelyal PAS domain protein-1
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
H&E	: Hematoksilen Eozin
HIF	: Hipoksi-indüklenebilir faktör
HIF-1α	: Hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α
HIF-2α	: Hipoksi-indüklenebilir faktör-2 α
HIF-β	: Hipoksi-indüklenebilir faktör- β
HRE	: Hipoksiye yanıt veren element
IARC	: <i>International Agency for Research on Cancer</i>
ISUP	: <i>International Society of Urological Pathology</i>
İTH	: İntratümöral heterojenite
KHDAK	: Küçük Hücreli dışı akciğer karsinomu
KRHK	: Kromofob Renal Hücreli Karsinom
MVİ	: Mikrovasküler İnvazyon

NK hücreler	: Doğal öldürücü hücreler
OS	: Genel sağkalım
PD-1	: Programlanmış ölüm antijeni-1
PD-L1	: Programlanmış ölüm antijen ligandı-1
PFS	: Progresyonsuz sağkalım
PHD	: Prolil-4-hidroksilaz
PRYDİ	: Perirenal yağ doku invazyonu
PRHK	: Papiller Renal Hücreli Karsinom
pVHL	: Von Hippel Lindau proteini
RHK	: Renal Hücreli Karsinom
RKİ	: Renal kapsül invazyonu
RPİ	: Renal pelvis invazyonu
RSİ	: Renal sinüs invazyonu
VHL	: Von Hippel Lindau
TİL	: Tümörü infiltre eden lenfosit
TNM	: Tümör, lenf nodu, metastaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Hipoksi-indüklenebilir faktör yolağı A) Oksijen varlığında, HIF- α 'nın yıkımı; B) Hipoksi durumunda ve C) pVHL'nin defektif olduğu durumda HIF- α 'nın hücrede birikmesi ve nükleusa transloke olarak HIF- β ile dimerizasyonu	25
Şekil 2. Programlanmış ölüm antijeni-1/Programlanmış ölüm antijen ligandı-1 yolağı	30
Şekil 3. HIF-2 α ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi	61
Şekil 4. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile sağkalım ilişkisi (Eşik değer: %1); A) PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım ilişkisi; B) PD-1 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi.....	62

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1. Berrak hücreli renal hücreli karsinom. Zengin kapiller ağ ve yoğun lenfosit infiltrasyonunun izlendiği asiner büyüme paterni gösteren berrak sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu tümöral proliferasyon (H&E x100).....	18
Resim 2. Tümör hücrelerinde HIF-1 α ile membranöz ve sitoplazmik ekspresyon A) (+++) HIF-1 α ekspresyonu (x200); B) (++) HIF-1 α ekspresyonu (x200); C) (+) HIF-1 α ekspresyonu (x200).....	39
Resim 3. Tümör hücrelerinde HIF-2 α ile nükleer ekspresyon A) (+++) HIF-2 α ekspresyonu (x200); B) (++) HIF-2 α ekspresyonu (x200); C) (+) HIF-2 α ekspresyonu (x200).....	39
Resim 4. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ile membranöz ekspresyon A) (+++) PD-1 ekspresyonu (x400); B) (+) PD-1 ekspresyonu (x400).....	39
Resim 5. Tümör hücrelerinde PD-L1 ile membranöz ekspresyon (x200).....	40
Resim 6. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ile sitoplazmik granüler ekspresyon A) (+++) PD-L1 ekspresyonu (x400);B) (+) PD-L1 ekspresyonu (x200).....	40

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Böbrek tümörlerinin 2016 Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması	9
Tablo 2. Sendromlar ve eşlik eden böbrek tümörleri	11
Tablo 3. Fuhrman derecelendirme sistemi	12
Tablo 4. DSÖ /ISUP derecelendirme sistemi	13
Tablo 5. Renal hücreli karsinomların 2010 TNM sınıflaması.....	14
Tablo 6. Renal hücreli karsinomlarda klinik evreleme	14
Tablo 7. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri.....	32
Tablo 8. Çalışmaya dahil edilen olgulara ait klinikopatolojik parametreler	37
Tablo 9. İmmünohistokimyasal belirteçlerin ekspresyon durumları.....	41
Tablo 10. Patolojik evre ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki	44
Tablo 11. Nükleer derece ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki	47
Tablo 12. HIF-2 α ekspresyonu ile tümör çapı ilişkisi	49
Tablo 13. HIF-2 α ekspresyonu ile nekroz ilişkisi	49
Tablo 14. HIF-2 α ekspresyonu ile progresyon ilişkisi	50
Tablo 15. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile nekroz ilişkisi (Eşik değer: %1)	50
Tablo 16. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile MVI ilişkisi (Eşik değer: %1)	51
Tablo 17. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile lokal rekürrens ilişkisi (Eşik değer: %1)51	51
Tablo 18. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi (Eşik değer: %1) 52	52
Tablo 19. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile progresyon ilişkisi (Eşik değer: %1).....	52
Tablo 20. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör çapı ilişkisi (Eşik değer: %1) ...	53
Tablo 21. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile PRYDİ ilişkisi (Eşik değer: %5)	54
Tablo 22. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile lokal rekürrens ilişkisi (Eşik değer: %5)	54
Tablo 23. HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasındaki ilişki.....	55
Tablo 24. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile TİL'lerde PD-L1 ekspresyon ilişkisi.....	56
Tablo 25. Genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki	60
Tablo 26. Genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile immünohistokimyasal belirteçler arasındaki ilişki	63

ÖZET

Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinomlarda HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 Ekspresyonlarının Analizi

Dr. Hatice KUZULAR

RHK (Renal hücreli karsinom)'lar, erkeklerde 9. sırada, kadınlarda 14. sırada en yaygın kanser türüdür. Son yıllarda, özellikle 5 yıllık yaşamın artması, tanısal tekniklerin gelişmesi ve tümörün erken dönemde saptanabilmesine bağlı olarak birçok ülkede insidansı artmıştır. Erken tanı şansı artmış olmasına rağmen, RHK'lu hastaların %30'undan fazlasında metastaz izlenmektedir. RHK, dünya çapında kanserden ölümün en sık 6. nedenidir ve son yıllarda mortalite oranları giderek artmaktadır. RHK'ların en sık görülen alt tipi olan berrak hücreli RHK (BHRHK)'larda lokal ileri ve metastatik hastalık için mevcut standart tedavilerdeki kısıtlılıklar nedeniyle 5 yıllık sağkalım lokal ileri olgularda %67'ye, metastatik olgularda %12'ye kadar düşmektedir. BHRHK'ların büyük çoğunluğunda lenfositler başta olmak üzere immün hücre infiltrasyonu mevcuttur. Son yıllarda immün kontrol noktası inhibitörlerine karşı artan ilgi nedeniyle, BHRHK'larda immün hücre infiltrasyonu daha da önem kazanmıştır. BHRHK'larda yüksek nükleer derece ve ileri evre ile yoğun T lenfosit infiltrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. Hipoksi ve HIF (Hipoksi-indüklenebilir faktör)'lerin kanser hücrelerinin bir kısmında kök hücre benzeri özellikleri düzenlediği ve daha agresif hale getirdiği açıktır. Ancak hipoksi, hücre proliferasyonunun azalması, hücre döngüsünün durması ve/veya apoptoz ile de sonuçlanabilir. HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın prognoza olan etkilerini araştıran çok sayıda çalışma yapılmış olup çalışmalar arasında çelişkiler mevcuttur.

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2011- Aralık 2017 yılları arasında radikal nefrektomi ve parsiyel nefrektomi materyallerinde raporlanan ve ilk kez BHRHK tanısı alan 103 olgu dahil edildi. Bu olgulara ait klinikopatolojik parametreler, sağkalım parametreleri ve HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 ekspresyonları arasındaki ilişki incelendi.

Çalışmamızda, tümör çapı, patolojik evre, nükleer derece, nekroz, perirenal yağ doku invazyonu, renal sinüs invazyonu, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptandı (Log Rank $p < 0,05$). HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon izlendi ($p=0,003$). Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($p=0,002$). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda tümör çapının daha küçük olduğu, nekroz ve progresyon görülme oranının daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Eşik değer olarak %1 temel alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda nekroz, mikrovasküler invazyon, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon görülme oranının daha yüksek olduğu, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süresinin daha kısa olduğu saptandı (Log Rank $p < 0,05$). Eşik değer olarak %1 temel alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda tümör çapının daha küçük olduğu izlendi ($p=0,040$).

Sonuç olarak, çalışmamızda BHRHK'larda TİL'lerde PD-1 ekspresyon varlığının kötü prognostik faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündük.

Anahtar kelimeler: Renal hücreli karsinom, hipoksi, tümör infiltrat lenfosit, PD-1, PD-L1

ABSTRACT

Analysis of HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 Expressions in Clear Cell Renal Cell Carcinomas

Dr. Hatice KUZULAR

RCCs (Renal cell carcinomas) are the most common type of cancer in males 9th and females 14th. In recent years, the incidence has increased in many countries especially due to the increase in 5-year life, the development of diagnostic techniques and early detection of the tumor. Although the chance of early diagnosis is increased, metastasis is observed in more than 30% of patients with RCC. RCC is the 6th most common cause of cancer death worldwide and mortality rates have been increasing in recent years. Due to limitations of the standard treatments available for locally advanced and metastatic disease in clear cell RCCs (ccRCCs), the most common subtype of RCCs, 5-year survival decreases to 67% in locally advanced cases and up to 12% in metastatic cases. The majority of ccRCCs have immune cell infiltration, especially lymphocytes. The majority of ccRCCs have immune cell infiltration, especially lymphocytes. Due to the increasing interest in immune control point inhibitors in recent years, immune cell infiltration in ccRCCs has become even more important. A positive correlation between high nuclear grade and advanced stage and intense T lymphocyte infiltration has been reported in ccRCCs. It is clear that hypoxia and HIFs (Hypoxia inducible factors) regulate stem cell-like properties in some of the cancer cells and make them more aggressive. However, hypoxia may also result in decreased cell proliferation, cell cycle arrest and/or apoptosis. There are many studies investigating the effects of HIF-1 α and HIF-2 α on prognosis and there are contradictions between these studies.

Our study included 103 patients who were first diagnosed with ccRCC in radical nephrectomy and partial nephrectomy materials between January 2011 and December 2017 at Pamukkale University Faculty of Medicine Pathology Department. The relationship between clinicopathological parameters, survival

parameters and HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 expressions of these cases were examined.

In our study, a significant correlation was found between survival and tumor size, pathological stage, nuclear grade, necrosis, perirenal adipose tissue invasion, renal sinus invasion, local recurrence, distant metastasis, progression ($p < 0,005$). There was a positive correlation between HIF-1 α and HIF-2 α expression ($p = 0,003$). When the threshold value was taken as 1%, there was a positive correlation between PD-1 expression in TILs (Tumor infiltrating lymphocytes) and PD-L1 expression in TILs. It was detected that tumor diameter was smaller and necrosis and progression rates were lower in patients with high HIF-2 α expression. When the threshold value was taken as 1%, it was detected that necrosis, microvascular invasion, local recurrence, distant metastasis, progression rates were found to be higher, and overall survival and progression-free survival were shorter in patients with PD-1 expression in TILs. When the threshold value was taken as 1%, the tumor diameter was smaller in patients with PD-L1 expression in TILs.

In conclusion, in our study, we thought that the presence of PD-1 expression in TILs in ccRCCs may be associated with poor prognostic factors.

Key words: Renal cell carcinoma, hypoxia, tumor infiltrating lymphocyte, PD-1, PD-L1

GİRİŞ

Renal hücreli karsinom (RHK) erişkinlerdeki tüm malign tümörlerin %2-3'ünü oluşturmaktadır (1). RHK, dünya çapında 300.000'e yakın insanı etkilemekte ve her yıl yaklaşık 100.000'e yakın ölüm görülmektedir (2,3). RHK, tüm böbrek tümörlerinin %90'dan fazlasını oluşturmakta olup, renal tübül epitel hücrelerinden ortaya çıkan heterojen bir tümör grubudur. En yaygın alt tipleri berrak hücreli tip, papiller ve kromofob tiptir (4). Tüm olguların yaklaşık %65-70'ini oluşturan en yaygın tipi berrak hücreli tiptir. Genellikle insidental olarak ortaya çıkmakta olup, klinik olarak en yaygın görülen semptom hematüri ve yan ağrısıdır (5). RHK'lu olgularda genel olarak 5 yıllık sağkalım %80'in üzerinde olmakla birlikte olguların yaklaşık %30'unda tanı anında metastaz mevcuttur ve bu olgularda 5 yıllık sağkalım oranı %8'in altına inmektedir (6).

Tek bir tümörde birden fazla gende çoklu bağımsız inaktive edici mutasyon izlenmesi tümör heterojenitesi olarak bahsedilmektedir. Heterojenite sergileyen tümörlerin tipik bir örneği olan berrak hücreli renal hücreli karsinom (BHRHK)'un tedavi yanıtını etkileyen farklı moleküler profillere sahip agresif bir neoplazm olduğu bilinmektedir. Genetik olarak heterojenitenin varlığı, renal kanserlere karşı etkili onkolojik tedavilerin geliştirilmesine yönelik önemli bir engel olarak görülmektedir (7). Ayrıca tedaviye dirençli malignitelerden biri olarak bilinen RHK'un hormonal tedavi, kemoterapi ve radyoterapiye yanıtı azdır, bazı olgularda hiç yanıt vermez (8). Bu durum araştırmacıların yeni immünoterapötik stratejilere odaklanmalarına neden olmuştur (9). Son yıllarda yapılan çalışmalarla RHK'un patogenezinde önemli moleküler belirteçlerin varlığı anlaşılmış ve özellikle metastatik hastalık için farklı tedavi yaklaşımları sunulmuş, bazıları ise deneysel aşamadadır (10). Ayrıca spesifik moleküler biyobelirteçlerin prognozunu daha iyi tahmininde de ek bilgi sağlayacağı düşünülmektedir (11).

Hipoksi ile ilgili yolların mekanizmasını ve histopatolojik parametrelerle ilişkisini net olarak açığa kavuşturmak ve yeni tedavi modaliteleri oluşturmak, hastanın prognozunu iyileştirmenin yanı sıra, tümörlerin büyümesini ve metastazını önlemede veya azaltmada etkili bir yaklaşım olabilir. Ayrıca bağışıklık sisteminin

antitümör aktivitesinden yola çıkarak, immünoterapi ile tümör hücrelerinin sistemik ve seçici bir şekilde yok edilmesinin etkili bir tedavi stratejisi olabileceği düşünülmektedir (12).

Bu çalışmada amacımız, tedavi ve prognoza ışık tutması açısından BHRHK tanılı olgularda immunhistokimyasal yöntem ile hipoksi-indüklenebilir faktör (HIF) ailesinden olan hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α), hipoksi-indüklenebilir faktör-2 α (HIF-2 α) ve immün yanıtın homeostazında görevli programlanmış ölüm antijeni-1 (PD-1) ve programlanmış ölüm antijen ligandı-1 (PD-L1)'in ekspresyon durumlarını araştırarak, bu belirteçlerin histopatolojik parametrelerle ilişkisini ve prognoza ve sağkalıma katkılarını incelemektir. Literatürde BHRHK olgularında HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1 ve PD-L1 ekspresyonlarının immunhistokimyasal yöntemlerle eş zamanlı araştırıldığı, bu dört antikorun birbiri ile ilişkisinin ve ekspresyonlarının BHRHK'da prognostik önemine yönelik kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK

2.1.1. Embriyoloji

Organogenez, insanda embriyogenezin üçüncü haftasında santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sistemin gelişimiyle başlar. Ürogenital sistem, insan embriyogenezinde en son gelişen organ sistemidir (13). Embriyolojik ve anatomik olarak üriner ve genital sistem, gelişimin özellikle erken döneminde birbiriyle çok yakın ilişki içerisinde. Her iki sistem, posterior abdominal duvar boyunca ortak bir mezodermden gelişir. Başlangıçta ikisi de kloakaya açılır. Böbrekler kraniokaudal yönde gelişimini devam ettirir (14).

Ürogenital sistem, gelişimini pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olmak üzere üç aşamada tamamlar. Her üç aşama, dorsal somitler ve lateral plaka mezodermi arasında bulunan ve embriyonun servikalden kaudal bölgelerine uzanan ara mezodermden gelişir (15).

Pronefroz ve mezonefroz memelilerde geçici yapılardır. Bununla birlikte, her üç aşama da önceki yapının varlığına bağlı olarak bir sonraki organın oluşumu için temel oluşturur. Mezonefroz, pronefroz gerilemeden önce oluşur ve metanefroz, mezonefroz kaybolmadan önce gelişir. Bu gelişim aşaması, ara mezoderm boyunca servikalden kaudale doğru hareket eden bir nefrogenez dalgasına benzetilebilir (15).

2.1.1.1. Pronefroz:

Pronefroz, embriyogenezin dördüncü haftasının başında, servikal bölgede nefrojenik kordun kranial kısmında glomus (glomerül benzeri yapı), tübüller ve duktustan oluşan ve fonksiyonu olmayan rudimenter bir organdır. Dördüncü haftanın sonunda glomus ve tübüller dejenere olurken pronefrik duktus kaudale doğru ilerler ve mezonefrik duktusu oluşturur (15).

2.1.1.2. Mezonefroz:

Mezonefroz, dördüncü haftanın sonuna doğru kaudal kısımda pronefrik duktusların gerilemeye başlamasıyla üst torasik ve lomber segmentlerin ara mezoderminden gelişir (13,16). Mezonefrik böbrek, kalıcı böbrekler oluşana kadar ara böbrek görevi görür (16).

2.1.1.3. Metanefroz

Metanefroz (kalıcı böbrek), 5. haftanın başında gelişmeye başlar (14,16,17) ve ortalama 4 hafta sonra fonksiyonel hale gelir (16). Genel olarak mezodermal kökenli olan metanefrik divertikül (üreter tomurcuğu) ve metanefrik blastem olmak üzere iki kaynaktan gelişir (16). Üreter tomurcuğundan renal pelvis, kaliksler ve toplayıcı tübüller; metanefrik blastemden ise glomerül, proksimal tübül, distal tübül ve Henle kulbu oluşur (15).

2.1.2. Anatomi

2.1.2.1. Eksternal Anatomi

Sol böbrek yaklaşık T12 ile L3 vertebra seviyesinde bulunur, sağ böbrek ise karaciğer nedeniyle sola göre hafif daha aşağı seviyededir. Böbreklerin üst kısımları, 11. ve 12. kostalar tarafından daha korunaklı bir bölgededir (18).

Böbreklerin her biri erkeklerde yaklaşık 125-175 gr, kadınlarda ise 115-155 gr ağırlığındadır. Ortalama 11-14 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde ve 4 cm kalınlığındadır. Yoğun bağ dokusundan oluşan lifli bir kapsül ile çevrilidir. Bu kapsül, perirenal yağ doku adı verilen bir adipöz doku tabakası ile kaplıdır. Fasya ve periton yardımıyla böbrekler arka karın duvarında retroperitoneal pozisyonda yerleşim gösterir (18).

2.1.2.2. İnternal Anatomi

Böbrek parankimi, renal korteks ve medulla olmak üzere iki bölgeden oluşmaktadır. Böbrek parankimi dışında renal pelvis, renal sinüs, arter, ven ve lenfatikler bulunur (15).

Korteks, 1,2-1,5 cm kalınlığındadır ve medulla arasına girerek Bertini kolonlarını meydana getirir (19). Bertini kolonları, korteksten aşağı doğru medulla boyunca uzanan bağ dokusu uzantılarıdır (18).

Medulla, iç kısımda yer alır ve konik ya da piramit şeklindedir. İç ve dış olmak üzere iki bölüme ayrılır. Piramidin tabanını dış medulla, tepesini iç medulla oluşturur. İç medulla, böbrek papillasından oluşur ve papillanın tepesi pelvikaliksiyel sistem içine uzanmaktadır (19). Papilla, nefronlarda oluşan idrarı, atılmak üzere böbrek kalikslerine taşıyan toplayıcı duktus demetidir. Bir böbrek, her biri Bertini kolonları ile ayrılan ortalama 8-11 adet papilla içerir. Bir piramit ve Bertini kolonu birlikte bir böbrek lobunu oluşturur ve bir insan böbreğinde ortalama 14 lob bulunmaktadır (15).

Renal pelvis, proksimal üreterin kese şeklinde genişlemiş kısmıdır ve majör ve minör kalikslerden oluşur. İki ya da üç majör kaliks, papillaların açıldığı minör kalikslere dallanır. Böbrek hilusu, damarlar, sinirler, lenfatikler ve üreterlerin giriş yeridir (15).

Renal sinüs, yağ doku ile doludur ve perirenal yağ dokusu olarak devam eder. Böbreği besleyen büyük arter ve venler, lenfatik damarlar ve nöral yapıları içerir (15).

Ana renal arterin anterior ve posterior bölümlerinden köken alan segmental arterler hilustan Bertini kolonları boyunca kortekse doğru ilerleyen interlobar arterleri oluşturmak için dallara ayrılır. İnterlobar arterler, kortikomedüller kavşakta, böbrek yüzeyine paralel piramidlerin tabanı boyunca kavisli bir seyir izleyen arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterden korteks içinde renal yüzeye doğru radyal bir şekilde yükselen interlobüler arterler dallanır (15).

Çıkan vasa rekta medullayı drene eder ve interlobüler venlere boşalır. İnterlobüler venler ise korteksi drene eder ve arkuat venlere boşalır. Arkuat venlerde toplanan kan, böbrek hilusundan tek bir damar olarak çıkan renal veni oluşturmak üzere birleşerek interlobar venlere boşalır (20).

Böbreğin lenfatik damarları, korteksteeki gevşek periarteryal bağ dokusuna gömülüdür. Lenfatikler, interlobüler arterlerin çevresindeki küçük damarlardan orijin alır ve renal hilusta daha büyük lenf damarlarına drene olan arkuat ve interlobar lenfatiklerine boşalır (15).

Böbrek, esas olarak çölyak pleksusundan köken alan adrenerjik lifler ile innerve edilir. Sinir lifleri genellikle korteks ve dış medulladaki arter ve arteriyollere eşlik eder (15).

2.1.3. Histoloji

Böbreğin en küçük anatomik ve fonksiyonel ünitesi nefrondur. Her iki böbrekte yaklaşık 2,4 milyon civarında nefron bulunmaktadır. Nefronların %85'i kortikal yerleşimli, %15'i jukstamedüller yerleşimlidir (21). Nefron, glomerül ve tübüllerden oluşur. Glomerül; kapillerler, mezengium ve Bowman kapsülünün visseral yaprağını oluşturan podositler olmak üzere üç ana bileşenden meydana gelir (15).

- **Glomerüller kapillerler;** ince fenestreli endotelial epitelle döşeli damar yapılarıdır.

- **Mezengium;** kapiller endotel ve glomerül bazal membranı arasında yerleşim gösteren mezengial hücreler ve bu hücreleri çevreleyen matriksten oluşan bağ dokudur.

- **Bowman kapsülü;** paryetal ve visseral olmak üzere iki tabakalı epitelle döşelidir ve bu iki tabaka arasında, kapiller duvardan geçerek visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunur (21).

Böbrek interstisyumu, sülfatlı ve sülfatsız glukozaminoglikanlar ve interstisyel hücreleri içeren bir ekstrasellüler matriksten oluşur. Korteksi oluşturan interstisyel hacim %5-20 arasında değişmekte olup, ortalama %12'dir. İnterstisyumda tip I ve III kollajen ve bronektin mevcuttur. İki tip kortikal interstisyel hücre tanımlanmıştır: Fibroblast benzeri hücreler ve lenfosit benzeri hücreler (15).

Medullayı oluşturan interstisyel hücreler, lenfosit benzeri hücreler, inen vaza rekta yakınında yer alan perisitler ve esas olarak iç medullada yerleşim gösteren belirgin lipid içeren hücrelerdir. Medulla, lipid damlacıkları, araşidonik asit, fosfolipitler ve kolesterol de dahil olmak üzere doymamış yağ asitleri bakımından zengin trigliseritleri içerir (15). Medullar interstisyel hücrelerin ekstrasellüler matriks sentezine ek olarak, medullanın endokrinel antihipertansif fonksiyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (22).

Böbrek korteksi, kortikal labirent ve medullar ışınlar olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Kortikal labirent, medullar ışınları çevreleyen kesintisiz bir parankimal bölgeyi temsil eder. Kortikal labirentte glomerüller, proksimal ve distal kıvrımlı tübüller, interlobuler damarlar ve zengin bir kılcal ağ bulunur. Buradaki tübüllerin çoğu proksimal tübüllerdir. Medullar ışınlar ise medullaya giren proksimal ve distal düz tübüller ve toplayıcı duktusları içerir (15).

Medullada glomerül yoktur. Dış medulla, proksimal düz tübüller ve toplayıcı duktusların uç kısımlarını içerir. İç medullada Henle kulpunun inen ince kısmı ve toplayıcı duktuslar bulunur (15).

2.2. RENAL HÜCRELİ KARSİNOM

Böbrek tümörlerinin çoğunluğu epitelyal kökenlidir ve malign davranış gösterir. Önceleri bu tümörlerin böbrekteki adrenal artıklardan geliştiği düşünülerek "hipernefroma" ismi verilmiş olup; 1959 yılında Oberling ve ark.'ları bu tümörlerin doğrudan böbrek hücrelerinden köken aldığını kanıtlamışlardır (23). RHK, tüm böbrek tümörlerinin %90'dan fazlasını oluşturmaktadır olup, renal tübül epitel hücrelerinden ortaya çıkan heterojen bir tümör grubudur (4). BHRHK, tüm böbrek

tümörlerinin yaklaşık %65-70'ini oluşturan en yaygın RHK alt tipidir. RHK'un diğer sık görülen alt tipleri papiller tip RHK (PRHK) ve kromofob tip RHK (KHRHK)'dur (4,5).

2.2.1. Epidemiyoloji

Böbrek tümörlerinin yaklaşık %90-95'ini oluşturan, en yaygın tipi RHK'dur. RHK'lar erişkinlerde tüm malignitelerin yaklaşık %2-3'ünü oluşturmaktadır (24). Erkeklerde kadınlara göre görülme sıklığı iki kat fazladır (E/K:2/1) (5). Her yaşta görülebilmekle birlikte 6. ve 7. dekatta pik yapar, 45 yaşından gençlerde daha nadir görülür (25).

RHK'lar, erkeklerde 9. sırada, kadınlarda ise 14. sırada en yaygın kanser türüdür. Son yıllarda, özellikle 5 yıllık yaşamın artması, tanısal tekniklerin gelişmesi ve tümörün erken dönemde saptanabilmesine bağlı olarak birçok ülkede insidansı artmıştır. Erken tanı şansı artmış olmasına rağmen, RHK'lu hastaların %30'undan fazlasında metastaz görülür. RHK, dünya çapında kanserden ölümün en sık 6. nedenidir ve son yıllarda mortalite oranları giderek artmaktadır (5,25,26). Dünya genelinde yıllık 100.000'den fazla ölüme neden olmaktadır (25). Ölüm oranları, sosyoekonomik düzeyi orta ve düşük ülkelere göre daha yüksektir (5).

Günümüze kadar böbrek tümörleri ile ilgili çok sayıda sınıflandırma yapılmış olup en güncel olan sınıflama sistemi, 2016 DSÖ sınıflamasıdır (Tablo 1).

Tablo 1. Böbrek tümörlerinin 2016 Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması

Renal hücreli tümörler	İnfanların ossifiyan renal tümörü
Berrak hücreli renal hücreli karsinom	Başlıca erişkinlerde görülen mezenkimal tümörler
Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm	Leiomyosarkom
Papiller renal hücreli karsinom	Anjiosarkom
Hereditör leiomyomatozis ve renal hücreli karsinoma-ilişkili renal hücreli karsinom	Rabdomiyosarkom
Kromofob renal hücreli karsinom	Osteosarkom
Toplayıcı duktus karsinomu	Sinoviyal sarkom
Renal medüller karsinom	Ewing sarkomu
MİT ailesi translokasyon karsinomu	Anjiomyolipom
Süksinat dehidrogenaz mutasyonu ile ilişkili renal hücreli karsinom	Epitelioid anjiomyolipom
Müsinöz tübüler ve iğsi hücreli karsinom	Leiomyom
Tübülökistik renal hücreli karsinom	Hemanjiom
Edinsel kistik hastalık ilişkili renal hücreli karsinom	Lenfanjiom
Berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom	Hemanjioblastom
Renal hücreli karsinom, sınıflandırılmayan	Jukstaglomerüler hücreli tümör
Papiller adenom	Renomedüller interstisyel hücreli tümör
Onkositom	Schwannom
Metanefrik tümörler	Soliter fibröz tümör
Metanefrik adenom	Mikst epitelyal ve stromal tümör ailesi
Metanefrik adenofibrom	Erişkin kistik nefroma
Metanefrik stromal tümör	Mikst epitelyal ve stromal tümör
Başlıca çocuklarda görülen nefroblastik ve kistik tümörler	Nöroendokrin tümörler
Nefrojenik kalıntılar	İyi diferansiye nöroendokrin tümör
Nefroblastom	Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
Kistik parsiyel diferansiye nefroblastom	Küçük hücreli nöroendokrin karsinom
Pediyatrik kistik nefrom	Paraganglioma
Mezenkimal tümörler	Çeşitli tümörler
Başlıca çocuklarda görülen mezenkimal tümörler	Renal hematopoetik neoplazmlar
Berrak hücreli sarkom	Germ hücreli tümörler
Rabdooid tümör	Metastatik tümörler
Konjenital mezoblastik nefroma	

2.2.2. Etiyoloji

RHK'un patofizyolojisine etki eden çok sayıda risk faktörü bulunmaktadır. Bu faktörler hem edinsel hem genetik risk faktörleridir. En sık edinsel risk faktörleri

arasında obezite, sigara, hipertansiyon, diabet, edinsel kistik böbrek hastalığı, kimyasal maruziyet ve kronik analjezik kullanımı yer almaktadır (5,27).

Obezite, hem kadın hem erkekler için risk faktörüdür. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da tüm renal kanserlerin %40'ının nedeni olduğu bilinmektedir. Mekanizma net olarak bilinmemekle birlikte, seks steroid hormonlarının doğrudan endokrin reseptör aracılı etkileri ile böbrek hücrelerinin proliferasyonunu etkilediği düşünülmektedir (5).

Sigaranın böbrek kanseri için orta derecede risk faktörü olduğu, sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında sigara içenlerde riskin 1,2-2,3 kat arttığı bildirilmiştir. Risk oranının doza bağlı olarak arttığı, ağır sigara içicilerinde risk oranının 2-3 kat arasında değiştiği ve sigarayı bırakanlarda böbrek kanseri riskinin azaldığı gösterilmiştir. Böbrek kanseri tanısı almış erkek hastaların %27-37'sinde, kadın hastaların %10-24'ünde sigaranın sorumlu olduğu belirtilmiştir (5,28,29).

Hipertansiyon da önemli bir risk faktörüdür (5). Hipertansiyonun RHK riskini arttırdığı, kan basıncındaki azalmanın ise riski azalttığı gösterilmiştir (30,31). Ayrıca bazı çalışmalarda, diüretikler ve diğer antihipertansif ilaç kullanımının da RHK riskini arttırdığı izlenmiş ancak neden olduğu mekanizma net olarak belirlenememiştir (32).

Diabet için risk oluşturan bazı faktörlerin kansere karşı duyarlılığı arttırdığı düşünülmektedir. Diabet ve RHK arasındaki ilişkiye odaklanan, diabet hastalarında kanser morbidite ve mortalitesinin arttığını gösteren çok sayıda epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Diabetli hastalarda genel popülasyona kıyasla RHK'a bağlı morbidite ve mortalitede artış izlenmiştir (33). Amerika Birleşik Devletleri'nde 32 yıllık takiple yapılan bir çalışmada, tip 2 diabetin kadınlarda bağımsız olarak artmış RHK riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (34).

Edinsel kistik böbrek hastalığı, genellikle son dönem böbrek hastalığı nedeniyle uzun süre hemodiyaliz tedavisi alan hastalarda gelişmektedir. Böbrek kanseri insidansı son dönem böbrek hastalarında belirgin olarak artış göstermektedir. Son dönem böbrek hastalığı zemininde gelişen böbrek kanserleri, klasik böbrek

kanserinden farklı spesifik karakteristik özellikler taşır. PRHK, bu hastalarda en sık ortaya çıkan kanser alt tipi olmakla birlikte, diğer RHK alt tipleri de gelişebilmektedir (5).

Asbest, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik çözücüler ve petrol ürünlerine maruziyetin RHK gelişme riskini arttırdığı bildirilmiştir (35). RHK riski ile ilgili olarak en kapsamlı şekilde incelenen kimyasal madde olan trikloretilen, *International Agency for Research on Cancer (IARC)* tarafından “muhtemel” kanserojen olarak kabul edilmiştir (4,36).

RHK’ların çoğunluğu sporadik olmakla birlikte, %2-4’ü herediter nedenlere bağlı gelişmektedir. Herediter nedenlere bağlı gelişen RHK’ların çoğu çeşitli sendromlara eşlik etmektedir (Tablo 2). RHK’lu bir hastanın birinci derece akrabalarında RHK gelişme riski yaklaşık iki katına çıkmaktadır (5). Von Hippel Lindau (VHL) tümör baskılayıcı geni, RHK’da en sık mutasyona uğrayan gen olarak bilinmektedir. Ailesel VHL sendromlu olgularda daha genç yaşta, sıklıkla feokromositoma ve santral sinir sistemi hemanjiyomları dahil olmak üzere malign olmayan tümörler ile birlikte multipl RHK gelişmektedir (25).

Tablo 2. Sendromlar ve eşlik eden böbrek tümörleri (5)

Sendrom	Eşlik eden böbrek tümörleri
von Hippel-Lindau sendromu	Multipl, bilateral BHRHK
Herediter PRHK	Multipl, bilateral PRHK (Tip 1)
Herediter leiomyomatozis ilişkili RHK	PRHK (Tip 2)
Herediter papiller tiroid karsinomu	PRHK, Onkositom
Hiperparatiroidizm-çene tümörü sendromu	Mikst epitelyal ve stromal tümörler, PRHK
Birt- Hogg –Dube sendromu	Multipl KRHK, hibrid kromofob onkositoma, PRHK
Tuberoz skleroz	Multipl, bilateral anjiomyolipom, lenfanjioleiomyomatozis

BHRHK: Berrak hücreli renal hücreli karsinom, PRHK: Papiller renal hücreli karsinom, RHK: Renal hücreli karsinom, KHRHK: Kromofob renal hücreli karsinom

2.2.3. Prognostik faktörler

RHK'larda sağkalımı öngörmeye en önemli prognostik faktör, tümörün patolojik evresi ve tümör derecesidir. Diğer prognostik faktörler nekroz, sarkomatoid ve rabdoid diferansiyasyon varlığıdır (5). RHK, moleküler açıdan aynı tümörün farklı alanlarında ortaya çıkan farklı prognostik etkilerle ilişkili farklı mutasyonlara sahip heterojen bir neoplazmdir. Tümör içerisindeki bu heterojenite varlığı nedeniyle kullanılan tedavi ajanları tümörün her alanına yeterli etkiyi gösterememekte ve tedavi başarısızlıklarına neden olmaktadır (37). Yeni yapılan çalışmalarda, intratümöral heterojenitenin birçok tümör grubunda prognozu olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Çalışmalar, tümör heterojenitesinin RHK'lu olgularda başarılı tedavinin önündeki en büyük engel olduğunu göstermektedir (38).

2.2.4. Derecelendirme

Renal neoplaziler için çeşitli derecelendirme sistemleri önerilmiştir ancak bunlar RHK'ların birçok tipi için standardize edilememiştir. Bunlar arasında en çok kullanılanı Fuhrman ve ark.'ları tarafından uyarlanan derecelendirme sistemidir. Bu derecelendirme sistemine göre nükleer boyut, nükleer membran düzensizliği, kromatin özelliği ve nükleol belirginliği şeklinde dört kriter temel alınmıştır (Tablo 3) (5).

Tablo 3. Fuhrman derecelendirme sistemi

Derece	Nükleer boyut	Nükleer özellikler	Kromatin yapısı	Nükleol özellikleri
1	<10 mikrometre	Yuvarlak, düzgün nükleer konturlu	Yoğun kromatin	Belirsiz nükleol veya yok
2	15 mikrometre	Yuvarlak, minimal düzensiz konturlu	İnce granüler	Küçük, x400 büyütmede görülebilir
3	20 mikrometre	Oval-yuvarlak, düzensiz konturlu	Kaba granüler	Nükleol belirgin, x100 büyütmede görülebilir
4	>20 mikrometre	Pleomorfik, multiloblu, düzensiz şekilli	Hiperkromatik, kaba kromatin	Makronükleol, x40 büyütmede görülebilir

BHRHK’larda Fuhrman nükleer derecelendirme sistemi ile sağkalım arasında pozitif korelasyon olmasına rağmen, nükleer boyutu ölçme gerekliliği nedeniyle bazı zorluklar olabilmektedir. Özellikle derece 2 ve 3 arasında gözlemciler arasındaki farklılık önemli düzeydedir (39,40). Bu nedenle Dünya sağlık örgütü/ *International Society of Urological Pathology (DSÖ/ISUP)* derecelendirme sistemi önerilmektedir (5,41) (Tablo 4). Bu sisteme göre derece 1-3 tümörler nükleol belirginliğine göre değerlendirilirken, derece 4 tümörler ise büyük nükleol varlığı yanı sıra, belirgin nükleer pleomorfizm, tümör dev hücreleri ve/veya sarkomatoid ve/veya rabdoid diferansiyasyon varlığı olarak tanımlanmaktadır. Değerlendirme, tümör içerisindeki en yüksek nükleer derece alanlarına göre yapılmalıdır. Bu derecelendirme sistemi BHRHK ve PRHK’lar için prognostik bir faktör olarak onaylanmıştır. Ancak diğer renal hücreli neoplaziler için henüz prognostik bir belirteç olarak doğrulanmamıştır (5).

Tablo 4. DSÖ /ISUP derecelendirme sistemi

Derece	Histopatolojik Özellikler
1	Nükleol yok / belirsiz ve x400 büyütmede bazofilik
2	Nükleol x400 büyütmede belirgin ve eozinofilik, x100 büyütme belirgin değil ancak görülebilir
3	Nükleol x100 büyütmede belirgin ve eozinofilik
4	Belirgin nükleer pleomorfizm, multinükle dev hücreler ve/veya rabdoid ve/veya sarkomatoid diferansiyasyon

2.2.5. Evrelendirme

RHK’larda en önemli prognostik faktör olarak bilinen tümör evresinin tespiti ile hastalığın yayılım düzeyi belirlenerek klinik davranış ve prognoz öngörülmüş olur. Renal tümörlerde güncel olan, 2010 TNM evreleme sistemidir (Tablo 5). Bu sisteme göre böbreğe sınırlı olan tümörler, tümör çapına göre kategorize edilmektedir (pT1a/b, pT2a/b). Perirenal yağ doku invazyonu (PRYDİ) ya da renal sinüs ve renal ven invazyonu pT3a; inferior vena kava’nın diyafram altında kalan kısmının

invazyonu pT3b; inferior vena kava'nın diyafram üzerinde kalan kısmının invazyonu pT3c iken, ipsilateral adrenal beze yayılım ve Gerota fasyası invazyonu varlığında evre pT4'e yükselmektedir (5). 2010 *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*'ye göre RHK'larda klinik evreleme Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 5. Renal hücreli karsinomların 2010 TNM sınıflaması

T- PRİMER TÜMÖR
Tx: Primer tümör değerlendirilemedi
T0: Primer tümöre ait kanıt yok
T1: Tümörün en büyük çapı ≤ 7cm, böbreğe sınırlı
T1a: Tümörün en büyük çapı ≤ 4cm, böbreğe sınırlı
T1b: Tümörün en büyük çapı > 4cm, ancak ≤ 7cm, böbreğe sınırlı
T2: Tümörün en büyük çapı > 7cm, böbreğe sınırlı
T2a: Tümörün en büyük çapı > 7cm, ancak ≤ 10cm, böbreğe sınırlı
T2b: Tümörün en büyük çapı > 7cm, 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'ya uzanmış
T3c: Tümör makroskopik olarak diyafram üzerinde kalan vena kava'ya uzanmış ya da vena kava duvarını invaze etmiş
T4: Tümör Gerota fasyasını aşmış (ipsilateral adrenal bez invazyonu dahil)
N- LENF NODLARI
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 6. Renal hücreli karsinomlarda klinik evreleme

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

2.3. BERRAK HÜCRELİ RENAL HÜCRELİ KARSİNOM

2.3.1. Klinik Özellikler

BHRHK'lar, uzun süre belirti vermeyebilir. Bu nedenle yaklaşık %60-80'i görüntüleme yöntemleri ile insidental olarak saptanır. Semptomatik olgularda ise en yaygın semptom, hematüri ve yan ağrısıdır. Hematüri, en güvenilir semptomdur. İleri evre olgularda kilo kaybı ve ateş görülebilmektedir (5). Uzun süreli ateş, tümör hücreleri tarafından eritropoetin üretimine bağlı polisitemi (%5-10) izlenebilmektedir. Olguların yaklaşık %10'unda kostovertebral ağrı, palpe edilebilir kitle ve hematüri şeklinde üç temel belirti bir arada bulunmaktadır. (5,19).

Olguların yaklaşık %25'inde, primer tümöre ait semptomlar görülmeden yaygın metastazlar gelişebilmektedir (19). En yaygın metastaz, hematojen yolla renal sinüs venleri, renal venler ve vena kava aracılığıyla gerçekleşen akciğer metastazlarıdır. Renal venlerden lomber venlere yayılım, daha düşük basınca sahip paravertebral venöz pleksusa ve pelvik venlere yayılımı kolaylaştırır ve bunun sonucunda santral sinir sistemi, baş-boyun ve kemik metastazları görülebilir (5).

2.3.2. Etiyolojik Faktörler

Genellikle sporadik olarak ortaya çıkarlar. Ancak yapılan bazı çalışmalarda ilişkili etyolojik faktörler bildirilmiştir. Olguların %30'unda sigara sorumlu tutulmaktadır. Obezite ve tip 2 diabet kadınlarda risk faktörüdür. Kadmiyum, petrol ürünleri, endüstriyel kimyasallar, fenasetin ve asetaminofen vb. çevresel risk faktörleri ile ilişki bildirilmiştir (19).

Nadiren genetik hastalıklarla birlikte görülebilir. Örneğin; VHL sendromunda, santral sinir sisteminde hemanjioblastom ile birlikte birden fazla RHK birlikteliği görülür. Tuberoz sklerozda <%4 oranında RHK gelişir. Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, kronik böbrek hastalıkları ve edinsel kistik hastalıklar da, BHRHK ile birliktelik gösterebilmektedir (19).

2.3.3. Lokalizasyon

BHRHK, her iki böbreği eşit sıklıkta tutan, kortikal yerleşimli soliter böbrek tümörüdür. Multifokalite ve/veya bilateralite olguların %5'inden daha azında görülmektedir (5). Multifokalite, bilateralite ve erken başlangıç yaşı tipik olarak VHL sendromu gibi herediter kanser sendromları ile ilişkilidir (42).

2.3.4. Makroskopik Özellikler

BHRHK, sıklıkla keskin sınırlı, psödokapsül içeren kitle şeklindedir. Böbreğin diffüz tutulumu yaygın değildir (5). Genellikle soliter olmakla birlikte nadiren birden fazla sayıda olabilir. Ortalama 3-15 cm boyutlarındadır. Tümör çapı 15 cm'yi geçebilir, ancak radyolojik görüntülemelerin yaygın kullanımı nedeniyle küçük çaplarda tümör tespit oranı artmaktadır (43).

Tipik olarak hücrelerin zengin lipid içeriğinden dolayı tümör kesit yüzü altın sarısı rengindedir. Yüksek dereceli tümörler daha az lipid ve glikojen içerir (25). Kistik dejenerasyon alanları, nekroz ve kanama alanları yaygındır. Kalsifikasyon ve ossifikasyon alanları görülebilir (5).

Özellikle büyük çaplı tümörlerde renal sinüs ve renal ven invazyonu görülebilmektedir (5). Renal ven invazyonu, vena kava inferior yoluyla kalbin sağ atriumuna kadar uzanabilir. Perirenal yağ doku ve adrenal bez invazyonu görülebilir (19).

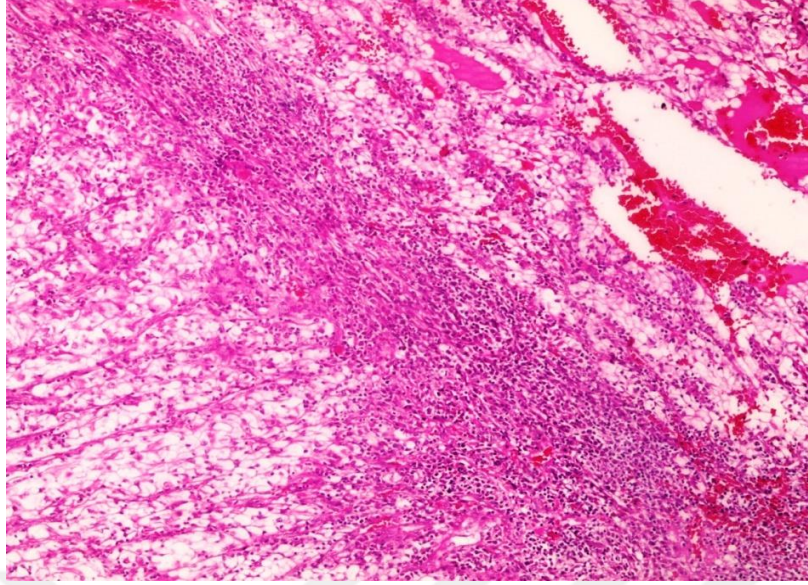
2.3.5. Mikroskopik Özellikler

BHRHK'lar, morfolojik olarak heterojen tümörlerdir. Olguların yaklaşık %50'sinde asiner büyüme paterni görülür. Asiner paternin daha az olduğu olgularda solid tabakalar, kistik, papiller/psödopapiller, rabdoid veya sarkomatoid büyüme paterni görülebilir. Zengin kapiller ağ, solid tabakalar ve sarkomatoid alanlar dışında tümünde belirgindir (25) ve bu özellik tanıda yardımcı karakteristik özelliktir (5).

BHRHK'ların büyük çoğunluğunda lenfositler başta olmak üzere immün hücre infiltrasyonu mevcuttur (5) (Resim 1). Son yıllarda immün kontrol noktası inhibitörlerine karşı artan ilgi nedeniyle, BHRHK'da immün hücre infiltrasyonu daha da önem kazanmıştır (7,44). Şenbabaoğlu ve ark.'ları tarafından 2016 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada, Kanseri Genom Atlas araştırma programı aracılığıyla incelenen 19 kanser türü arasında BHRHK'un en yüksek lenfosit infiltrasyonu gösteren tümör grubu olduğu saptanmıştır (44). Ayrıca, BHRHK'da yüksek nükleer derece ve ileri evre ile yoğun T lenfosit infiltrasyonu arasında pozitif korelasyon izlenmiştir (44,45).

Büyüme paterni nükleer derece ile genellikle ilişkilidir. Düşük dereceli tümörlerin çoğunda asiner gelişim paterni gözlenirken; yüksek dereceli tümörler solid, psödopapiller, rabdoid veya sarkomatoid özellikler sergiler. Psödopapiller büyüme alanları gerçek fibrovasküler korların olmaması ile papiller büyüme paterninden ayrılır. Psödopapiller yapılar genellikle solid ve/veya asiner büyüme alanlarındaki dejeneratif değişiklikler nedeniyle oluşur. Dejeneratif değişiklikler olarak fokal fibrozis ve hiyalinizasyon alanları olguların %75'inde görülür. Ancak gerçek desmoplazi, minimal düzeyde ya da yoktur (25). BHRHK'ların yaklaşık %5'inde kötü prognoz ile ilişkili sarkomatoid ve rabdoid özellikler bulunmaktadır (46).

Tümör hücreleri çoğunlukla lipid ve glikojen depolanmasına bağlı olarak berrak sitoplazmalıdır. Fakat granüler eozinofilik sitoplazmalı hücreler de bulunabilir. Bu hücreler, özellikle yüksek dereceli tümörlerde ve nekroz veya hemoraji alanları kenarında yaygındır. Nükleuslar dağınık kromatin paterni gösteren yuvarlak-oval şekillidir. Dereceyle ilişkili olarak nükleol şüpheli, küçük ya da belirgin büyüktür (5).



Resim 1. Berrak hücreli renal hücreli karsinom. Zengin kapiller ağ ve yoğun lenfosit infiltrasyonunun izlendiği asiner büyüme paterni gösteren berrak sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu tümöral proliferasyon (H&E x100).

2.3.6. İmmünofenotip

Karbonik Anhidraz-IX (CA-IX), pH regülasyonunda ve CO₂ taşınmasında rol oynayan bir çinko metalloenzimi olup bikarbonat ve hidrojen iyonları oluşturmak için geri dönüşümlü CO₂ hidrasyonunda rol alan bir enzim ailesine aittir (47). Karakteristik olarak CA-IX ile BHRHK'ların %75-100'ünde diffüz membranöz boyanma paterni şeklinde ekspresyon mevcuttur. Yüksek dereceli tümörlerde CA-IX ekspresyonunda azalma izlenebilir (48). CK7 ekspresyonu nadirdir ancak, yüksek dereceli tümörlerde hücre kümeleri veya izole hücrelere sınırlı bir pozitif boyanma (49,50) ve kistik alanları döşeyen hücrelerde pozitif boyanma (51) görülebilir. Bu nedenle CK7, diffüz CK7 ekspresyonu gösteren kromofob RHK'dan BHRHK'u ayırt etmek için kullanılır (49).

Vimentin yüksek dereceli alanlarda daha yoğun olmak üzere pozitif izlenir (52). RCC, BHRHK'ların %72-84'ünde sitoplazmik ve membranöz ekspresyon gösterirken diğer böbrek kanseri tiplerinde ve adrenokortikal neoplazmlar, kolon, meme, prostat, over, melanom, akciğer ve paratiroid gibi böbrek dışı neoplazmlarda da immünreaktivite gösterebildiği bildirilmiştir (53). Proksimal tübül belirteci olan

CD10 ile genelde apikal sitoplazmik olup bazen yaygın sitoplazmik boyanma izlenir (19).

Bir transkripsiyon faktörü olan PAX-8 ile diğer renal epitelyal neoplazmlara benzer şekilde nükleer ekspresyon yaygındır. PAX-2, PAX-8'e benzer dağılım gösterir ancak, PAX-8 daha sensitif bir belirteçtir (5). BHRHK'larda ayrıca AE1/AE3, CAM5.2 ve EMA gibi epitelyal belirteç ekspresyonu da izlenir (5).

2.3.7. Genetik Özellikler

BHRHK'ların %95'inde görülen en yaygın genetik değişiklik, 3. kromozomun kısa kolunun kaybıdır. Genellikle 3p25 kromozomu üzerinde bulunan VHL tümör süpresör geninin bialelik inaktivasyonu izlenir. VHL geninin somatik mutasyonu veya hipermetilasyonu, sporadik BHRHK'larda da yaygındır (54). BHRHK'ların %90'ından fazlasında VHL geninde mutasyon, delesyon ya da metilasyon nedeniyle fonksiyon kaybı izlenir (2,3). VHL, VHL proteini (pVHL)'ni kodlayan tümör süpresör bir genidir. pVHL'nin fonksiyonel kaybı, BHRHK'lu hastaların çoğunda temel onkojenik faktör olarak rol oynar ve tümör gelişimi, progresyonu ve metastaza katkıda bulunur (55). Bu protein, normoksik koşullarda *ubiquitin* aracılı proteoliz yoluyla HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın parçalanmasına aracılık eder (56-58). Hipoksi ya da pVHL'nin defektif olduğu durumlarda, HIF yıkılamaz ve hücrede birikir. Biriken HIF, VEGF, PDGF, GLUT1 gibi hipoksiye adaptasyonu düzenleyen molekülleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive eder. Anjiogenez, glukoz *up-take*'i, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonunda artış meydana gelir (59,60).

BHRHK'larda yaygın görülen diğer genetik değişiklikler 5q kazanımı (%69), parsiyel 14q kaybı (%42), 8p delesyonu (%32), 7q kazanımı (%20) ve 9p kaybı (%29)'dir. VHL dışında, BHRHK'un patogeneğinde önemli rol oynayan diğer genler PBRM-1, SETD2, BAP-1, KDM5C ve MTOR'dur (61).

Son yapılan genom sekanslama çalışmaları, BHRHK'lar açısından 3p lokusunun VHL genine ek olarak en az dört tümör süpresör genini barındırdığını

göstermiştir. Bunlar; histon 3 lizin demetilaz genleri olan KDM6A (UTX) ve KDM5C (JARID1C), histon 3 lizin metiltransferaz geni olan SETD2 ve SWI/SNF, kromatin yeniden düzenlenimi kompleks geni olan PBRM1'dir. Ayrıca kromatin yeniden düzenleniminde rol oynayan BAP1 geninde de fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar görülebilmektedir. BAP1 mutant tümörler tipik olarak yüksek derecelidir ve kötü klinik seyir izlenir (2,3,62).

Tümör başlangıç yolağında yer alan kromozom 3p kaybına ek olarak BHRHK'da kötü prognozla ilişkili diğer genetik değişiklikler kromozom 14q'da allel kaybı, kromozom 4p ve 9p kaybıdır (63-65). Kromozom 14q delesyonlarının olası hedefi HIF-1 α olarak görülmektedir. BHRHK'ların %70'inde kromozom 5q kopya sayısında artış mevcuttur (61). Son yapılan çalışmalarda kromozom 5q'daki hedef SQSTM1 olarak tanımlanmıştır (66).

VHL sendromu BHRHK'ların en sık ilişkili olduğu genetik hastalık olmakla birlikte diğer ilişkili olduğu hastalıklar Cowden sendromu, Birt-Hogg-Dube sendromu (67), tuberoz skleroz (68) ve süksinat dehidrojenaz mutasyonu ile ilişkili RHK'dur (69).

2.3.8. Ayrıcı Tanı

Morfolojik olarak berrak hücre özellikleri gösteren tümörler her zaman BHRHK olarak sınıflandırılmayabilir. Berrak hücre ile ilişkili fokal papiller yapıların fazla olması durumunda berrak hücreli papiller RHK (BHP-RHK) ve MİT ailesi translokasyon karsinomundan ayrımı yapılmalıdır (25). Berrak hücre morfolojisi görülebilen MİT ailesi translokasyon karsinomu TFE3, TFEB, MİTF, TSC1 ve TSC2 genlerindeki farklı moleküler anormallikler ile BHRHK'dan ayrılır (70).

Kistik dejenerasyon, yaygın hiyalinizasyon ve hemosiderin depozitleri içeren regrese BHRHK'lar düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal hücreli neoplazmlarla karışabilir. BHRHK'da olduğu gibi bu tümörlerde de CA-IX ve PAX-

8 ile immünreaktivite izlenir (5). Doğru tanı için BHRHK'da kistik komponent veya komşuluğunda berrak hücrelerden oluşan ekspansif tümör odağının bulunması BHRHK'unu desteklerken; berrak hücreler ile dōşeli septalarla ayrılmış çok sayıda kistik yapının varlığında ve geniş tümör adalarının olmaması halinde düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal hücreli neoplazm düşünölmelidir (19).

Bazı PRHK'lar değişken ya da bazen belirgin şekilde "berrak hücre" alanları içerebilir. Berrak görünümlü bu hücreler BHRHK'lardaki tamamen optik olarak berrak hücrelerden farklı olarak ince sitoplazmik retikölasyon ve granölaritye sahiptir (71). Granölaritye sıklıkla sitoplazmadaki ince hemosiderin partiköllerinin varlığına bağlıdır (25). BHRHK'lar psammom cisimleri, hemosiderin depozitleri, köpöklü makrofajların nadir görölmesi, CK7 negatifliği, diffüz membranöz CA-IX pozitifliği ile PRHK'dan ayırt edilebilir (25).

Örtüşen morfolojisinden dolayı BHP-RHK, düşük dereceli BHRHK ve berrak hücre değişiklikleri gösteren PRHK ile karışabilir (72). BHP-RHK'u daha kötü prognoza sahip diğer RHK alt tiplerinden doğru şekilde ayırt etmek oldukça önemlidir. BHP-RHK'un nüks, metastaz veya lenf nodu tutulumu göstermeyen, iyi klinik sonuçları olan *indolent* bir tümör olması nedeniyle ayırıcı tanısı önemlidir (73). Bazı BHRHK'lar, BHP-RHK'a benzer şekilde nükleusların lineer düzenlenmesine neden olan fokal subnükleer vakuölizasyon alanları içerebilir (74) ve hatta bazı BHRHK olguları CK7 pozitifliği de gösterebilir. Ancak bu pozitiflik sadece odaklıdır ve BHRHK'larda CD10 pozitif, 34bE12 negatiftir. BHP-RHK'da CK7 ve CA-IX ile birlikte ekspresyon izlenmesi BHRHK'dan ayırıcı tanıda önemlidir. Ayrıca CA-IX ile BHRHK'da diffüz membranöz boyanma izlenirken, BHP-RHK'da CA-IX ile bazolateral boyanma paterni (*cup-like*) karakteristiktir (19,49,75).

BHP-RHK'lar, BHRHK'larda yaygın olarak görölen kromozom 3p delesyonunu ve VHL gen anormalliklerini içermeyiz. Ayrıca PRHK'larda yaygın olarak gözlenen sitogenetik değişiklikler olan kromozom 7 trizomisi veya Y kromozom kaybı da yoktur (19,76). Son zamanlarda, VHL hastalarında berrak hücreli papiller benzeri RHK'lar tarif edilmiştir. Bununla birlikte, bu tümörler tipik

BHP-RHK'ların karakteristik immünprofilinden yoksundur ve sıklıkla kromozom 3p delesyonu gösterir (77).

Bazı hücrel çeşitlilikten yoksun epitelioid varyant anjiomyolipomlar da yanlışlıkla BHRHK olarak sınıflandırılabilir. Doğru tanı için morfolojik bulguların dikkatli değerlendirilmesi, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik bulgular, sitogenetik özellikler yardımcıdır. Anjiomyolipom HMB-45 ve Düz kas aktin ile pozitif boyanırken; anjiomyolipomdan farklı olarak BHRHK'da EMA ve CAM5.2 gibi epitelyal belirteçler ile immünreaktif boyanma ve CA-IX ile diffüz membranöz pozitif boyanma izlenmesi önemlidir (25).

Bazı BHRHK'lar son derece az diferansiye olup ayırıcı tanıda metastatik karsinomlar yer alır. Bu durumda hastanın klinik öyküsü yardımcı olmaktadır. Özellikle böbrek üst pol yerleşimli tümörlerde adrenal kortikal karsinomlar ayırıcı tanıda önemlidir. Adrenal kortikal tümörler EMA ile immünreaktivite göstermez ve sitokeratinler ile nadiren boyanırken İnhibin ve MART-1 (A-103) ekspresyonu göstermeleri önemlidir (25).

2.3.9. Prognostik Faktörler ve Tedavi

BHRHK'da en önemli prognostik faktör patolojik evredir (78). Diğer önemli prognostik parametreler nükleer derece, tümör nekrozu varlığı, sarkomatoid ve rabdoid diferansiyasyondur. Sarkomatoid ve rabdoid diferansiyasyon kötü prognoz ile ilişkilidir. Sarkomatoid değişiklikler gösteren tümörler için 5 yıllık sağkalım oranı %15-22 aralığında değişmektedir. Rabdoid morfoloji içeren tümörlerde median sağkalım 8-31 ay olarak bildirilmiştir (41).

Günümüze kadar çeşitli derecelendirme sistemleri geliştirilmiştir. Ancak BHRHK'lar için kabul edilen ve kullanılan güncel derecelendirme sistemi DSÖ/ISUP derecelendirme sistemidir. Tümör nekrozu bağımsız bir prognostik faktördür (5,41). Genel olarak total tümör alanının %10'undan fazlasını oluşturan tümör nekrozu kötü klinik seyir ile ilişkilidir (5).

RHK hematojen yolla akciğer, kemik, adrenal bezler, karaciğer, lenfatik düğümler ve beyne metastaz yapabilir. Ayrıca nadir de olsa literatürde vajinal duvar metastazı bildirilen olgular mevcuttur (79).

Erken dönemde ve böbrek parankimine sınırlı ise parsiyel cerrahi rezeksiyon veya radikal nefrektomi ile 5 yıllık sağkalım oranı %92 dolayındadır. Bununla birlikte, lokal ileri ve metastatik hastalık için mevcut standart tedavilerdeki kısıtlılıklar nedeniyle 5 yıllık sağkalım lokal ileri olgularda %67'ye, metastatik olgularda %12'ye kadar düşmektedir (80).

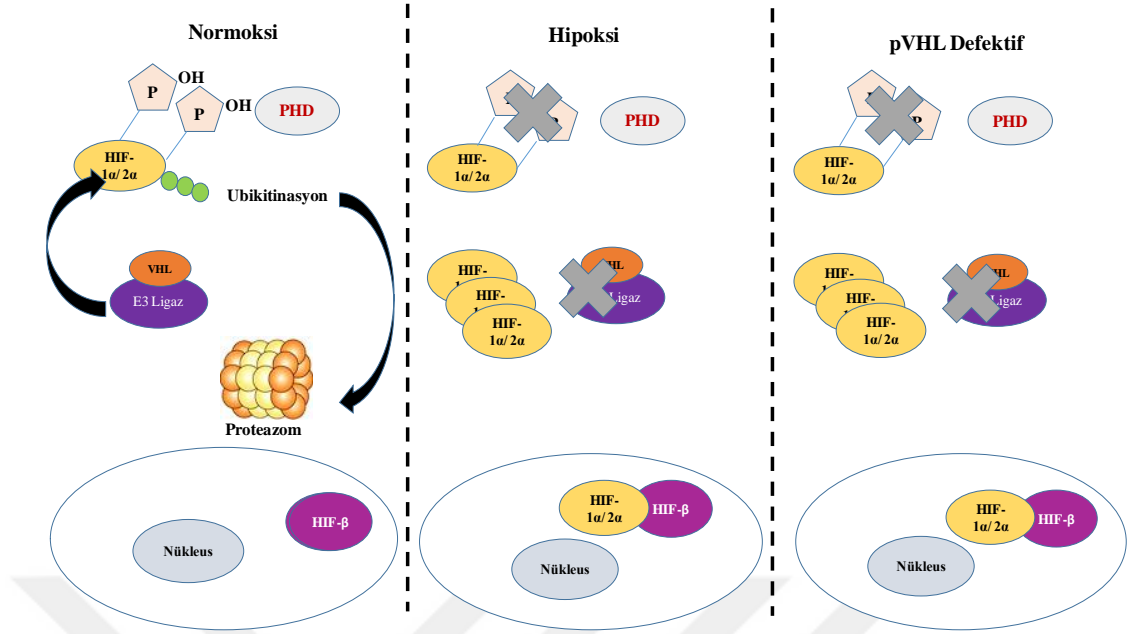
2.4. TÜMÖROGENEZDE HIPOKSİNİN ÖNEMİ

Hipoksi, oksijen tedariki ile tümör hücrelerinin oksijen tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanan solid tümörlerin çoğunun ortak bir özelliğidir (81). Tümör hipoksisinin majör nedeni, özellikle hızlı büyüyen tümörlerde, hücresel düzeyde oksijenin hızlı tükenmesi ve neoplastik dokuda fonksiyonel olmayan kan damarlarının oluşmasıdır (82,83). Tümör hücrelerinin, oksijen açlığını kompanze edici bir kan akımı elde etmek, hücresel hasardan ve apoptozdan korunmak için, HIF- α (Hipoksi-indüklenebilir faktör-alfa)'yı aktifleştirerek VEGF gibi anjiogenezde rol oynayan birçok genin transkripsiyonunu başlattığı ve böylece hipoksiye adapte olduğu bildirilmiştir (83). Hipoksi, HIF proteinlerinin stabilizasyonu dahil, tümör hücrelerinin olağanüstü durumlarda hayatta kalmasına olanak sağlayan strese karşı önemli hücresel yanıtı tetikler. Hipoksiye verilen hücresel yanıtı esas aracılık eden molekülün, kanser hücrelerinin progresyonunu ve adaptasyonunu sağlayan genlerin ekspresyonunu düzenleyen HIF olduğu bilinmektedir (84).

Hipoksi ve HIF, embriyonik, nöral ve hematopoetik kök hücreler dahil olmak üzere farklı kök hücre popülasyonlarının çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenler (85). Bazı tümör hücrelerinin kanser kök hücresi benzeri özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Hipoksi ve HIF'lerin kanser hücrelerinin bir kısmında kök hücre benzeri özellikleri düzenlediği ve daha agresif hale getirdiği açıktır (86). Ancak hipoksi, hücre proliferasyonunun azalması, hücre döngüsünün durması ve/veya

apoptoz ile de sonuçlanabilir. Bir çalışmada, p53 tümör süpresör geninde fonksiyon kaybı veya anti-apoptotik fonksiyona sahip Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu ile karsinogeneizde azalmış bir etki olan tümör hücresi apoptozunun, hipoksi tarafından indüklenbildiği gösterilmiştir (87). Hipoksinin, HIF-1 α ve p53 arasında fiziksel bir etkileşime neden olarak, p53'ün stabilizasyonu ve apoptozun artışına neden olduğu öne sürülmüştür (88).

HIF'ler, transkripsiyon faktörü olarak rol oynayarak hipoksiyi algılayan ve cevap veren proteinlerdir (89). HIF, bir alfa subuniti (HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF-3 α) ve bir beta subunitinden (HIF- β) oluşan heterodimer bir bileşiktir. HIF- β hücrede yapısal olarak eksprese edilirken, HIF- α hipoksi ile uyarılır (90-94). Oksijen varlığında, alfa subunitindeki korunmuş prolin kalıntıları, oksijen, demir ve askorbat bağımlı enzim olan prolin-4-hidroksilaz (PHD) tarafından hidroksile edilir (95) ve böylece HIF parçalanması aktiflenmiş olur (59,60). Alfa subunitinin hidroksilasyonu, daha sonra *ubiquitin* ilave edilerek alfa subunitinin parçalanmasına aracılık eden tümör baskılayıcı pVHL için bir tanıma sinyali olarak işlev görür. Bununla birlikte, hipoksik koşullar altında ya da pVHL'nin defektif olduğu durumda, PHD'lar alfa subunitini hidroksile edemez. Bu durumda, HIF yıkılamaz ve HIF transkripsiyon faktörünü oluşturmak için HIF- α protein stabilizasyonu, nükleer translokasyon ve HIF- β 'ya dimerizasyon ile sonuçlanır. Her iki izoform (HIF-1 α ve HIF-2 α) da benzer şekilde, nükleustaki hipoksiye yanıt veren element (HRE)'lere bağlanarak hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (90-94) (Şekil 1). HIF'ler, transkripsiyon aktivasyonu ile anjiyogenez, metabolizma, eritropoez, apoptoz, pH düzenlenmesi, hücrel farklılaşma ve metastaz dahil olmak üzere farklı fonksiyonlara sahip çok sayıda genin ekspresyonunu düzenler (96,97).



Şekil 1. Hipoksi-indüklenebilir faktör yolağı A) Oksijen varlığında, HIF- α 'nın yıkımı; B) Hipoksi durumunda ve C) pVHL'nin defektif olduğu durumda HIF- α 'nın hücrede birikmesi ve nükleusa transloke olarak HIF- β ile dimerizasyonu (98).

Fizyolojik koşullarda, HIF-1 α , hipoksik bölgeler içeren çeşitli dokularda geniş bir fonksiyona sahipken HIF-2 α 'nın fonksiyonu böbrek, akciğer ve kalp gibi spesifik hücre tiplerine sınırlıdır (99). Ayrıca, HIF-1 α 'nın hipoksiye karşı verilen akut tepkiye aracılık ettiği düşünülürken, HIF-2 α 'nın daha uzun süreçte ve ayrıca normal fizyolojik oksijen seviyelerinde stabilize olduğu bildirilmiştir (100).

Endotelial PAS domain proteini-1 (EPAS-1) olarak da adlandırılan HIF-2 α proteini, HIF-1 α ile eşit oksijen seviyelerinde regüle edilir ve her iki molekülün de yapısal olarak amino asit dizilimi yaklaşık %50 oranında benzerlik gösterir. Ancak fonksiyon olarak farklı hedef genler ve düzenleyici mekanizmalar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (101). İntratümöral hipoksi, genel olarak kötü prognoz ile ilişkilirken HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın prognostik rolü, tümör tipleri arasında farklılık gösterebilmektedir. Örnek olarak, HIF-1 α *overekspresyonunun*, HIF-2 α 'nın aksine baş boyun kanseri olan hastalarda (102), KHDAK'larında (103) ve nöroblastomda (104) olumlu klinik sonuçlar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla HIF-1 α ve HIF-2 α , tümör tipine bağlı olarak zıt klinik etkilere sahip olabilmektedir. Raval ve

ark.'larının RHK'lu olgular üzerinde yaptığı bir çalışmada, HIF-1 α 'nın apoptoz ile ilişkili BNIP3 genini düzenlediği, HIF-2 α 'nın büyüme faktörü olan TGF- α 'yı ve hücre siklus progresyonunda görevli CCND1 genini düzenlediği tespit edilmiştir (105). Hu ve ark.'larının RHK tanılı olgularda yaptığı çalışmada, HIF-1 α 'nın glikoliz ile ilişkili HK2, PFK, ALDA, PGK1, LDHA genlerini düzenlediği, anjiogenez ile ilişkili VEGF ve ADM1 genini ise hem HIF-1 α hem de HIF-2 α 'nın düzenlediği saptanmıştır (106). Farklı tümör grupları üzerinde yapılan çok sayıda çalışmada, HIF-1 α 'nın astrositomlarda (107), mesane kanserlerinde (108), meme kanserinde (109), serviks kanserinde (110), mide adenokarsinomlarında ve gastrointestinal stromal tümörlerde (111-113) kötü prognoz ile ilişkili olduğu; HIF-2 α 'nın astrositomlarda ve glioblastomda (114,115), nöroblastomda (100), meme kanserinde (116), serviks kanserinde (117), hepatosellüler karsinomda (118) kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Kolorektal kanserlerde (119), baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarında (120,121), KHDAK'larında (122), melanomda (123), over karsinomlarında (124), pankreas kanserlerinde (125,126), prostat kanserlerinde (127) hem HIF-1 α , hem de HIF-2 α 'nın her ikisinin de kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Mazumdar ve ark.'larının 2010 yılında KHDAK tanılı olguları ele alan çalışmasında, HIF-2 α ekspresyonunun inhibe edilmesinin tümör gelişimini arttırdığı tespit edilmiştir (128). Solid tümörlerde hipoksik bölgelerin varlığı ve HIF-1 α aktivasyonu, agresif klinik seyir ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (85,129). HIF-1 α proteini, meme, kolon, mide, akciğer, deri, over, pankreas, prostat ve renal karsinomlar dahil olmak üzere çeşitli malign tümörlerde *overeksprese* edilir. Buna karşılık, birçok benign tümörde HIF-1 α ekspresyonu çok az ya da hiç yoktur (130-133). Serviks (110), endometrium (134), over kanseri (135) ve oligodendrogliomda (136) HIF-1 α ekspresyonu düşük sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. Bir çalışmada, glioblastomda HIF-2 α inhibisyonunun, in vitro olarak tümör hücre proliferasyonu ve hücre yenilenmesini, in vivo olarak tümör gelişim kapasitesini azalttığı izlenmiştir (115). Yapılan bazı çalışmalara göre ise HIF-1 α 'nın tümör gelişiminde, HIF-2 α 'nın tümör progresyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (96,105). Anlaşıldığı üzere, HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın ana fonksiyonunu ve karsinogenezdeki rolünü anlamaya yönelik çok çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen, çalışmalar arasında belirgin çelişkiler mevcuttur ve halen HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın ilişkili olduğu mekanizmalar ve

fonksiyonları konusunda net bilgi elde edilememiştir. Ancak birçok çalışmaya göre, HIF inhibisyonunun, tümör hücresi diferansiyasyonuna olanak sağladığı ve tedavi sonrası tümör nüksünü azalttığı düşünülmektedir (84,137,85).

Hipoksi, anjiyogenez, tümör gelişimi, metastaz ve kötü prognoz ile yakından ilişkili hücre döngüsü kontrol proteinlerini uyarır (133,138,139). Tümör hipoksisi ve HIF'ler, hücre çoğalması, apoptoz, metabolizma, immün yanıt, *genomik instabilite*, vaskülarizasyon, invazyon ve metastaz dahil olmak üzere kanserin temel özelliği olan çoğu fonksiyonu aktive eder. Yapılan çalışmalarda, tümör hipoksisinin agresif tümör fenotipi, tedavi direnci ve kötü prognoz ile ilişkili olması nedeniyle klinik öneme sahip olduğu belirtilmiştir (82, 140-142). Son yıllarda, yeni hipoksi önleyici tedavilerin denenmesi nedeniyle, kanser araştırmalarında hipoksi kavramı oldukça önemli hale gelmiştir (143). HIF'lerin ayrıca çoklu mekanizmalar yoluyla kemo ve radyoterapi direncine katkıda bulunduğu, yapılan klinik çalışmalarda HIF ekspresyonunun kötü prognozla ve tümör nüksü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, HIF'lerin, metastatik ve tedaviye dirençli kanserlerin tedavisinde kullanılabilecek önemli moleküler hedefler olduğu (84) ve HIF yolağının inaktivasyonunun RHK'lu hastalarda standart tedavilerin geliştirilmesinde temel olacağı düşünülmektedir (98). Hipoksi ile ilgili yolakların mekanizmasını ve histopatolojik parametrelerle ilişkisini net olarak açığa kavuşturmak ve yeni tedavi modaliteleri oluşturmak hastanın prognozunu iyileştirmenin yanı sıra, tümör progresyonunu ve metastazını önlemede veya azaltmada etkili bir yaklaşım olabilir.

2.5. İMMÜN SİSTEMİN ANTİTÜMÖRAL FONKSİYONU

Bağışıklık sistemi, normal şartlar altında antitümör aktivitesine sahiptir. Doğuştan ve adaptif (sonradan kazanılmış) olarak ikiye ayrılan immün sistem mekanizmaları tümör hücrelerini tanır ve anti-tümör yanıtı başlatarak, kanserojen etkiyi ortadan kaldırır. Bu, "tümör immün *sürveyansı*" olarak bilinmektedir (144-146). Bağışıklık sistemine kanser hücrelerini tanıma ve öldürme emri veren kanser immünterapisi, tümör hücrelerinin sistemik ve seçici bir şekilde yok edilmesinin yanı sıra, tekrarlayan hastalığa karşı koyabilen hafıza yanıtların oluşmasına da neden

olabilecek bir stratejidir (12). Bazı durumlarda ise, tümör hücreleri vücudun bağışıklık tepkisinden kaçmayı başarabilir. Hanahan ve Weinberg tarafından kanser hücrelerinin tümör mikroçevresindeki antitümör etkili T-hücre aktivitesini baskılayabilmesi, tümör progresyonunun en önemli özelliklerinden biri olarak tespit edilmiştir (147).

Kansere karşı normal immün sistem yanıtı:

- Tümörler, tümörle ilişkili antijenleri eksprese eder ve serbest bırakır. Antijen sunan hücreler bu antijenleri yakalar, işler ve bunları T hücrelerine sunar.

- *Ko-stimülator* sinyallerle, T hücresi aktivasyonu tamamlanır.

- T hücreleri aktivasyon sonrası çoğalır ve tümör hücrelerini tanıyabilen aktif T hücrelerine dönüşürler.

- T hücreleri aktive edildiğinde, sitotoksik T hücreleri, eksprese edilen tümör antijenini tanıyabilecekleri ve tümör hücrelerini yok edebilecekleri tümöre göç eder.

- Aktive T hücrelerin bir kısmı, gelecekte hızlı hücre aracılı immün yanıtın oluşturulmasında görevli olan hafıza T hücrelerine dönüşür (148,149).

2.5.1. Tümörün immün sistemden kaçış mekanizmaları

İmmün yıkımdan kurtulma yeteneği, gelişmekte olan bir kanserin göstergesidir. Tümör hücrelerinin immün sisteme karşı geliştirdiği farklı stratejiler mevcuttur:

• Tümör antijenleri: Tümör hücreleri yüzeylerindeki antijenlerin ekspresyonunu değiştirebilir veya kaybedebilir. Böylece tümör hücreleri, sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmaz (150).

• İmmünsüpresif faktörler: Doğal öldürücü (NK) hücreler veya sitotoksik T hücreleri inhibe etmek için immünsüpresif faktörlerin ekspresyonunu tetikleyebilir (150).

- İmmün kontrol noktası yolları: Tümör, bu yolları değiştirerek immün yanıtı kaçırabilir. Örnek olarak, tümör hücreleri kendi üzerinde efektör T hücreleri üzerindeki sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4) ve PD-1 gibi inhibitör reseptörler tarafından tanınan ligandları ekspres edebilir ve bu ligandların T hücre reseptörlerine bağlanması, T hücre aktivasyonunu inhibe eder (148-151).

Normal şartlar altında immün kontrol noktası yolları, immün dengenin korunmasından sorumludur. CTLA-4, PD-1 gibi immün kontrol noktası yolları gerekli olmadığı durumlarda T hücre yanıtını inhibe eder. CTLA-4, aktive T hücrelerinde ekspres edilen bir kontrol noktası molekülüdür. Aktive T hücreleri kontrol edilmezse normal doku ile reaksiyona girip hasar verebilir. Bu hasarı önlemek için T hücre aktivitesi, T hücrelerinin yüzeyindeki CTLA-4'ün ekspresyonu ile kontrol altında tutulur. CTLA-4 molekülü bu inhibisyonu, ligandı olan antijen sunan hücreler üzerindeki CD80 / 86'ya bağlanarak gerçekleştirir (151).

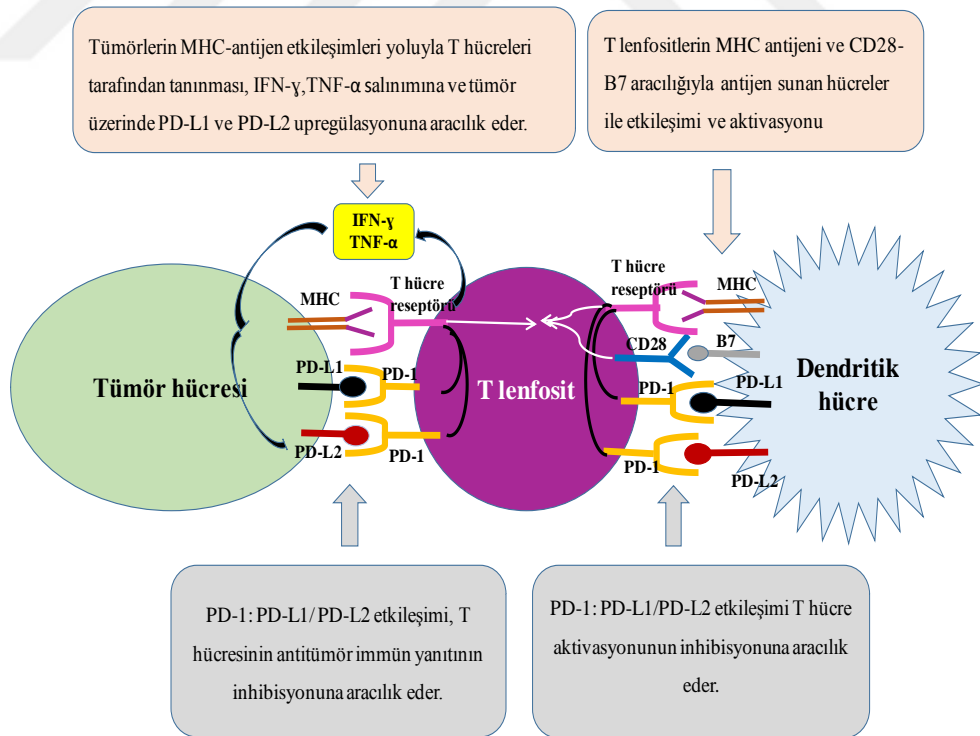
PD-1, immün yanıtın negatif düzenleyicisi olarak görev yapan başka bir kontrol noktası molekülüdür. PD-1 ilk olarak 1992 yılında fare T hücreli hibridoma ve lenfoid/myeloid progenitör hücre dizilerinde hücre ölümünü indükleyen transmembran proteini olarak tanımlanmıştır (152). PD-1, sitotoksik T hücreleri, B hücreleri ve NK hücrelerinin yüzeyinde bulunan immünglobulin süper ailesine ait protein yapısında bir membran reseptörüdür (153).

PD-1'in aksine, CTLA-4 sadece T hücrelerinde ekspres edilir. PD-1'in ana rolü, enflamatuar yanıt sırasında efektör T hücrelerinin aktivitesini sınırlamak ve otoimmüniteyi önlemektir (151). PD-1 eksikliği olan fareler üzerinde yapılan çalışmalarda glomerülonefrit, artrit ve kardiyomyopati şeklinde çeşitli immünopatolojiler geliştiği bildirilmiştir (154-156). Ayrıca T lenfositlerde yüksek PD-1 ekspresyonu otoimmün hastalıklar ve enflamatuar hastalıklarda iyi klinik seyir ile ilişkili bulunmuştur (157).

PD-1'in ligandı olan PD-L1, PD-1 reseptörüne bağlanarak immün sistemi baskılamada önemli rol oynayan transmembran proteindir. B7 homolog 1 (B7-H1) veya CD274 olarak da bilinen PD-L1, B7/CD28 *ko-stimülatör* faktör ailesinin önemli bir üyesidir. CD4+ ve CD8+ T hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve

düzenleyici T hücreleri dahil olmak üzere, diğer immün sistem hücrelerinin ve tümör hücrelerinin çoğunluğunda eksprese edildiği bilinen bir yüzey glikoproteinidir (158).

Normal koşullarda PD-L1, immün yanıtın dengesinin korunmasında görev alır. Bununla birlikte, tümör hücreleri aktive T hücrelerinin saldırısından kendilerini korumak için PD-L1 ekspresyonunu *up-regule* eden IFN- γ , TNF- α ve IL-10 gibi bazı immünsüpresif sitokinleri serbestleştirir. Ayrıca, PD-L1 molekülü *ko-inhibitör* özelliği sayesinde, reseptörü olan tümöre özgü T hücreleri üzerindeki PD-1'e bağlanarak T lenfositlerin apoptozuna yol açar ve böylece tümör hücrelerinin immün yanıtından kaçışına katkıda bulunur (159) (Şekil 2). Tümör hücresi yüzeyinde PD-L1 artışının, T hücrelerinin tümör hücrelerine saldırma yeteneğini etkili bir şekilde bloke ettiği gösterilmiştir (151,160). PD-L1'in BHRHK'da anormal şekilde eksprese edildiği ve PD-L1 pozitif tümörlü hastalarda kansere bağlı ölüm riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (161).



Şekil 2. Programlanmış ölüm antijeni-1/Programlanmış ölüm antijen ligandı-1 yolağı (162).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2011- Aralık 2017 yılları arasında radikal nefrektomi ve parsiyel nefrektomi materyallerinde raporlanan ve ilk kez BHRHK tanısı alan 103 olgu dahil edildi. Tüm olgulara ait materyallerden %10 tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edilerek takibe alınan ve parafine gömülü dokulardan elde edilen Hematoksilen-Eozin boyalı kesitler Fuhrman nükleer derece, sarkomatoid diferansiyasyon, rabdoid diferansiyasyon, nekroz, mikrovasküler invazyon (MVI), renal kapsül invazyonu (RKİ), perirenal yağ doku invazyonu (PRYDİ), renal sinüs invazyonu (RSİ), renal pelvis invazyonu (RPİ), üreter invazyonu, renal ven invazyonu, adrenal bez invazyonu, lenf nodu metastazı ve üreter invazyonu açısından tekrar incelendi. Ayrıca olguların tümünde patolojik T evresi 2010 DSÖ sınıflamasına göre yeniden değerlendirildi. Olgulara ait yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör yerleşimi patoloji raporlarından elde edildi. Lokal rekürrens, uzak metastaz, takip süresi, genel sağkalım (OS), progresyonsuz sağkalım (PFS), sağkalım-ölüm durumu ile ilgili bilgiler olgulara ait hasta dosyalarından elde edildi.

Olguların tümünde doku boyutu, yeterliliği, tespit ve takip kalitesi göz önünde bulundurularak tümörün ve TİL'lerin en yoğun olduğu, immünohistokimyasal incelemeye uygun doku blokları seçildi. İmmünohistokimyasal inceleme için seçilen parafin bloklardan 3 mikron kalınlığında kesitler *poli-L-lizini* lamlara alındı. Sonrasında ilk deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde 56-60 °C sıcaklıkta bekletildi. Daha sonra kesitler antijen retrieval işlemi de dahil olmak üzere tüm boyama aşamalarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA, Benchmark Ultra, Ventana Medical Systems, USA) boyandı. Her bir olguya ait kesitlere primer antikor olarak HIF-1 α fare monoklonal antikor (Dilüsyon: 1/100, Klon: H1 α 67, Katolog No: BT-MCA0769, Bioassay Technology Laboratory, China), HIF-2 α (EPAS1) tavşan poliklonal antikor (Dilüsyon: 1/100, Katolog No: BT-AP02985 Bioassay Technology Laboratory, China), PD-1 fare monoklonal antikor (Kullanıma hazır, Klon: NAT105, Katolog No: 760-4895, Cell Marque, Germany), PD-L1 tavşan

monoklonal antikoru (Kullanıma hazır, Klon: SP142, Katolog No: 740-4859, Ventana, USA) damlatılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Kesitler artan oranlarda alkol solüsyonlarından geçirilerek rehidrate edildi. Kesitlerin zıt boyanması Harris Hematoksilen ile yapıldı. Havada kurutulduktan sonra ksilene daldırılıp çıkarıldıktan sonra entellan ile kapatıldı.

HIF-1 α için pozitif kontrol olarak tümör içermeyen meme dokusu, HIF-2 α , PD-1 ve PD-L1 için pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanıldı. HIF-1 α ile sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma, HIF-2 α ile nükleer boyanma, PD-1 ile TİL’lerde membranöz boyanma, PD-L1 ile tümör hücrelerinde membranöz, TİL’lerde sitoplazmik granüler boyanma pozitif kabul edildi. Tümör hücrelerinde PD-1 ile boyanma görülmediği için değerlendirme yapılamadı. İmmünohistokimya boyama sonrası tüm örnekler ışık mikroskopunda (NİKON Eclipse CI), x400 büyütmede değerlendirildi.

Tablo 7. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri

İmmünohistokimyasal Belirteç	Klon	Marka	Dilüsyon	Pozitif Kontrol
HIF-1 α	H1 α 67, Fare monoklonal	Novus	1/100	Meme
HIF-2 α	Tavşan poliklonal	Novus	1/100	Tonsil
PD-1	NAT105, Fare monoklonal	Cell Marque	Kullanıma hazır	Tonsil
PD-L1	SP142, Fare monoklonal	Ventana	Kullanıma hazır	Tonsil

HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu tümör hücrelerinde değerlendirildi. HIF-1 α ve HIF-2 α antikorumları için boyanma değerlendirilirken her olguda seçilen örneklere ait kesitin tamamı incelenerek, ekspresyon gösteren tümör hücrelerinin tüm kesitteki tümör hücrelerine oranı ve ekspresyon yoğunluğu aşağıdaki gibi skorlandı :

- Ekspresyon oranı; 0: %0, 1: %1-10, 2: %11-50, 3: %51-90, 4: %91-100

- Ekspresyon yoğunluğu; 0: negatif, 1: (+), 2: (++), 3: (+++)

- Bu iki kategoriye ait skorların çarpımı sonucunda histoscore (H-skoru) (0-12) elde edildi.

- Medyan değer, HIF-1 α ve HIF-2 α için eşik değer olarak kabul edildi ve buna göre;

- HIF-1 α ekspresyonu için H-skor < 4 ise düşük ekspresyon, H-skor \geq 4 ise yüksek ekspresyon;

- HIF-2 α ekspresyonu için H-skor < 3 ise düşük ekspresyon, H-skor \geq 3 ise yüksek ekspresyon olarak değerlendirildi.

PD-1 ile tümör hücrelerinde ekspresyon izlenmemesi nedeniyle sadece TİL'lerde değerlendirme yapıldı. PD-L1 ekspresyonu hem tümör hücreleri hem TİL'lerde değerlendirildi. Her iki belirteç için, ekspresyon durumu ve ekspresyon yoğunluğu ayrı iki kategori halinde skorlandı:

- Ekspresyon durumu için %1 ve %5 olmak üzere iki farklı eşik değer kullanılarak değerlendirme yapıldı:

- Eşik değer %1 iken; <%1: negatif, \geq %1: pozitif

- Eşik değer %5 iken; <%5: negatif, \geq %5: pozitif

- Ekspresyon yoğunluğu:

- 0: negatif, 1: (+), 2: (++), 3: (+++) şeklinde skorlandı.

3.1. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler, SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software, Armonk, NY: IBM Corp.) paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (minimum ve maksimum değerler), kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise “Ki-kare” analizi ile incelendi. Sağkalım analizlerinde, “Kaplan-Meier” testi kullanılarak bağımsız grupların sağkalım farklılıkları için Log Rank yöntemi kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



BULGULAR

4.1. KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 103 olgudan 66 olguya (%64,1) radikal nefrektomi, 37 olguya (%35,9) parsiyel nefrektomi prosedürü uygulanmıştı. Olguların yaş ortalaması $60,8 \pm 12,5$ (27-81) yıl idi. Yüz üç olgunun 58'i (%56,3) 65 yaş altında, 45'i (%43,7) 65 yaş veya üzerinde idi. Olguların 70'i (%68) erkek, 33'ü (%32) kadın idi. Tümör, olguların 57'sinde (%55,3) sol böbrek, 46'sında (%44,7) sağ böbrekte yerleşim göstermekteydi. Tümör çapı 1,5 cm ile 17 cm arasında değişmekte olup, ortalama tümör çapı $5,7 (\pm 2,9)$ cm olarak ölçüldü.

2010 TNM evreleme sistemine göre patolojik evrelemesi yapılan olgulardan 61'i (%59,2) pT1, 11'i (%10,2) pT2, 30'u (%29,1) pT3 ve sadece 1'i (%1) pT4 olarak değerlendirildi.

Olguların 28'inde (%27,2) nükleer derece 1, 41'inde (%39,8) nükleer derece 2, 26'sında (%25,2) nükleer derece 3, 8'inde (%7,8) nükleer derece 4 idi.

Olguların 4'ünde (%3,9) sarkomatoid diferansiyasyon, 1'inde (%0,9) rabdoid diferansiyasyon izlendi. Yüz üç olgudan 43'ünde (%41,7) nekroz var iken, 60'ında (%58,3) nekroz görülmedi. MVI 7 olguda (%6,8), RKİ 11 olguda (%10,7), PRYDİ 19 olguda (%18,4) tespit edildi.

Radikal nefrektomi yapılan 66 olgu RSİ ve RPİ açısından değerlendirildiğinde, RSİ 25 (%37,9) olguda, RPİ 4 (%6,1) olguda tespit edildi. Altmış altı olgunun birinde üretere koopere olunamadığı için değerlendirilememiş olup, 65 olgudan sadece 1'inde (%1,5) ureter invazyonu saptandı. Değerlendirilebilen 62 olgudan 1'inde (%1,6) renal ven invazyonu tespit edildi. Adrenal bez rezeksiyonu yapılan 20 olgudan 2'sinde (%10) adrenal bez invazyonu mevcuttu. Lenf nodu diseksiyonu uygulanan 4 olgudan 1'inde (%25) lenf nodu metastazı saptandı.

Yüz üç olgudan post-operatif takibi yapılabilen 98 olgunun 10'unda (%10,2) lokal rekürrens, 26'sında (%26,5) uzak metastaz tespit edildi. Uzak metastaz

saptanan 26 olgunun 17'sinde (%65,3) farklı odaklarda tümör metastazı izlendi. En sık metastaz izlenen organ, olguların 18'inde (%31,5) akciğer idi. Metastazın izlendiği diğer bölgeler sırasıyla olguların 9'unda kemik (%15,7), 6'sında karaciğer (%10,5), 4'ünde beyin (%7,01), 4'ünde adrenal bez (%7,01), 3'ünde mesane (%5,2), 3'ünde pankreas (%5,2), 2'sinde periton (%3,5), 1'inde prostat (%1,7), 1'inde serebellum (%1,7), 1'inde dalak (%1,7), 1'inde tiroid (%1,7), 1'inde deri (%1,7), 1'inde plevra (%1,7), 1'inde parasternal bölge (%1,7) ve 1'inde psoas kası (%1,7) idi.

Sarkomatoid diferansiyasyon, rabdoid diferansiyasyon, MVİ, RPİ, üreter invazyonu, renal ven invazyonu, adrenal bez invazyonu ve lenf nodu metastazı izlenen olgu sayısının az olması nedeniyle bu histopatolojik bulgularla ilgili istatistiksel olarak değerlendirme yapılamadı.

Çalışmaya dahil edilen olgulara ait klinikopatolojik parametreler, Tablo 8'de özetlenmiştir.

Tablo 8. Çalışmaya dahil edilen olgulara ait klinikopatolojik parametreler

Klinikopatolojik parametreler		Olgu sayısı ve oranı (n/%)
Yaş	65 yaş altı	58 (%56,3)
	65 yaş veya üzeri	45 (%43,7)
Cinsiyet	Erkek	70 (%68)
	Kadın	33 (%32)
Tümör çapı	< 4 cm	22 (%21,4)
	≥ 4 cm	81 (%78,6)
Patolojik Evre	pT1	61 (%59,2)
	pT2	11 (%10,7)
	pT3	30 (%29,1)
	pT4	1 (%0,9)
Nükleer Derece	Derece 1	28 (%27,2)
	Derece 2	41 (%39,8)
	Derece 3	26 (%25,2)
	Derece 4	8 (%7,8)
Sarkomatoid Diferansiyasyon	Var	4 (%3,9)
	Yok	99 (%96,1)
Rabdoid Diferansiyasyon	Var	1 (%0,9)
	Yok	102 (%99)
Nekroz	Var	43 (%41,7)
	Yok	60 (%58,3)
MVİ	Var	7 (%6,8)
	Yok	96 (%93,2)
RKİ	Var	11 (%10,7)
	Yok	92 (%89,3)
PRYDİ	Var	19 (%18,4)
	Yok	84 (%81,6)
RSİ	Var	25 (%37,9)
	Yok	41 (%62,1)
RPİ	Var	4 (%6,1)
	Yok	62 (%93,9)
Üreter İnvazyonu	Var	1 (%1,5)
	Yok	64 (%98,5)
Renal ven İnvazyonu	Var	1 (%1,6)
	Yok	61 (%98,4)
Adrenal bez İnvazyonu	Var	2 (%10)
	Yok	18 (%90)
Lenf nodu Metastazı	Var	1 (%25)
	Yok	3 (%75)
Lokal rekürrens	Var	10 (%10,2)
	Yok	88 (%89,8)
Uzak metastaz	Var	27 (%27,5)
	Yok	71 (%72,5)
Progresyon	Var	30 (%30,6)
	Yok	68 (%69,4)

MVİ: Mikrovasküler İnvazyon, RKİ: Renal Kapsül İnvazyonu, PRYDİ: Perirenal Yağ Doku İnvazyonu, RSİ: Renal Sinüs İnvazyonu, RPİ: Renal Pelvis İnvazyonu

4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

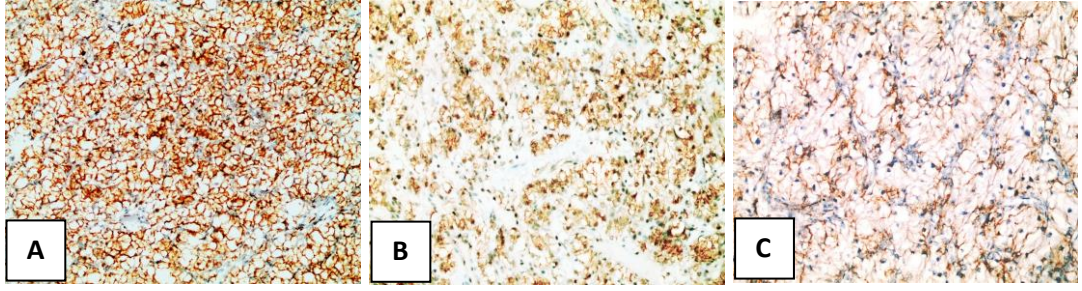
HIF-1 α ile 103 olgudan 27'sinde (%26,2) düşük ekspresyon, 61'inde (%59,2) yüksek ekspresyon saptandı (Resim 2). Onbeş olguda (%14,6) HIF-1 α negatif tespit edildi.

HIF-2 α ile 103 olgudan 20'sinde (%19,4) düşük ekspresyon, 63'ünde (%61,2) yüksek ekspresyon saptandı (Resim 3). Yirmi olguda (%19,4) HIF-2 α negatif tespit edildi.

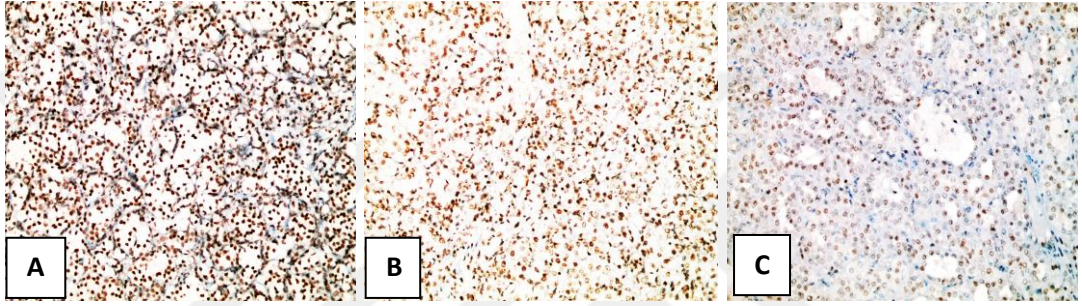
Eşik değer %1 ve %5 alındığında her iki durumda tümör hücrelerinde PD-1 ekspresyonu saptanmadı. Eşik değer %1 olarak alındığında, olguların 54'ünde (%52,4) TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenirken, olguların 49'unda (%47,6) TİL'lerde PD-1 negatif tespit edildi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 54 olgudan 42'sinde (%77,8) (+) boyanma, 10'unda (%18,5) (++) boyanma, 2'sinde (%3,7) (++++) boyanma saptandı. Eşik değer %5 olarak alındığında, olguların 30'unda (%29,1) TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenirken, olguların 73'ünde (%70,9) TİL'lerde PD-1 negatif saptandı. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 30 olgudan 20'sinde (%66,7) (+) boyanma, 8'inde (%26,7) (++) boyanma, 2'sinde (%6,6) (++++) boyanma izlendi (Resim 4).

Eşik değer %1 olarak alındığında, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu olguların 3'ünde; eşik değer %5 olarak alındığında, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu olguların 1'inde izlendi (Resim 5).

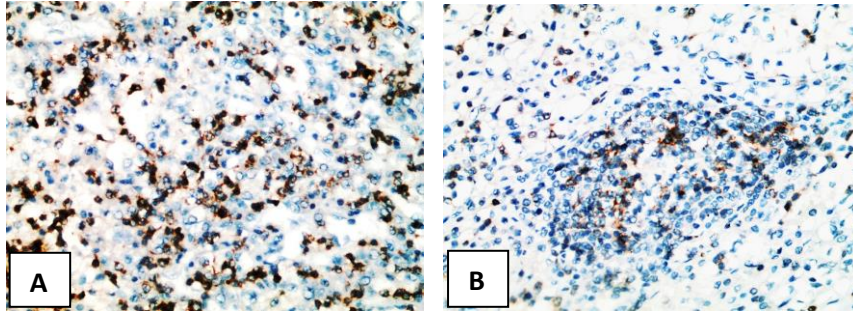
Eşik değer %1 olarak alındığında, olguların 37'sinde (%35,9) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenirken, olguların 66'sında (%64,1) TİL'lerde PD-L1 negatif saptandı. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen 37 olgudan 21'inde (%56,8) (+) boyanma, 2'sinde (%5,4) (++) boyanma, 14'ünde (%37,8) (++++) boyanma tespit edildi. Eşik değer %5 olarak alındığında, olguların 16'sında (%15,5) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenirken, olguların 87'sinde (%84,5) TİL'lerde PD-L1 negatif saptandı. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen 16 olgudan 2'sinde (%12,5) (++) boyanma, 14'ünde (%87,5) (++++) boyanma izlendi (Resim 6).



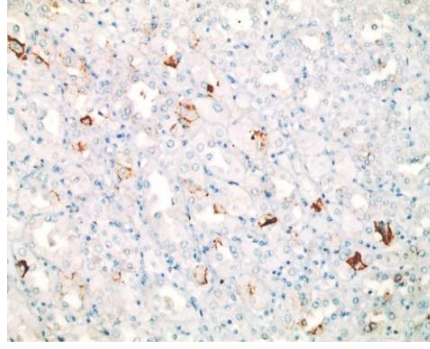
Resim 2. Tümör hücrelerinde HIF-1 α ile membranöz ve sitoplazmik ekspresyon **A)** (+++) HIF-1 α ekspresyonu (x200); **B)** (++) HIF-1 α ekspresyonu (x200); **C)** (+) HIF-1 α ekspresyonu (x200).



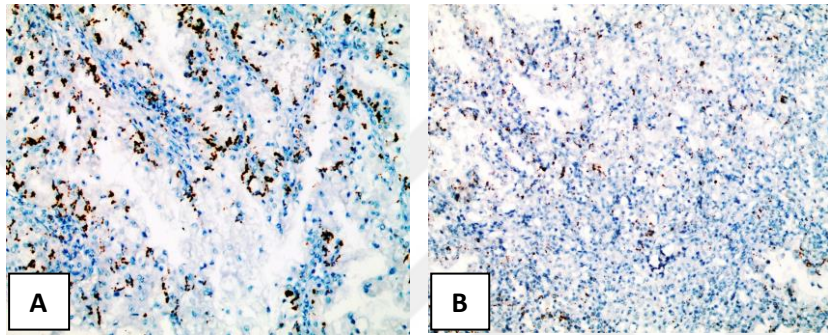
Resim 3. Tümör hücrelerinde HIF-2 α ile nükleer ekspresyon **A)** (+++) HIF-2 α ekspresyonu (x200); **B)** (++) HIF-2 α ekspresyonu (x200); **C)** (+) HIF-2 α ekspresyonu (x200).



Resim 4. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ile membranöz ekspresyon **A)** (+++) PD-1 ekspresyonu (x400); **B)** (+) PD-1 ekspresyonu (x400).



Resim 5. Tümör hücrelerinde PD-L1 ile membranöz ekspresyon (x200).



Resim 6. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ile sitoplazmik granüler ekspresyon **A)** (+++) PD-L1 ekspresyonu (x400); **B)** (+) PD-L1 ekspresyonu (x200).

İmmünohistokimyasal belirteçlerin BHRHK tanılı olgulardaki ekspresyon durumları Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. İmmünohistokimyasal belirteçlerin ekspresyon durumları

İmmünohistokimyasal belirteç	Ekspresyon Durumu	Olgu sayısı ve oranı (n, %)
HIF-1α Ekspresyonu	Yüksek	27 (%26,2)
	Düşük	61 (%59,2)
	Negatif	15 (%14,6)
HIF-2α Ekspresyonu	Yüksek	20 (%19,4)
	Düşük	63 (%61,2)
	Negatif	20 (%19,4)
TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)	Pozitif	54 (%52,4)
	Negatif	49 (%47,6)
TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %5)	Pozitif	30 (%29,1)
	Negatif	73 (%70,9)
TİL'lerde PD-1 Ekspresyon Yoğunluğu (Eşik değer: %1)	(+)	42 (%77,8)
	(++)	10 (%18,5)
	(+++)	2 (%3,7)
TİL'lerde PD-1 Ekspresyon Yoğunluğu (Eşik değer: %5)	(+)	20 (%66,7)
	(++)	8 (%26,7)
	(+++)	2 (%6,6)
TİL'lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)	Pozitif	37 (%35,9)
	Negatif	66 (%64,1)
TİL'lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değer: %5)	Pozitif	16 (%15,5)
	Negatif	87 (%84,5)
TİL'lerde PD-L1 Ekspresyon Yoğunluğu (Eşik değer: %1)	(+)	21 (%56,8)
	(++)	2 (%5,4)
	(+++)	14 (%37,8)
TİL'lerde PD-L1 Ekspresyon Yoğunluğu (Eşik değer: %5)	(+)	0 (%0)
	(++)	2 (%12,5)
	(+++)	14 (%87,5)

HIF-1 α : Hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α , HIF-2 α : Hipoksi-indüklenebilir faktör-2 α , TİL: Tümörü infiltre eden lenfosit, PD-1: Programlanmış ölüm antijeni-1, PD-L1: Programlanmış ölüm antijen ligandı-1

TİL'lerde PD-1 ekspresyon yoğunluğu, TİL'lerde PD-L1 ekspresyon yoğunluğu ve tümörde PD-L1 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler ve immünohistokimyasal belirteçler arasında olgu sayısının kısıtlı olması nedeniyle istatistiksel olarak analiz yapılamadı.

4.3. PATOLOJİK EVRE İLE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Yetmiş erkek olgunun 35'inde (%50) pT1, 10'unda (%14,3) pT2, 24'ünde (%34,3) pT3, 1'inde (%1,4) pT4 idi. Otuz üç kadın olgunun 26'sında (%78,8) pT1, 1'inde (%3) pT2, 6'sında (%18,2) pT3 idi. Cinsiyet ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,026$). Kadınlarda, erkeklere göre tümörün daha erken evrede olduğu tespit edildi.

Nükleer derece ile patolojik evre karşılaştırıldığında; nükleer derecesi 1 olan 28 olgunun 25'i (%89,3) pT1, 1'i (%3,6) pT2, 2'si (%7,1) pT3 idi. Nükleer derecesi 2 olan 41 olgunun 23'ü (%56,1) pT1, 5'i (%12,2) pT2, 12'si (%29,3) pT3, 1'i (%2,4) pT4 olarak saptandı. Nükleer derecesi 3 olan 26 olgudan 10'u (%38,5) pT1, 5'i (%19,2) pT2, 11'i (%42,3) pT3 idi. Nükleer derecesi 4 olan 8 olgudan 3'ü (% 37,5) pT1, 5'i (%62,5) pT3 idi. Nükleer derece ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,005$). Nükleer derecesi yüksek olan olgular daha ileri patolojik evrede idi.

Nekroz bulunan 43 olgudan 14'ü (%32,6) pT1, 8'i (%18,6) pT2, 20'si (%46,5) pT3, 1'i (%2,3) pT4 iken, nekroz bulunmayan 60 olgudan 47'si (%78,3) pT1, 3'ü (%5) pT2, 10'u (%16,7) pT3 idi. Nekroz ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0,00$). Nekroz bulunan olgularda patolojik evre, nekroz bulunmayan olgulara göre daha ileri idi.

RKİ bulunan 11 olgudan 2'si (%18,2) pT1, 1'i (%9,1) pT2, 8'i (%72,7) pT3 iken, RKİ bulunmayan 92 olgudan 59'u (%64,1) pT1, 10'u (%10,9) pT2, 22'si (%23,9) pT3, 1'i (%1,1) pT4 tespit edildi. RKİ ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,012$). RKİ varlığı, ileri patolojik evre ile ilişkili bulundu.

PRYDİ bulunan 19 olgudan 1'i (%5,3) pT1, 17'si (%89,5) pT3, 1'i (%5,3) pT4 iken, PRYDİ bulunmayan 84 olgudan 60'ı (%71,4) pT1, 11'i (%13,1) pT2, 13'ü (%15,5) pT3 olarak tespit edildi. PRYDİ ile patolojik evre arasında istatistiksel

olarak anlamlı ilişki mevcuttu ($p=0,00$). PRYDİ eşlik eden olgularda evre daha yüksekti.

RSİ izlenen 25 olgudan 24'ü (%96) pT3, 1'i (%4) pT4 iken, RSİ izlenmeyen 41 olgudan 27'sinde (%65,9) pT1, 9'unda (%22) pT2, 5'inde (%12,2) pT3 saptandı. RSİ ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0,00$). RSİ bulunan olgularda daha ileri patolojik evre izlendi.

Lokal rekürrens ile ilgili bilgilerine ulaşılabilen 97 olgu mevcut olup, lokal rekürrens gösteren 10 olgudan 1'i (%10) pT1, 3'ü (%30) pT2, 6'sı (%60) pT3 iken, lokal rekürrens göstermeyen 87 olgudan 55'i (%63,2) pT1, 7'si (%8) pT2, 24'ü (%27,6) pT3, 1'i (%1,1) pT4 idi. Lokal rekürrens ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttu ($p=0,003$). Lokal rekürrens izlenen olgularda patolojik evrenin daha ileri olduğu görüldü.

Uzak metastaz görülen 26 olgunun 4'ü (%15,4) pT1, 3'ü (%11,5) pT2, 19'u (%73,1) pT3 iken; uzak metastaz görülmeyen 72 olgudan 52'si (%72,2) pT1, 8'i (%11,1) pT2, 11'i (15,3) pT3, 1'i (%1,4) pT4 olarak tespit edildi. Uzak metastaz ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,00$). Uzak metastaz görülen olgularda patolojik evre daha ileri idi.

Progresyon gösteren 30 olgudan 5'i (%16,7) pT1, 5'i (%16,7) pT2, 20'si (%66,7) pT3 iken, progresyon göstermeyen 68 olgudan 51'i (%75) pT1, 6'sı (%8,8) pT2, 10'u (%14,7) pT3, 1'i (%1,5) pT4 idi. Progresyon durumu ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,00$). Progresyon gösteren olguların daha ileri patolojik evrede olduğu görüldü.

Patolojik evre ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p=0,864$).

Çalışmamızda yer alan BHRHK tanılı olgularda patolojik evre ile klinikopatolojik parametreler arasında yapılan istatistiksel analiz sonuçları, Tablo 10'da ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

Tablo 10. Patolojik evre ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

Klinikopatolojik parametreler		Patolojik Evre				p değeri
		pT1	pT2	pT3	pT4	
Yaş	65 yaş altı	36 (%62,1)	6 (%10,3)	16 (%27,6)	0 (%0)	0,864
	65 yaş veya üzeri	25 (%55,6)	5 (%11,1)	14 (%31,1)	1 (%2,2)	
Cinsiyet	Erkek	35 (%50)	10 (%14,3)	24 (%34,3)	1 (%1,4)	0,026
	Kadın	26 (%78,8)	1 (%3)	6 (%18,2)	0 (%0)	
Nükleer Derece	Derece 1	25 (%89,3)	1 (%3,6)	2 (%7,1)	0 (%0)	0,005
	Derece 2	23 (%56,1)	5 (%12,2)	12 (%29,3)	1 (%2,4)	
	Derece 3	10 (%38,5)	5 (%19,2)	11 (%42,3)	0 (%0)	
	Derece 4	3 (%37,5)	0 (%0)	5 (%62,5)	0 (%0)	
Nekroz	Var	14 (%32,6)	8 (%18,6)	20 (%46,5)	1 (%2,3)	0,00
	Yok	47 (%78,3)	3 (%5)	10 (%16,7)	0 (%0)	
RKİ	Var	2 (%18,2)	1 (%9,1)	8 (%72,7)	0 (%0)	0,012
	Yok	59 (64,1)	10 (%10,9)	22 (%23,9)	1 (%1,1)	
PRYDİ	Var	1 (%5,3)	0 (%0)	17 (%89,5)	1 (%5,3)	0,00
	Yok	60 (%71,4)	11 (%13,1)	13 (%15,5)	0 (%0)	
RSİ	Var	0 (%0)	0 (%0)	24 (%96)	1 (%4)	0,00
	Yok	27 (%65,9)	9 (%22)	5 (%12,2)	0 (%0)	
Lokal rekürrens	Var	1 (%10)	3 (%30)	6 (%60)	0 (%0)	0,003
	Yok	55 (%63,2)	7 (%8)	24 (%27,6)	1 (%1,1)	
Uzak metastaz	Var	4 (%15,4)	3 (%11,5)	19 (%73,1)	0 (%0)	0,00
	Yok	52 (%72,2)	8 (%11,1)	11 (%15,3)	1 (%1,4)	
Progresyon	Var	5 (%16,7)	5 (%16,7)	20 (%66,7)	0 (%0)	0,00
	Yok	51 (%75)	6 (%8,8)	10 (%14,7)	1 (%1,5)	

RKİ: Renal Kapsül İnvazyonu, PRYDİ: Perirenal Yağ Doku İnvazyonu, RSİ: Renal Sinüs İnvazyonu

4.4. PATOLOJİK EVRE İLE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Patolojik evre ile HIF-1 α ekspresyonu ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla p=0,985; p=0,487).

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (sırasıyla p=0,13; p=0,998).

Eşik değeri %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,779$; $p=0,094$).

4.5. NÜKLEER DERECE İLE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Yetmiş erkek olgunun 14'ünde (%20) nükleer derece 1, 29'unda (%41,4) nükleer derece 2, 22'sinde (%31,4) nükleer derece 3, 5'inde (%7,1) nükleer derece 4 idi. Otuz üç kadın olgunun 14'ünde (%42,4) nükleer derece 1, 12'sinde (%36,4) nükleer derece 2, 4'ünde (%12,1) nükleer derece 3, 3'ünde (%9,1) nükleer derece 4 idi. Bu bulgular ışığında nükleer derece ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi ($p=0,048$). Kadınlarda, erkeklere göre tümörün daha düşük nükleer dereceye sahip olduğu görüldü.

Tümör çapı 4 cm altı, 4 cm veya üzeri şeklinde iki gruba ayrıldığında, tümör çapı 4 cm'nin altında olan 22 olgunun 11'inde (%50) nükleer derece 1, 9'unda (%40,9) nükleer derece 2, 2'sinde (%9,1) nükleer derece 3 iken; tümör çapı 4 cm veya üzeri olan 81 olgudan 17'sinde (%21) nükleer derece 1, 32'sinde (%39,5) nükleer derece 2, 24'ünde (%29,6) nükleer derece 3, 8'inde (%9,9) nükleer derece 4 idi. Tümör çapı ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0,007$). Tümör çapı küçük olan olgularda, tümör çapı büyük olan olgulara göre tümörün daha düşük nükleer dereceye sahip olduğu tespit edildi.

Nekroz bulunan 43 olgudan 4'ünde (%9,3) nükleer derece 1, 15'inde (%34,9) nükleer derece 2, 18'inde (%41,9) nükleer derece 3, 6'sında (%14) nükleer derece 4 idi. Nekroz bulunmayan 60 olgudan 24'ünde (%40) nükleer derece 1, 26'sında (%43,3) nükleer derece 2, 8'inde (%13,3) nükleer derece 3, 2'sinde (%3,3) nükleer derece 4 idi. Nekroz ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,00$). Nekroz bulunan olgularda nükleer derece, nekroz bulunmayan olgulara göre daha yüksek izlendi.

RKİ bulunan 11 olgudan 4'ünde (%36,4) nükleer derece 2, 5'inde (%45,5) nükleer derece 3, 2'sinde (%18,2) nükleer derece 4 saptanırken, RKİ bulunmayan 92 olgudan 28'inde (%30,4) nükleer derece 1, 37'sinde (%40,2) nükleer derece 2, 21'inde (%22,8) nükleer derece 3, 6'sında (%6,5) nükleer derece 4 olarak saptandı. RKİ ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttu ($p=0,025$). RKİ varlığı daha yüksek nükleer derece ile ilişkiliydi.

PRYDİ izlenen 19 olgudan 5'inde (%26,3) nükleer derece 2, 10'unda (%52,6) nükleer derece 3, 4'ünde (%21,2) nükleer derece 4 iken, PRYDİ izlenmeyen 84 olgudan 28'inde (%33,3) nükleer derece 1, 36'sında (%42,9) nükleer derece 2, 16'sında (%19) nükleer derece 3, 4'ünde (%4,8) nükleer derece 4 olarak saptandı. PRYDİ ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttu ($p=0,00$). PRYDİ eşlik eden olgularda nükleer derece daha yüksek saptandı.

Uzak metastaz görülen 26 olgunun 3'ünde (%11,5) nükleer derece 1, 7'sinde (%26,9) nükleer derece 2, 10'unda (%38,5) nükleer derece 3, 6'sında (%23,1) nükleer derece 4 iken, uzak metastaz görülmeyen 72 olgudan 23'ünde (%31,9) nükleer derece 1, 31'inde (%43,1) nükleer derece 2, 16'sında (%22,2) nükleer derece 3, 2'sinde (%2,8) nükleer derece 4 idi. Uzak metastaz ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,002$). Uzak metastaz görülen olgularda nükleer derece daha yüksek saptandı.

Progresyon gösteren 30 olgudan 3'ünde (%10) nükleer derece 1, 10'unda (%33,3) nükleer derece 2, 11'inde (%36,7) nükleer derece 3, 6'sında (%20) nükleer derece 4 iken, progresyon göstermeyen 68 olgudan 23'ünde (%33,8) nükleer derece 1, 28'inde (%41,2) nükleer derece 2, 15'inde (%22,1) nükleer derece 3, 2'sinde (%2,9) nükleer derece 4 olarak tespit edildi. Progresyon durumu ile nükleer derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,003$). Progresyon varlığında daha yüksek nükleer derece izlendi.

Nükleer derece ile yaş, RSİ ve lokal rekürrens arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,371$; $p=0,149$; $p=0,59$).

Çalışmamızda yer alan BHRHK tanılı olgularda nükleer derece ile klinikopatolojik parametreler arasında yapılan istatistiksel analiz sonuçları Tablo 11’de ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

Tablo 11. Nükleer derece ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

Klinikopatolojik parametreler		Nükleer Derece				p değeri
		Derece 1	Derece 2	Derece 3	Derece 4	
Yaş	65 yaş altı	18 (%31)	22 (%37,9)	12 (%20,7)	6 (%10,3)	0,371
	65 yaş veya üzeri	10 (%22,2)	19 (%42,2)	14 (%31,1)	2 (%4,4)	
Cinsiyet	Erkek	14 (%20)	29 (%41,4)	22 (%31,4)	5 (%7,1)	0,048
	Kadın	14 (%42,4)	12 (%36,4)	4 (%12,1)	3 (%9,1)	
Tümör çapı	< 4 cm	11 (%50)	9 (%40,9)	2 (%9,1)	0 (%0)	0,007
	≥ 4 cm	17 (%21)	32 (%39,5)	24 (%29,6)	8 (%9,9)	
Nekroz	Var	4 (%9,3)	15 (%34,9)	18 (%41,9)	6 (%14)	0,00
	Yok	24 (%40)	26 (%43,3)	8 (%13,3)	2 (%3,3)	
RKİ	Var	0 (%0)	4 (%36,4)	5 (%45,5)	2 (%18,2)	0,025
	Yok	28 (%30,4)	37 (%40,2)	21 (%22,8)	6 (%6,5)	
PRYDİ	Var	0 (%0)	5 (%26,3)	10 (%52,6)	4 (%21,2)	0,00
	Yok	28 (%33,3)	36 (%42,9)	16 (%19)	4 (%4,8)	
RSİ	Var	2 (%8)	9 (%36)	9 (%36)	5 (%20)	0,149
	Yok	6 (%14,6)	22 (%53,7)	11 (%26,8)	2 (%4,9)	
Lokal rekürrens	Var	2 (%20)	4 (%40)	2 (%20)	2 (%20)	0,59
	Yok	26 (%28)	37 (%39,8)	24 (%25,8)	6 (%6,5)	
Uzak metastaz	Var	3 (%11,5)	7 (%26,9)	10 (%38,5)	6 (%23,1)	0,002
	Yok	23 (%31,9)	31 (%43,1)	16 (%22,2)	2 (%2,8)	
Progresyon	Var	3 (%10)	10 (%33,3)	11 (%36,7)	6 (%20)	0,003
	Yok	23 (%33,8)	28 (%41,2)	15 (%22,1)	2 (%2,9)	

RKİ: Renal Kapsül İnvazyonu, PRYDİ: Perirenal Yağ Doku İnvazyonu, RSİ: Renal Sinüs İnvazyonu

4.6. NÜKLEER DERECE İLE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Nükleer derece ile HIF-1 α ekspresyonu ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla p=0,629; p=0,116).

Eşik değeri %1 olarak alındığında, nükleer derece ile TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,07$; $p=0,116$).

Eşik değeri %5 olarak alındığında, nükleer derece ile TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,056$; $p=0,826$).

Eşik değeri %1 olarak alındığında, 103 olgudan 3'ünde, eşik değeri %5 olarak alındığında 103 olgudan sadece 1'inde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenmiş olduğundan istatistiksel olarak değerlendirme yapılamadı. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenen üç olgudan 2'sinde evre pT2, birinde pT1; 2'sinde nükleer derece 3, 1'inde nükleer derece 2 idi.

4.7. İMMÜNİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER İLE DİĞER KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ

HIF-1 α ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSI, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,534$; $p=0,169$; $p=0,097$; $p=0,517$; $p=0,324$; $p=0,675$; $p=0,662$; $p=0,834$; $p=0,449$; $p=0,782$).

HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan 63 olgudan 19'unda (%30,2) tümör çapı 4 cm'in altında, 44'ünde (%69,8) tümör çapı 4 cm veya üzerinde; HIF-2 α ekspresyonu düşük olan 20 olgudan 1'inde (%5) tümör çapı 4 cm'in altında, 19'unda (%95) tümör çapı 4 cm veya üzerinde; HIF-2 α negatif 20 olgudan 2'sinde (%10) tümör çapı 4 cm'in altında, 18'inde (%90) tümör çapı 4 cm veya üzerinde idi. HIF-2 α ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,012$). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif olgulara göre tümör çapı daha küçük idi (Tablo 12).

Tablo 12. HIF-2 α ekspresyonu ile tümör çapı ilişkisi

Tümör çapı	HIF-2 α Ekspresyonu			Total
	Yüksek	Düşük	Negatif	
4 cm altı	19 (%30,2)	1 (%5)	2 (%10)	22 (%21,4)
4 cm veya üzeri	44 (%69,8)	19 (%95)	18 (%90)	81 (%78,6)
Total	63 (%100)	20 (%100)	20 (%100)	103 (%100)

HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan 63 olgudan 20'sinde (%31,7) nekroz var iken, 43'ünde (%68,3) nekroz yoktu. HIF-2 α ekspresyonu düşük olan 20 olgudan 8'inde (%40) nekroz var iken, 12'sinde (%60) nekroz yoktu. HIF-2 α negatif 20 olgudan 15'inde (%75) nekroz varken, 5'inde (%25) nekroz yok idi. HIF-2 α ekspresyonu ile nekroz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,003$). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif olgulara göre daha az oranda nekroz izlendi (Tablo 13).

Tablo 13. HIF-2 α ekspresyonu ile nekroz ilişkisi

Nekroz	HIF-2 α Ekspresyonu			Total
	Yüksek	Düşük	Negatif	
Var	20 (%31,7)	8 (%40)	15 (%75)	43 (%41,7)
Yok	43 (%68,3)	12 (%60)	5 (%25)	60 (%58,3)
Total	63 (%100)	20 (%100)	20 (%100)	103 (%100)

Progresyon durumu ile ilgili bilgilerine ulaşılabilen 98 olguda, HIF-2 α ekspresyonu ile progresyon arasındaki ilişki incelendiğinde, HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan 60 olgudan 13'ünde (%21,7) progresyon mevcut iken, 47'sinde (%78,3) progresyon yoktu. HIF-2 α ekspresyonu düşük olan 18 olgudan 9'unda (%50) progresyon mevcut iken, 9'unda (%50) progresyon yoktu. HIF-2 α negatif 20 olgudan 8'inde (%40) progresyon mevcut iken, 12'sinde (%60) progresyon yoktu. HIF-2 α ekspresyonu ile progresyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,043$). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif olgulara göre daha az oranda progresyon izlendi (Tablo 14).

Tablo 14. HIF-2 α ekspresyonu ile progresyon ilişkisi

Progresyon	HIF-2 α Ekspresyonu			Total
	Yüksek	Düşük	Negatif	
Var	13 (%21,7)	9 (%50)	8 (%40)	30 (%30,6)
Yok	47 (%78,3)	9 (%50)	12 (%60)	68 (%69,4)
Total	60 (%100)	18 (%100)	20 (%100)	98 (%100)

HIF-2 α ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,226$; $p=0,693$; $p=0,984$; $p=0,949$; $p=0,922$; $p=0,575$; $p=0,061$).

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 54 olgudan 28'inde (%51,9) nekroz var iken, 26'sında (%48,1) nekroz mevcut değildi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 49 olgudan 15'inde (%30,6) nekroz var iken, 34'ünde (%69,4) nekroz görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile nekroz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,029$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre nekroz görülme oranı daha fazla idi (Tablo 15).

Tablo 15. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile nekroz ilişkisi (Eşik değer: %1)

Nekroz	TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	28 (%51,9)	15 (%30,6)	43 (%41,7)
Yok	26 (%48,1)	34 (%69,4)	60 (%58,3)
Total	54 (%100)	49 (%100)	103 (%100)

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 54 olgudan 7'sinde (%13) MVİ var iken, 47'sinde (%87) MVİ mevcut değildi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 49 olgudan hiçbirinde (%0) MVİ görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile MVİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,013$). MVİ izlenen olguların tamamında PD-1 ekspresyonu mevcuttu (%100) (Tablo 16).

Tablo 16. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile MVI ilişkisi (Eşik değer: %1)

MVI	TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	7 (%13)	0 (%0)	7 (%6,8)
Yok	47 (%87)	49 (%100)	96 (%93,2)
Total	54 (%100)	49 (%100)	103 (%100)

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 51 olgudan 9'unda (%17,6) lokal rekürrens mevcut iken, 42'sinde (%82,4) lokal rekürrens izlenmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 46 olgudan 1'inde (%2,2) lokal rekürrens varken, 45'inde (%97,8) lokal rekürrens görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile lokal rekürrens varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi ($p=0,017$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda lokal rekürrens görülme oranı, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre daha yüksekti (Tablo 17).

Tablo 17. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile lokal rekürrens ilişkisi (Eşik değer: %1)

Lokal rekürrens	TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	9 (%17,6)	1 (%2,2)	10 (%10,3)
Yok	42 (%82,4)	45 (%97,8)	87 (%89,7)
Total	51 (%100)	46 (%100)	97 (%100)

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 52 olgudan 21'inde (%40,4) uzak metastaz saptanırken, 31'inde (%59,6) uzak metastaz görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 46 olgudan 5'inde (%10,9) uzak metastaz mevcut iken, 41'inde (%89,1) uzak metastaz izlenmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile uzak metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,001$). Uzak metastaz görülme oranı TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre daha yüksekti (Tablo 18).

Tablo 18. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile uzak metastaz ilişkisi (Eşik değer: %1)

Uzak metastaz	TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	21 (%40,4)	5 (%10,9)	26 (%26,5)
Yok	31 (%59,6)	41 (%89,1)	72 (%73,5)
Total	52 (%100)	46 (%100)	98 (%100)

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 52 olgudan 23'ünde (%44,2) progresyon mevcutken, 29'unda (%55,8) progresyon görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 46 olgudan 7'sinde (%15,2) progresyon saptanırken, 39'unda (%84,8) progresyon izlenmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile progresyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,002$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre progresyon görülme oranı daha yüksek tespit edildi (Tablo 19).

Tablo 19. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile progresyon ilişkisi (Eşik değer: %1)

Progresyon	TİL'lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	23 (%44,2)	7 (%15,2)	30 (%30,6)
Yok	29 (%55,8)	39 (%84,8)	68 (%69,4)
Total	52 (%100)	46 (%100)	98 (%100)

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, RKİ, PRYDİ, RSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,338$; $p=0,331$; $p=0,46$; $p=0,259$; $p=0,3$; $p=0,103$).

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler (yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki

saptanmadı (sırasıyla $p=0,963$; $p=0,093$; $p=0,754$; $p=0,516$; $p=0,503$; $p=0,412$; $p=0,806$; $p=1.000$; $p=0,248$; $p=0,134$).

Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen 37 olgudan 12'sinde (%32,4) tümör çapı 4 cm'nin altında iken, 25'inde (%67,6) tümör çapı 4 cm veya üzerinde idi. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen 66 olgudan 10'unda (%15,2) tümör çapı 4 cm'nin altında iken, 56'sında (%84,8) tümör çapı 4 cm veya üzerinde idi. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi ($p=0,040$). TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre tümör çapının daha küçük olduğu saptandı (Tablo 20).

Tablo 20. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör çapı ilişkisi (Eşik değeri: %1)

Tümör çapı	TİL'lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değeri: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
4 cm altı	12 (%32,4)	10 (%15,2)	22 (%21,4)
4 cm veya üzeri	25 (%67,6)	56 (%84,8)	81 (%78,6)
Total	37 (%100)	66 (%100)	103 (%100)

Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,112$; $p=0,414$; $p=0,818$; $p=0,196$; $p=0,926$; $p=0,096$; $p=0,492$; $p=0,794$; $p=0,993$).

Eşik değeri %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen 16 olgudan 6'sında (%37,5) PRYDİ saptanırken, 10'unda (%62,5) PRYDİ yoktu. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu görülmeyen 87 olgudan 13'ünde (%14,9) PRYDİ saptanırken, 74'ünde (%85,1) PRYDİ yok idi. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen ($p=0,072$), TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre daha fazla oranda PRYDİ izlendi (Tablo 21).

Tablo 21. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile PRYDİ ilişkisi (Eşik değer: %5)

PRYDİ	TİL'lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değer: %5)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	6 (%37,5)	13 (%14,9)	19 (%18,4)
Yok	10 (%62,5)	74 (%85,1)	84 (%81,6)
Total	16 (%100)	87 (%100)	103 (%100)

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen 16 olgunun 4'ünde (%25) lokal rekürrens varken, 12'sinde (%75) lokal rekürrens yoktu. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu görülmeyen 87 olgudan 6'sında (%6,9) lokal rekürrens varken, 81'inde (%93,1) lokal rekürrens yok idi. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemesine rağmen ($p=0,057$), TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre lokal rekürrens görülme oranı daha yüksekti (Tablo 22).

Tablo 22. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile lokal rekürrens ilişkisi (Eşik değer: %5)

Lokal Rekürrens	TİL'lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değer: %5)		Total
	Pozitif	Negatif	
Var	4 (%25)	6 (%6,9)	10 (%9,7)
Yok	15 (%75)	81 (%93,1)	93 (%90,3)
Total	16 (%100)	87 (%100)	103 (%100)

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, RSİ, uzak metastaz, progresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,580$; $p=0,511$; $p=0,743$; $p=0,860$; $p=0,370$; $p=0,308$; $p=0,121$; $p=0,242$).

4.8. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ARASINDAKİ İLİŞKİ

HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan 61 olgudan 45'inde (%73,8) HIF-2 α ekspresyonu

yüksek, 7'sinde (%11,5) HIF-2 α ekspresyonu düşük, 9'unda (%14,8) HIF-2 α negatif tespit edildi. HIF-1 α ekspresyonu düşük olan 27 olgudan 14'ünde (%51,9) HIF-2 α ekspresyonu yüksek, 9'unda (%33,3) HIF-2 α ekspresyonu düşük, 4'ünde (%14,8) HIF-2 α negatif saptandı. HIF-1 α negatif 15 olgudan 4'ünde (%26,7) HIF-2 α ekspresyonu yüksek, 4'ünde (%26,7) HIF-2 α ekspresyonu düşük, 7'sinde (%46,7) HIF-2 α negatif tespit edildi. HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,003). HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan olguların çoğunda HIF-2 α ile yüksek ekspresyon ve HIF-1 α negatif olguların çoğunda HIF-2 α negatif tespit edildi. HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon tespit edildi (Tablo 23).

Tablo 23. HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasındaki ilişki

		HIF-1 α Ekspresyonu			Total
		Yüksek	Düşük	Negatif	
HIF-2 α Ekspresyonu	Yüksek	45 (%73,8)	14 (%51,9)	4 (%26,7)	63 (%61,2)
	Düşük	7 (%11,5)	9 (%33,3)	4 (%26,7)	20 (%19,4)
	Negatif	9 (%14,8)	4 (%14,8)	7 (%46,7)	20 (%19,4)
Total		61 (%100)	27 (%100)	15 (%100)	103 (%100)

Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 54 olgudan 27'sinde (%50) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu saptanırken, 27'sinde (%50) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 49 olgudan 10'unda (%20,4) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu mevcut iken, 39'unda (%79,6) TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi (p=0,002). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre TİL'lerde PD-L1 ekspresyon oranı daha yüksek idi (Tablo 24).

Tablo 24. TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile TİL’lerde PD-L1 ekspresyon ilişkisi

TİL’lerde PD-L1 Ekspresyonu	TİL’lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değer: %1)		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	27 (%50)	10 (%20,4)	37 (%35,9)
Negatif	27 (%50)	39 (%79,6)	66 (%64,1)
Total	54 (%100)	49 (%100)	103 (%100)

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 30 olgudan 7’sinde (%23,3) TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu saptanırken, 23’ünde (%76,7) TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmedi. TİL’lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 73 olgudan 9’unda (%12,3) TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu mevcut iken, 64’ünde (%87,7) TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmedi. Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi ($p=0,23$).

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (sırasıyla $p=0,251$; $p=0,103$). Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (sırasıyla $p=0,059$; $p=0,154$).

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (sırasıyla $p=0,101$; $p=0,795$). Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (sırasıyla $p=0,375$; $p=0,408$).

4.9. SAĞKALIM ANALİZİ

Yüz üç olgudan 98’inin OS bilgilerine, 97’sinin PFS bilgilerine ulaşıldı. Ortalama takip süresi $40,6\pm 2,5$ (1-94) ay idi. Olgulardan 71’i izlem sonunda hayattaydı. Olguların 10’unda (%10,2) hastalığın nüks ettiği, 98 olgudan 19’unun

(%19,3) tümör ile ilişkili nedenlerle ve 2-48 ay arasında değişen sürelerde kaybedildiği saptandı. Çalışmada OS $70,4\pm 3,8$ ay, PFS $67\pm 4,2$ ay olarak hesaplandı.

Sarkomatoid diferansiyasyon, rabdoid diferansiyasyon, MVI, RPI, üreter invazyonu, renal ven invazyonu, adrenal bez invazyonu ve lenf nodu metastazı izlenen olgu sayısının yetersiz olması nedeniyle istatistiksel olarak sağkalım analizi yapılamadı.

4.9.1. Klinikopatolojik Parametreler ile Sağkalım İlişkisi

Doksan sekiz olgudan, 65 yaş altı grupta yer alan 55 olguda OS $84,7\pm 3,6$ ay, 65 yaş veya üzeri grupta yer alan 43 olguda OS $50,6\pm 5,3$ ay olarak hesaplandı. Yaş ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlendi (Log Rank $p=0,00$). 65 yaş veya üzeri olgularda istatistiksel olarak anlamlı şekilde OS daha kısa izlendi. Doksan yedi olgudan, 65 yaş altı grupta yer alan 56 olguda PFS $72,8\pm 5,2$ ay, 65 yaş veya üzeri grupta yer alan 41 olguda PFS $54,3\pm 6,1$ ay olarak hesaplandı. Yaş ile PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Log Rank $p=0,101$). Anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, 65 yaş altı grubunda yer alan olgularda, 65 yaş veya üzeri grubunda yer alan olgulara göre PFS daha uzun idi.

OS, erkek olgularda $64,7\pm 4,8$ ay, kadın olgularda $80,1\pm 4,6$ ay idi. Cinsiyet ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank $p=0,031$). Erkek olgularda kadın olgulara göre OS daha kısa idi. Cinsiyet ile PFS arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (Log Rank $p=0,13$).

Tümör çapı 4 cm'nin altında olan 21 olguda OS $85,4\pm 5,7$ ay iken, tümör çapı 4 cm veya üzeri olan 77 olguda OS $66,9\pm 4,4$ ay olarak hesaplandı. Tümör çapı ile OS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi (Log rank $p=0,068$). Ancak tümör çapı 4 cm veya üzeri olan olgularda, tümör çapı 4 cm'nin altında olan olgulara göre OS'nin daha kısa olduğu dikkati çekti. Tümör çapı 4 cm'nin altında olan 21 olguda PFS $90\pm 3,9$ ay iken, tümör çapı 4 cm veya üzeri olan 76 olguda PFS 61 ± 5 ay olarak hesaplandı. Tümör çapı ile PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı

ilişki tespit edildi (Log Rank $p=0,008$). Tümör çapı 4 cm veya üzeri olan olgularda PFS'nin daha kısa olduğu saptandı.

Patolojik evre ile OS arasındaki ilişki incelendiğinde, 98 olgudan pT1 olan 57 olguda OS $83,2\pm 3,8$ ay, pT2 olan 10 olguda OS $62,7\pm 9,7$ ay, pT3 olan 30 olguda OS $41\pm 5,7$ ay olarak hesaplandı. Sadece 1 olgu pT4 olduğu için değerlendirmeye dahil edilmedi. Patolojik evre ile PFS arasındaki ilişki incelendiğinde, 97 olgudan pT1 olan 55 olguda PFS $87,6\pm 3,1$ ay, pT2 olan 11 olguda $50,7\pm 1$ ay, pT3 olan 30 olguda $24,5\pm 5$ ay olarak hesaplandı. pT4 olan olgu 29 aylık takip süresinde hayatta idi ve progresyon izlenmedi. Patolojik evre ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (Log Rank $p=0,00$). İleri evre olgularda OS ve PFS'nin daha kısa olduğu tespit edildi.

Nükleer derece ile OS arasındaki ilişki incelendiğinde, 98 olgudan derece 1 olan 26 olguda OS $90,8\pm 3,2$ ay, derece 2 olan 38 olguda $66,5\pm 5,8$ ay, derece 3 olan 26 olguda $57,8\pm 7,9$ ay, derece 4 olan 8 olguda $41,4\pm 8,8$ ay olarak hesaplandı. Nükleer derece ile PFS arasındaki ilişki incelendiğinde, 97 olgudan derece 1 olan 26 olguda PFS $83,6\pm 5,6$ ay, derece 2 olan 38 olguda $67,5\pm 6,1$ ay, derece 3 olan 26 olguda $55,7\pm 8,8$ ay, derece 4 olan 7 olguda $24,3\pm 8,6$ ay olarak hesaplandı. Nükleer derece ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttu (sırasıyla Log Rank $p=0,008$; $p=0,005$). Yüksek nükleer dereceye sahip olgularda OS ve PFS daha kısa idi.

Nekroz varlığı ile OS ve PFS arasındaki ilişki incelendiğinde, nekrozun izlendiği olgularda OS $55,2\pm 6,3$ ay, PFS $44,5\pm 6,9$ ay; nekrozun izlenmediği olgularda OS $81,9\pm 3,9$ ay, PFS $84,1\pm 3,8$ ay olarak hesaplandı. Nekroz ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank $p=0,00$). Nekroz bulunan olgularda OS ve PFS daha kısa idi.

PRYDİ bulunan olgularda OS $37,5\pm 5,8$ ay, PFS $22,7\pm 5$ ay olarak hesaplanırken, PRYDİ bulunmayan olgularda OS $75,7\pm 3,9$ ay, PFS $74,6\pm 4,2$ ay olarak tespit edildi. PRYDİ ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (sırasıyla Log Rank $p=0,01$; $p=0,00$). PRYDİ varlığının daha kısa OS ve PFS ile ilişkili olduğu tespit edildi.

RSİ bulunan olgularda OS 37,5±6,1 ay, PFS 19,5±5,1 ay iken, RSİ bulunmayan olgularda OS 74,5±5,6 ay, PFS 75±6 ay olarak hesaplandı. RSİ ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla Log Rank p=0,01; p=0,00). RSİ varlığı, daha kısa OS ve PFS ile ilişkili bulundu.

Lokal rekürrens durumu ve sağkalım ile ilgili bilgilerine ulaşılabilen 97 olgudan lokal rekürrens izlenen 10'unda OS 33,2±7,1 ay, rekürrens izlenmeyen 87 olguda OS 75,1±3,8 ay olarak hesaplandı. Lokal rekürrens ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank p=0,001). Lokal rekürrens varlığı daha kısa OS ile ilişkili bulundu. Lokal rekürrens durumu ve progresyonsuz sağkalım ile ilgili bilgilerine ulaşılabilen 96 olgudan lokal rekürrens izlenen 10 olguda PFS 10,7±4,2 ay, lokal rekürrens izlenmeyen 86 olguda PFS 74,1±4 ay olarak hesaplandı. Lokal rekürrens ile PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank p=0,00). Lokal rekürrens izlenen olgularda daha kısa PFS izlendi.

Uzak organ metastazı tespit edilen 27 olguda OS 31,6±5,1 ay, PFS 10,2±2,9 ay iken, uzak organ metastazı bulunmayan olgularda OS 85,2±3,1 ay, PFS 89,1±2,4 ay şeklinde hesaplandı. Uzak organ metastazı varlığı ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank p=0,00). Uzak organ metastazı izlenen olgularda OS ve PFS daha kısa idi.

Progresyon durumu ve sağkalım ile ilgili bilgilerine ulaşılabilen 97 olguda OS 29,9±4,9 ay iken, progresyon izlenmeyen olgularda OS 88,6±2,6 ay olarak tespit edildi. Progresyon varlığı ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank p=0,00). Progresyon gösteren olgularda daha kısa OS mevcuttu.

RKİ ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla Log Rank p=0,527; p=0,063).

Çalışmamızda yer alan BHRHK tanılı olgularda OS ve PFS ile klinikopatolojik parametreler arasında yapılan istatistiksel analiz sonuçları, Tablo 25'te ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

Tablo 25. Genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

Klinikopatolojik parametreler		OS (ay)	p değeri	PFS (ay)	p değeri
Yaş	65 yaş altı	84,7±3,6	0,00	72,8±5,2	0,101
	65 yaş veya üzeri	50,6±5,3		54,3±6,1	
Cinsiyet	Erkek	64,7±4,8	0,031	62,8±5,3	0,13
	Kadın	80,1±4,6		73,5±6	
Tümör çapı	4 cm altı	85,4±5,7	0,068	90±3,9	0,008
	4 cm veya üzeri	66,9±4,4		61±5	
Patolojik evre	pT1	83,2±3,8	0,00	87,6±3,1	0,00
	pT2	62,7±9,7		50,7±1	
	pT3	41±5,7		24,5±5	
Nükleer derece	Derece 1	90,8±3,2	0,008	83,6±5,6	0,005
	Derece 2	66,5±5,8		67,5±6,1	
	Derece 3	57,8±7,9		55,7±8,8	
	Derece 4	41,4±8,8		24,3±8,6	
Nekroz	Var	55,2±6,3	0,00	44,5±6,9	0,00
	Yok	81,9±3,9		84,1±3,8	
RKİ	Var	41,6±4	0,527	29,5±6,2	0,063
	Yok	71,4±4		69,7±4,3	
PRYDİ	Var	37,5±5,8	0,01	22,7±5	0,00
	Yok	75,7±3,9		74,6±4,2	
RSİ	Var	37,5±6,1	0,01	19,5±5,1	0,00
	Yok	74,5±5,6		75±6	
Lokal rekürrens	Var	33,2±7,1	0,001	10,7±4,2	0,00
	Yok	75,1±3,8		74,1±4	
Uzak metastaz	Var	31,6±5,1	0,00	10,2±2,9	0,00
	Yok	85,2±3,1		89,1±2,4	
Progresyon	Var	29,9±4,9	0,00		
	Yok	88,6±2,6			

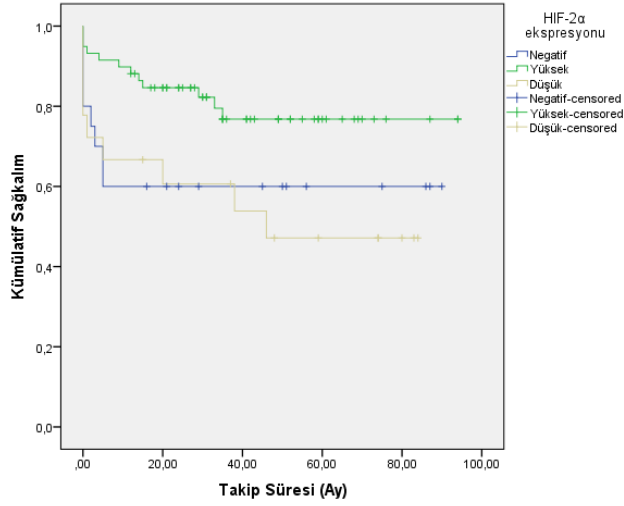
RKİ: Renal Kapsül İnvazyonu, PRYDİ: Perirenal Yağ Doku İnvazyonu, RSİ: Renal Sinüs İnvazyonu

4.9.2. İmmünohistokimyasal Belirteçler ile Sağkalım İlişkisi

HIF-1 α ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla Log Rank p=0,607; Log Rank p=0,889).

HIF-2 α ekspresyonu ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Log Rank p=0,315). Doksan yedi olgudan HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan 59 olguda PFS 75,7±4,7 ay, HIF-2 α ekspresyonu düşük olan 18 olguda 46,8±9 ay, HIF-2 α negatif 20 olguda 54,8±9,7 ay olarak hesaplandı. HIF-2 α ekspresyonu ile

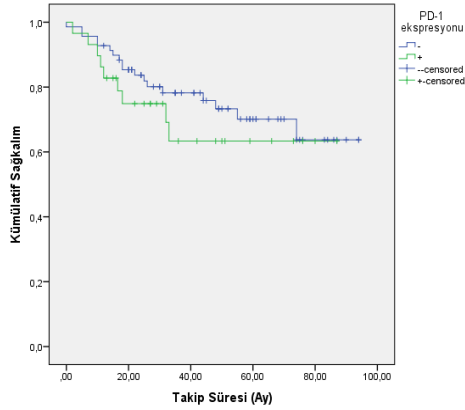
PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi (Log Rank $p=0,036$). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olan olgulara ve HIF-2 α negatif olgulara göre PFS'nin daha uzun olduğu saptandı (Şekil 3).



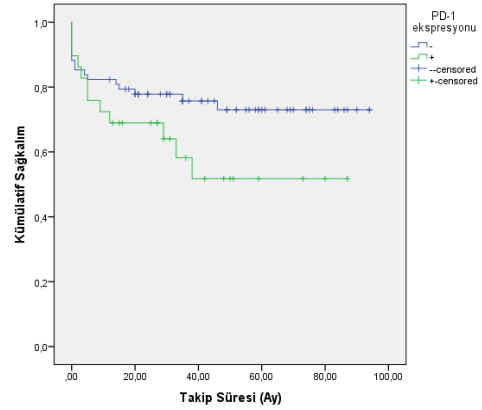
Şekil 3. HIF-2 α ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 52 olguda OS $62,9\pm 5,5$ ay iken, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 46 olguda OS $79,2\pm 4,7$ ay olarak hesaplandı. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi (Log Rank $p=0,029$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre OS daha kısa idi. Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen 52 olguda PFS $54,3\pm 6,1$ ay iken, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen 45 olguda PFS $82,1\pm 4,5$ ay olarak hesaplandı. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (Log Rank $p=0,001$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre PFS'nin daha kısa olduğu tespit edildi (Şekil 4).

A)



B)



Şekil 4. TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile sağkalım ilişkisi (Eşik değer: %1); **A)** PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım ilişkisi; **B)** PD-1 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-1 ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla Log Rank $p=0,411$; $p=0,1$).

Eşik değer %1 olarak alındığında, 103 olgudan sadece 3’ünde; eşik değer %5 olarak alındığında ise sadece 1 olguda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenmiş olduğundan tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyon varlığı ile OS ve PFS arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak analizi yapılamadı.

Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi (sırasıyla Long Rank $p=0,098$; $p=0,710$). Bununla birlikte, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda OS $59,1\pm 5,7$ ay iken, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgularda OS $75,8\pm 4,5$ ay olması nedeniyle, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre OS’nin belirgin şekilde azaldığı dikkati çekti.

Eşik değer %5 olarak alındığında, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi (sırasıyla Long Rank $p=0,136$;

p=0,261). Bununla birlikte, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda OS 46,9±6,4 ay, PFS 44,4±7,1 ay iken, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgularda OS 73±4 ay, PFS 69,4±4,5 ay olması nedeniyle, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre OS’nin ve PFS’nin belirgin şekilde azaldığı dikkati çekti.

TİL’lerde PD-1 ekspresyon yoğunluğu ve TİL’lerde PD-L1 ekspresyon yoğunluğu ile ilgili olgu sayısı kısıtlılığı nedeniyle sağkalım analizi yapılamadı. Çalışmamızda yer alan BHRHK tanılı olgularda OS ve PFS ile immünohistokimyasal belirteçler arasında yapılan istatistiksel analiz sonuçları, Tablo 26’da ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

Tablo 26. Genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile immünohistokimyasal belirteçler arasındaki ilişki

İmmünohistokimyasal belirteç	Ekspresyon Durumu	OS	p değeri	PFS	p değeri
HIF-1α Ekspresyonu	Yüksek	68,3±5,5	0,607	68,3±5,5	0,889
	Düşük	71,3±6,7		64,7±7,9	
	Negatif	76±7,2		66,3±10,1	
HIF-2α Ekspresyonu	Yüksek	75,1±4,6	0,315	75,7±4,7	0,036
	Düşük	57,8±7,5		46,8±9	
	Negatif	65,7±8,3		54,8±9,7	
TİL’lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değeri: %1)	Pozitif	62,9±5,5	0,029	54,3±6,1	0,001
	Negatif	79,2±4,7		82,1±4,5	
TİL’lerde PD-1 Ekspresyonu (Eşik değeri: %5)	Pozitif	61,7±6,9	0,411	52,1±7,6	0,1
	Negatif	72,2±4,3		71,5±4,7	
TİL’lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değeri: %1)	Pozitif	59,1±5,7	0,098	64,3±6	0,710
	Negatif	75,8±4,5		65,9±5,4	
TİL’lerde PD-L1 Ekspresyonu (Eşik değeri: %5)	Pozitif	46,9±6,4	0,136	44,4±7,1	0,261
	Negatif	73±4		69,4±4,5	

TİL: Tümörü infiltre eden lenfosit, HIF-1α: Hipoksi-indüklenebilir faktör-1α, HIF-2α: Hipoksi-indüklenebilir faktör-2α, PD-1: Programlanmış ölüm antijeni-1, PD-L1: Programlanmış ölüm antijen ligandı-1

TARTIŞMA

RHK, erişkinlerde tüm malignitelerin %2-3'ünü oluşturmaktadır. Son birkaç dekatta, özellikle gelişmiş ülkelerde, RHK insidansı her dekatta %2-3 oranında artış göstermiştir (163). RHK, tüm böbrek tümörlerinin %90'dan fazlasını oluşturmaktadır olup, renal tübül epitel hücrelerinden ortaya çıkan heterojen bir tümör grubudur (4). BHRHK, RHK'ların %70-80'ini oluşturan en sık alt tipidir (164).

RHK, her yıl dünya çapında 300.000'e yakın insanı etkilemekte ve yaklaşık 100.000'e yakın ölüme yol açmaktadır (2,3). Kansere bağlı ölümün en sık 16. nedeni olduğu bilinmektedir. 2012 yılı itibariyle dünya çapında, erkeklerde en sık görülen 9. kanser (214.000 olgu) ve kadınlarda en sık görülen 14. kanser (124.000 olgu) türüdür (5,19).

Literatür verileri ile karşılaştırdığımızda (165-171) çalışmamızda yer alan BHRHK olgularında ortalama görülme yaşı, ortalama tümör çapı, erkek cinsiyet hakimiyeti, sol böbrek yerleşimi literatür verileri ile uyumludur. Bunun yanı sıra erkek cinsiyet, büyük tümör çapı, ileri evre, yüksek nükleer derece, ve nekroz varlığının kısa sağkalım ile ilişkili olması da literatür verileri ile uyumludur.

Tümör süpresör gen olarak bilinen VHL geni tarafından kodlanan pVHL, normoksik koşullarda HIF'lerin parçalanmasında önemli rol oynar (56-58). BHRHK'larda %90'ından fazlasında izlenen VHL geninde fonksiyon kaybı, HIF'lerin hücrede birikmesine yol açar (2,3). HIF, hipoksiye hücrel cevabın ana transkripsiyonel düzenleyicisidir. İki ana HIF- α izoformu olan HIF-1 α ve HIF-2 α hipoksik koşullarda, hipoksiye cevap olarak stabilize edilir ve hücrede biriken HIF- α , HIF- β ile heterodimer oluşturarak transkripsiyonel yanıtın aktivasyonuna aracılık eder. Hipoksi durumunda, HIF'lerin transkripsiyon faktörü rolü ile hücrel proliferasyonda artış meydana gelir (59,60). Agresif tümörler, hızlı tümör gelişimine bağlı olarak hücrel düzeyde oksijenin hızlı tükenmesine neden olur. Tümör hücreleri, oksijen açlığını kompanze edici bir kan akımı elde etmek, hücrel hasardan ve apoptozdan korunmak için, HIF sentezini artırarak hipoksiye adapte olur (83). HIF'lerin BHRHK'daki önemi tartışmalıdır, ancak bu konuda yapılan bazı

araştırmalar, HIF-1 α 'nın BHRHK'da tümörogenez ve metastazdaki rolü yanısıra, kemoterapi ve radyoterapi direncini de desteklediğini ileri sürmüştür (172,173).

Klatte ve ark.'larının 308'i BHRHK tanılı olmak üzere toplam 357 RHK'lu olguyu içeren çalışmasında, HIF-1 α için H1 α 67 klonu kullanılmış, ekspresyon durumu ve 0: negatif, (+): zayıf, (++): orta, (+++): güçlü şeklinde ekspresyon yoğunluğu değerlendirilmiştir. HIF-1 α ile en yüksek nükleer ekspresyon oranı ve yoğunluğunun BHRHK grubunda saptanması üzerine HIF-1 α ekspresyonu sadece BHRHK olgularında değerlendirilmiştir. HIF-1 α ekspresyonu ile evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve nükleer derece arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümör çapı ile HIF-1 α düzeyleri arasında ters orantı izlenmiştir. HIF-1 α ekspresyonunda %10'luk artış sonucunda, RHK'a bağlı ölüm riskinde %8 oranında artış tespit edilmiştir. Nükleer HIF-1 α ekspresyonu yüksek olgularda, nükleer HIF-1 α ekspresyonu düşük olan olgulara göre medyan sağkalım süresi daha kısa bulunmuştur. Bu çalışmada, Klatte ve ark.'ları, HIF-1 α 'nın bağımsız bir prognostik faktör olduğu sonucuna varmışlardır (174). Lidgren ve ark.'ları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada, 66'sı BHRHK, 20'si PRHK ve 6'sı KRHK tanılı olmak üzere toplam 92 olguda western blot tekniği kullanılarak HIF-1 α ekspresyonu değerlendirilmiştir. Diğer alt tiplere göre BHRHK olgularında, HIF-1 α ekspresyonu daha yüksek tespit edilmiştir. Her üç alt tipte de HIF-1 α ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, cinsiyet, tümör çapı, renal ven invazyonu arasında anlamlı korelasyon izlenmemiştir. Sağkalım analizi sonuçlarına göre yüksek sitoplazmik HIF-1 α ekspresyonu gösteren BHRHK olgularında daha uzun sağkalım izlenmiş olup, yüksek HIF-1 α ekspresyonunun olumlu prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (175). Lidgren ve ark.'larının bu çalışmadan bir yıl sonra mikroarray yöntemi ile immünohistokimyasal incelemeye dayalı yaptığu bir çalışmada, 176 BHRHK, 26 PRHK, 14 KRHK tanılı toplam 216 olguda HIF-1 α ekspresyonu incelenmiştir. Sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiş olup, olgular HIF-1 α (Klon:NB100-131) ekspresyon yoğunluğuna göre 0: negatif, 1: zayıf, 2: orta, 3: güçlü şeklinde gruplandırıldıktan sonra, 0-1 grubunda yer alan olgular HIF-1 α düşük ekspresyon, 2-3 grubunda yer alan olgular HIF-1 α yüksek ekspresyon olarak iki ana grupta kategorize edilmiştir. Histolojik alt tipler arasında HIF-1 α ekspresyonunda farklılık izlenmemiş olup, HIF-1 α ekspresyonu düşük olan olgulara göre HIF-1 α

ekspresyonu yüksek olan BHRHK'lu olgularda, daha erken evre ve düşük nükleer derece, daha az oranda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz, daha az oranda renal ven invazyonu tespit edilmiştir. HIF-1 α ekspresyon düzeyi ile sağkalım arasında ise anlamlı ilişki izlenmemiştir. Bu çalışma sonucunda, BHRHK'larda yüksek HIF-1 α ekspresyonunu iyi prognoz ile ilişkilendirmişlerdir (176). Klatte ve ark.'ları, HIF-1 α 'nın nükleusa taşındığında aktif olan bir transkripsiyon faktörü olduğunu öne sürerek, Lidgren ve ark.'larının diğer çalışmalarla çelişkili bu bulgusunun sitoplazmik ekspresyonunun analizine bağlı olabileceğini ileri sürmüştür. Bu analizlerine kanıt olarak, sitoplazmada daha yüksek HIF-1 α ekspresyon varlığının, HIF-1 α 'nın nükleustan sitoplazmaya yer değiştirdiği anlamına geldiğini ve buna bağlı olarak DNA'nın kopyalanamadığını, dolayısıyla daha az agresif klinik seyir ve daha iyi prognoza yol açtığını gösterebileceğini savunmuşlardır (174). Minardi ve ark.'larının 2008 yılında BHRHK tanılı 50 olgu üzerinde yaptığı bir çalışmada, HIF-1 α (Klon: sc-10790) ile tümör hücrelerinde sitoplazmik ve nükleer boyanma pozitif olarak kabul edilmiş ve 0:negatif, (+): <%10, (++): %10-25, (+++): %26-50, (++++): >%50 şeklinde skorlama yapılmıştır. HIF-1 α ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, MVİ ve RKİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (165). Minardi ve ark.'ları 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada, 2008 yılında yaptıkları çalışmada kullandıkları klonu ve skorlama sistemini kullanarak BHRHK tanılı 148 olguda HIF-1 α ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. HIF-1 α ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, nükleer derece, patolojik evre, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki görülmemiştir. HIF-1 α ekspresyonu yüksek olgularda, düşük ekspresyon gösteren olgulara göre OS ve PFS anlamlı olarak daha kısa tespit edilmiştir. Bu bulguya dayalı olarak, BHRHK'lu olgularda yüksek HIF-1 α ekspresyonunun kısa OS ile ilişkili önemli bir prognoz göstergesi olduğu öne sürülmüştür (166). Minervini ve ark.'larının 2008 yılında yaptığı bir çalışmada ise, 213 BHRHK tanılı olguda nekrozun prognostik rolü araştırılmış olup, nekroz varlığı ve yaygınlığı ile sitoplazmik ve nükleer HIF-1 α ekspresyonu arasında anlamlı ilişki görülmemiştir (177). Wu ve ark.'larının 2017 yılında yaptığı 128 BHRHK tanılı olguyu ele alan çalışmasında, HIF-1 α için H1 α 67 klonu kullanılmış ve ekspresyon durumuna göre negatif: <%1, (+): %1-10, (++): %11-50, (+++): >%50 şeklinde skorlama yapılmıştır. Yüksek HIF-1 α ekspresyonu, ileri patolojik evre ve yüksek

nükleer dereceyle ilişkili bulunmuştur. HIF-1 α ekspresyon yoğunluğu ile medyan sağkalım ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiş olup, HIF-1 α ekspresyon yoğunluğu fazla olan olgularda medyan sağkalım süresi ve PFS'nin daha kısa olduğu saptanmıştır (170). Çalışmamızda, HIF-1 α ile membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma izlenmiş olup nükleer boyanma görülmedi. HIF-1 α ile bu boyanma paterni, Klatte ve ark.'ları (174) tarafından öne sürülen HIF-1 α 'nın nükleustan sitoplazmaya yer değiştirmesine bağlı olarak DNA'nın kopyalanamadığı, dolayısıyla daha az agresif klinik seyir ve daha iyi prognoza yol açabileceği şeklindeki hipotezlerini desteklememektedir. Ayrıca Klatte ve ark.'larının (174) çalışması ve Wu ve ark.'larının (170) çalışmasına benzer şekilde HIF-1 α için H1 α 67 klonu kullanılmasına rağmen, bu çalışmalardan farklı olarak HIF-1 α ekspresyonu ile OS ve PFS arasında anlamlı ilişki izlenmedi. Wu ve ark.'ları (170) ile aynı klonu kullanmamıza rağmen, çalışmamızdaki HIF-1 α ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki istatistiksel sonuçlar bu çalışmadan farklıydı. Klatte ve ark.'larının (174) çalışması ve literatürdeki bazı çalışmalara (165,166,175,177) benzer şekilde, HIF-1 α ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. HIF-1 α ekspresyonunu değerlendirmede skorlama sistemlerindeki farklılıkların elde edilen sonuçların farklı olmasına ve klinikopatolojik parametrelerle değerlendirildiğinde prognoza yönelik çelişkili sonuçların ortaya çıkmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Biswas ve ark.'larının 168 BHRHK tanılı olguda mikroarray yöntemi ile immünohistokimyasal olarak HIF-2 α ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmada, EP190b klonu kullanılmış, çalışmamızda kullandığımız skorlama sistemi ile değerlendirme yapılmıştır. Medyan sonuç skoruna göre, HIF-2 α ekspresyonu yüksek ve düşük olarak iki gruba ayrılmıştır. BHRHK hücrelerinde HIF-2 α 'nın hem nükleus hem de sitoplazmada eksprese edildiği belirtilmiştir. HIF-2 α ekspresyonunun nükleer derece ve tümör çapı ile korele olduğu, yüksek HIF-2 α ekspresyonu izlenen olgularda daha yüksek nükleer derece ve daha büyük tümör çapı izlendiği tespit edilmiştir (178). Kroeger ve ark.'ları 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, BHRHK tanısı alan 308 olguya ait örneklerde mikroarray yöntemi ile immünohistokimyasal olarak HIF-2 α ekspresyonu (Klon: UP15) ve boyanma paterni ile klinikopatolojik

parametreler arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışma sonucunda yüksek nükleer HIF-2 α ekspresyonu ile daha küçük tümör çapı ve düşük nükleer derece arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Yüksek sitoplazmik HIF-2 α ekspresyonu gösteren olgularda ise daha yüksek nükleer derece izlenmiş ve ayrıca daha fazla oranda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla Kroeger ve ark.'ları, HIF-2 α 'nın tümörojenik etkisini esas olarak sitoplazmada gerçekleştirdiğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada, eş zamanlı olarak yüksek sitoplazmik HIF-2 α ekspresyonu ve düşük nükleer HIF-2 α ekspresyonunun, BHRHK'larda daha kısa sağkalım ile ilişkili olabileceğini, ancak bu konuda daha fazla ayrıntılı çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir (179). Lim ve ark.'larının 2017 yılında oral skuamöz hücreli karsinom tanılı 58 olguda HIF-2 α ekspresyonunu incelediği çalışmada, non-tümöral doku örnekleri ile tümör dokusundaki HIF-2 α ekspresyonunu karşılaştırmışlar ve HIF-2 α ekspresyonunun tümörde belirgin şekilde daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. HIF-2 α ekspresyon oranı ile ileri evre arasında anlamlı ilişki izlenirken; tümör çapı, lenf nodu metastazı, diferansiyasyon durumu, perinöral invazyon, MVI, nekroz ve nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Bu sonucun olgu sayısının az olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda HIF-2 α ekspresyon artışının karsinogenez ile büyük ölçüde ilişkili olduğunu savunmuşlardır. HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan olgularda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha kısa sağkalım oranı izlenmiştir. Bu zayıf korelasyonun, HIF-2 α ile olguların çoğunluğunda sitoplazmik boyanma izlenmesi ve nükleer boyanmanın az sayıda görülmesi nedeniyle ortaya çıkabileceğini savunmuşlardır (180). Çalışmamızda, HIF-2 α için tavşan poliklonal antikoru kullanmakla birlikte, HIF-2 α ekspresyonunu Biswas ve ark.'larının (178) kullandığı skorlama sistemi ile değerlendirdik. HIF-2 α ile nükleer ekspresyon saptanmış olup, sitoplazmik ekspresyon izlenmedi. HIF-2 α nükleer ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α nükleer ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif olgulara göre tümör çapının daha küçük olduğu; nekroz, uzak metastaz ve progresyon görülme oranının daha düşük olduğu tespit edildi. Bu bulgu, Kroeger ve ark.'larının (179) HIF-2 α 'nın tümörojenik etkisini esas olarak sitoplazmada gerçekleştirdiği yönündeki hipotezini desteklemektedir. HIF-2 α nükleer ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α nükleer ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif

olgulara göre PFS daha uzun idi. HIF-2 α ekspresyonu ile OS arasında anlamlı ilişki mevcut değildi. Çalışmamızda olguların takip süresi, Kroeger ve ark.'larının (179) çalışmasındaki olguların takip süresine göre daha kısa olduğu için HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olgular ve negatif olgulara göre OS'nin belirgin şekilde daha uzun olmasına rağmen, HIF-2 α ekspresyonu ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptayamadığımızı düşündük. BHRHK'larda HIF-2 α ile yapılmış yayın oldukça az olmakla birlikte, HIF-2 α ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasındaki bulgularımız Kroeger ve ark.'larının (179) sonuçları ile kısmen uyumludur. Ancak sonuçlarımız, aynı skorlama sistemini kullandığımız Biswas ve ark.'larının çalışmasındaki sonuçlar ile çelişmektedir. Bu çelişki, farklı klon kullanımı ya da tümör heterojenitesine bağlı olabilir.

Taştekin ve ark.'larının 2017 yılında yaptığı BHRHK tanılı 72 olguda HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, HIF-1 α için çalışmamızda kullandığımız H1 α 67 klonu, HIF-2 α için D9E3 klonu kullanılmış ve ekspresyon oranı ve yoğunluğu ayrı olarak değerlendirilmiştir. Ekspresyon oranı 0: %0, 1: %1-25, 2: %26-50, 3: %51-75 ve 4: %76-100 şeklinde; ekspresyon yoğunluğu 0: negatif, 1: zayıf, 2: orta ve 3: güçlü şeklinde skorlanmış ve bu iki kategorinin toplamı (0-7) ile sonuç skoru elde edilmiştir. HIF-1 α ve HIF-2 α için toplam skoru 2 ve üzerinde olan tümörler pozitif, toplam skoru 2'nin altında olan tümörler negatif olarak değerlendirilmiştir. HIF-1 α ekspresyonu ile ileri evre, yüksek nükleer derece arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş olup, HIF-1 α ekspresyonu ile sarkomatoid diferansiyasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. HIF-2 α ekspresyonu ile evre, nükleer derece ve sarkomatoid diferansiyasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu ile daha kısa OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. HIF-1 α ile HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon saptanmıştır (169). Ioachim ve ark.'larının 2006 yılında yaptığı mesane ürotelyal karsinom tanılı 144 olguyu ele alan çalışmasında, HIF-1 α için sc-13515(28b) klonu, HIF-2 α için Ab8365 klonu kullanılmıştır. HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu tümör hücrelerinde hem nükleer ya da sitoplazmik boyanma oranı hem de ekspresyon yoğunluğuna göre, “negatif: <%1; zayıf boyanma (+): %1-10; orta derecede boyanma (++): %11-50,

güçlü boyanma (+++): >%50” şeklinde skorlanmıştır. HIF-1 α ekspresyonu, <%10 düşük ekspresyon ve >%10 yüksek ekspresyon; HIF-2 α ekspresyonu, <%50 düşük ekspresyon ve >%50 yüksek ekspresyon şeklinde iki grup halinde sınıflandırılmıştır. HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu ile tümör çapı, evre, derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasıyla birlikte, yüksek dereceli tümörlerde düşük dereceli tümörlere göre daha yüksek HIF-1 α ekspresyonu dikkati çekmiştir. HIF-1 α ekspresyonu ile az diferansiye tümörler arasında pozitif korelasyon izlendiğini ve kas infiltrasyonu izlenen olgularda daha yüksek HIF-1 α ekspresyonu tespit edildiğini vurgulamışlar ve HIF-1 α aşırı ekspresyonunun mesane kanserinin agresif davranışıyla korele olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada tümör hücrelerinde HIF-2 α ile genellikle sitoplazmik ekspresyon izlenmiş ve tümör hücrelerindeki düşük HIF-2 α ekspresyonu ile rekürrens arasında negatif korelasyon olduğu görülmüştür. HIF-2 α ekspresyonu ayrıca stromal hücrelerde değerlendirilmiş ve bu hücrelerdeki ekspresyonunun ileri tümör evresi ile korele olduğu tespit edilmiştir (181). Noguera ve ark.’larının 2009 yılında yaptığı nöroblastom olgularını içeren çalışmasında, tümör hücrelerinde HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyon oranı ve yoğunluğu iki ayrı skor halinde değerlendirilmiştir. Ekspresyon oranı 0: %0-10, 1: %11-25, 2: %26-75, 3: %76-100 şeklinde, ekspresyon yoğunluğu 0: negatif, 1: zayıf, 2: orta, 3: güçlü şeklinde sınıflandırılmıştır. Yüksek HIF-1 α ekspresyon yoğunluğunun, düşük nükleer derece ve iyi prognoz ile ilişkili olduğu, HIF-1 α ile HIF-2 α ekspresyon oranı arasında pozitif korelasyon izlenirken, HIF-1 α ile HIF-2 α ekspresyon yoğunluğu arasında ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir (104). Biswas ve ark.’larının 2012 yılında 168 BHRHK tanılı olguyu ele aldıkları çalışmasında, olguların %56’sında yüksek nükleer HIF-1 α ekspresyonu, %40’ında yüksek nükleer HIF-2 α ekspresyonu izlenmiştir. HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan olgularda OS daha kısa izlenirken, HIF-2 α ekspresyonu ile OS arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (178). Çalışmamızda, HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonları arasında pozitif korelasyon izlenmesine rağmen, klinikopatolojik bulgularla değerlendirdiğimizde benzer ilişki saptanmadı. HIF-1 α ve HIF-2 α ile ilgili yayınlarda, farklı klonda antikörlerin kullanılması ve değerlendirme parametrelerindeki farklılıklar, sonuçları karşılaştırmayı ve yorumlamayı zorlaştırmaktadır. BHRHK tanılı aynı olgularda, aynı antikora ait farklı klonlar ve

farklı skorlama sistemleri denenerek, RHK için daha spesifik klonun ve skorlama sisteminin saptanması bundan sonraki çalışmaların daha yol gösterici olmasına katkı sağlayabilir.

PD-1, CD28/CTLA-4 immün kontrol noktası reseptör ailesine ait tip I transmembran glikoproteinidir. B7-H1 veya CD274 olarak da bilinen PD-L1 ise, B7/CD28 *ko-stimülatör* faktör süper ailesine ait tip I transmembran glikoproteinidir ve ilginç bir şekilde B7 ailesinin hipoksi ile uyarılabilen tek üyesi olduğu bilinmektedir (182-184). PD-1, aktive T hücreleri, B hücreleri ve NK hücreler üzerinde normalde eksprese edilen bir reseptördür. PD-L1, sadece immün sistem hücrelerinde değil, aynı zamanda damar endotel hücreleri, pankreas adacık hücreleri, kas hücreleri, hepatositler, epitelyal ve mezenkimal kök hücrelerde de mevcuttur (185).

İmmün sistem hücrelerinin yüzey reseptörlerinden bazıları, immünitinin kontrol noktası olarak bilinir. Bu hücre yüzey reseptörlerine, spesifik ligandların bağlanması sonucunda normal şartlarda katil ve proenflamatuar lenfositlerin aktivitesi inhibe edilir. Kanser hücreleri, bu mekanizmayı TİL'leri etkisiz hale getirerek immün sistem yanıtından kaçmak ve hayatta kalmak için kullanır. İmmün kontrol noktalarının blokajının, antitümör immünitelerini önemli ölçüde arttırabileceği belirtilmiştir (151). Örnek olarak, T hücrelerinde eksprese edilen PD-1 ve tümör hücrelerinde anormal şekilde eksprese edilen PD-L1 arasındaki etkileşim, hücrel immün yanıtın inhibisyonu ile sonuçlanır ve tümör hücreleri immün yanıtı kurtulmuş olur (186). Ayrıca aktive T hücrelerinin de PD-L1 eksprese ettiği ve T hücre ilişkili PD-L1'in ters sinyalleme yoluyla, T hücre apoptozunu indükleyip, T hücre çoğalmasını inhibe etmesi yoluyla primer T hücresi aktivitesini *down regüle* edebileceği gösterilmiştir (187).

Son yıllarda, tümör immünitelerini belirlemek ve buna yönelik yeni tedavi modalitelerinin gelişmesine katkı sağlamak amacıyla, immün kontrol noktası belirteçleri olan PD-1/PD-L1'in çeşitli kanserlerde prognostik önemi ve potansiyel terapötik etkileri yakın zamanda yapılan birçok çalışmanın araştırma konusu olmuştur (12, 188-192). Birçok tümörde PD-1/PD-L1 ekspresyon seviyelerinde

artışın kötü prognoz ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (193). RHK, KHDAK ve melanomu içeren ileri evre kanser hastalarında, PD-1 ve PD-L1'in antikör aracılı blokajının kalıcı tümör regresyonu ve uzun süreli stabilizasyon ile sonuçlandığı gösterilmiştir (192,194). Motzer ve ark.'larının 2015 yılında yaptıkları klinik bir çalışmada, anti-PD-L1 antikörleri ile immün kontrol noktası blokajının, RHK'larda tümör hacmini azaltabileceği ve sağkalımı uzatabileceği gösterilmiştir (195).

Zhang ve ark.'larının 2019 yılında 83 primer RHK (59 BHRHK+24 BH dışı RHK) ve 80 metastatik RHK (68 BHRHK metastazı +12 BH dışı RHK metastazı) tanımlı olguyu içeren, TİL'lerde PD-1 ekspresyonunu değerlendirmeye yönelik çalışmada, ab52587 klonu kullanılmış ve %5 eşik değer olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu saptanan olgularda lenf nodu metastazı görülme oranı anlamlı şekilde daha yüksek izlenirken, PD-1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, nükleer derece, patolojik evre, histolojik alt tip, sarkomatoid diferansiyasyon, nekroz ve uzak metastaz ile arasında anlamlı ilişki görülmemiştir. PD-1 ekspresyonu ile daha kısa PFS arasında anlamlı ilişkili izlenirken, PD-1 ekspresyonu ile OS arasında ilişki saptanmamıştır (196). Abbas ve ark.'larının 2016 yılında yaptığı berrak hücreli dışındaki RHK tanımlı olguları ele alan çalışmada, TİL'lerde PD-1 ekspresyonunu değerlendirmede, eşik değer %5 olarak kabul edilmiştir. PD-1 ekspresyonu ile tümör agresifliği veya ileri evre hastalık ile ilişki saptanmamıştır (197). Tatlı Doğan ve ark.'larının 2018 yılında yaptığı BHRHK tanımlı 145 olguyu içeren bir çalışmada, PD-1 için çalışmamızda kullandığımız NAT105 klonu kullanılmıştır. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu; 0-4 hücre: 1 puan, 5-8 hücre: 2 puan, 9-12 hücre: 3 puan, ≥ 13 hücre: 4 puan şeklinde gruplandırılmıştır. PD-1 ekspresyonu, 0-2 puan alan olgularda "negatif veya minimal", 3-4 puan alan olgularda "yoğun" olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, nükleer derecesi yüksek olan olgularda, nükleer derecesi düşük olan olgulara göre TİL'lerde daha yoğun PD-1 pozitifliği tespit edilmiştir. PD-1 ekspresyon skoru düşük olan olgularla, yüksek olan olgular karşılaştırıldığında, diğer prognostik faktörler açısından anlamlı farklılık izlenmemiştir. Ayrıca PD-1 ekspresyonu ile OS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (168). Thompson ve ark.'larının 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada, BHRHK tanımlı 267 olguya ait taze dondurulmuş dokularda MIH4 klonu kullanılarak tümör hücreleri ve TİL'lerde PD-1 ekspresyonu incelenmiş, çalışmamıza

benzer şekilde, tümör hücrelerinde PD-1 ekspresyonu izlenmemiştir. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile büyük tümör çapı, yüksek nükleer derece ve ileri evre arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (198). Kim ve ark.'ları 2017 yılında 82 BHRHK tanılu olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, çalışmamızda kullandığımız NAT105 klonunu kullanmışlar ve PD-1 ekspresyonunu değerlendirmede %1'i eşik değer olarak kabul etmişlerdir. Çalışma sonucunda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile yaş, nükleer derece, patolojik evre ve metastaz arasında anlamlı ilişki bulunmazken, erkek olgularda kadın olgulara göre PD-1 ekspresyonu daha yüksek izlenmiştir (167). Kang ve ark.'larının 2013 yılında 199 BHRHK üzerinde yaptığı çalışmada, TİL'lerde PD-1 ekspresyonunu değerlendirme amacıyla NAT105 klonu kullanılmış ve 5 büyük büyütme alanı sayılarak 1'den fazla PD-1 pozitif hücre varlığı, PD-1 pozitif olarak değerlendirilmiştir. TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile erkek cinsiyet, ileri evre ve yüksek nükleer derece arasında anlamlı ilişki izlenmiş olup, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile yaş, lenf nodu metastazı, nekroz varlığı arasında anlamlı ilişki görülmemiştir. Ayrıca TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile kısa OS ve PFS arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda temel olarak, TİL'lerde PD-1 pozitifliğinin BHRHK'da kötü prognostik bir gösterge olduğu ve kısa sağkalımı öngördüğü vurgulanmıştır (171). Literatürde, BHRHK olgularında TİL'lerde PD-1 ekspresyonunun prognostik rolü ile ilgili sonuçlar çelişkilidir. Çalışmamızda PD-1 için NAT105 klonu kullanıldı. Tümör hücrelerinde PD-1 ekspresyonu görülmedi. TİL'lerde PD-1 ekspresyonunu değerlendirmeye yönelik olarak iki farklı eşik değer temel alındı. Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda anlamlı şekilde nekroz, MVI, lokal rekürrens, uzak metastaz ve progresyon görülme oranının daha yüksek olduğu izlenirken, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, patolojik evre, nükleer derece, RKİ, PRYDİ, RSİ arasında anlamlı ilişki saptanmadı. OS ve PFS anlamlı şekilde, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda daha kısa idi. Eşik değer %5 olarak alındığında ise, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler ve sağkalım arasında anlamlı ilişki izlenmedi. Abbas ve ark.'larının (197) çalışmasına benzer şekilde, %5 eşik değer kullanılması durumunda tümör agresifliği ile TİL'lerde PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadığı dikkatimizi çekti. Çalışmamızdaki bu iki değerlendirme yöntemi arasındaki belirgin farklılık, kullanılan skorum sisteminin sonuçlar

üzerinde kayda değer etkisinin olduğunu göstermektedir. İlginç olarak, Kim ve ark.'larının (167) kullandığı klon ve skorlama yöntemi ile çalışmamızda kullandığımız klon ve skorlama yöntemi aynı olmasına rağmen onların sonuçları ile çelişen sonuçlarımız mevcuttur. Anti-PD-1 antikorumun KHDAK'nda olduğu gibi RHK'larda da etkili bir immünoterapi seçeneği olarak önerilebilmesi için daha geniş olgu serilerinde, eş zamanlı farklı klonlar kullanılarak immünohistokimyasal yöntemle PD-1 ekspresyon durumunun belirlenmesi ve eşik değer olarak %1 ve %5 gibi farklı eşik değerler temel alınarak bu bulguların klinikopatolojik verilerle karşılaştırılması ile elde edilecek sonuçlara ihtiyaç vardır.

PD-L1 ekspresyonu, birçok insan kanserinde hem TİL'lerde hem de tümör hücrelerinde yüksek oranda tespit edilmiştir (193,199-202) ve PD-L1 ekspresyonunun melanom, over ve pankreas gibi farklı kanser türlerinde kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (203-205). Massi ve ark.'larının 2014 yılında yaptığı çalışmada, PD-L1 metastatik melanom olgularının %40,3'ünde pozitif iken, primer melanom olgularının %14'ünde pozitif tespit edilmiştir. Melanomda PD-L1 ekspresyonunun agresif seyir ve artmış invazyon riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (203).

Zhang ve ark.'larının 2019 yılında yaptığı BHRHK tanılı olguları da içeren primer ve metastatik RHK'lu olguları ele alan çalışmasında, PD-L1 için ZM-0170 klonu kullanılmış, PD-L1 ekspresyonu tümör hücrelerinde 0: negatif, (+): zayıf, (++): orta, (+++): güçlü şeklinde değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptanan olgularda lenf nodu metastazı oranı anlamlı şekilde daha yüksek izlenirken, PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, nükleer derece, patolojik evre, histolojik alt tip, sarkomatoid diferansiyasyon, nekroz ve uzak metastaz varlığı arasında anlamlı ilişki görülmemiştir. PD-L1 ile PFS ve OS arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir (196). Lopez ve ark.'larının 2017 yılında BHRHK olguları üzerinde yaptığı çalışmada, PD-L1 ekspresyonu için çalışmamızda kullandığımız SP142 klonu kullanılmış ve bu çalışmada Atkins ve ark.'larının çalışması referans gösterilerek, anti-PD-L1 monoklonal antikoru olan Atezolizumab ile tedavi edilen hastalarda artmış PFS ile ilişkili olduğu belirtilen %1 eşik değeri kullanılmıştır. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile nükleer derece ve patolojik evre arasında anlamlı bir ilişki

izlenmemiştir (206,207). Tatlı Doğan ve ark.'larının BHRHK tanılı 145 olguyu içeren 2018 yılında yaptığı çalışmada, SP263 klonu kullanılmış ve ekspresyonu değerlendirmede %5 eşik değer olarak alınmıştır. Tümör hücrelerinde PD-L1 olguların %86,2'sinde negatif iken, %13,8'inde pozitif tespit edilmiştir. Nükleer derecesi yüksek olan olgularda PD-L1 pozitifliği daha fazla saptanmış olup; RPİ, adrenal bez invazyonu, sarkomatoid diferansiyasyon, nekroz, MVİ, üreter invazyonu, renal ven invazyonu, uzak metastaz ve lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki görülmemiştir. Tümör çapı PD-L1 pozitif olan olgularda ortalama 7,6 cm, negatif olan olgularda 5,4 cm olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemiştir. Bu çalışmada OS, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitif olgularda 94,9 ay, tümör hücrelerinde PD-L1 negatif olgularda 90,06 ay olarak tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır (168). Thompson ve ark.'larının 2004 yılında yaptıkları çalışmada, immünohistokimya yöntemi ile 196 olguda BHRHK'lardaki PD-L1 ekspresyonu için 5H1 klonu kullanılmış, tümör hücreleri ve TİL'lerdeki PD-L1 ekspresyonunun ileri patolojik evre, büyük tümör çapı, yüksek nükleer derece, nekroz varlığı, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve artmış kansere özgü mortalite riski gibi agresif özelliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (208). Thompson ve ark.'ları, 2007 yılında yayınladıkları çalışmada, önceki yıllarda BHRHK tanılı olgular üzerinde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdikleri 4 çalışmayı birlikte analiz etmişler ve bu analiz sonucunda hem tümör hücrelerindeki hem de TİL'lerdeki PD-L1 ekspresyonunun BHRHK'da kısa OS ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (153). Wang ve ark.'larının 2018 yılında yayınlanan bir metaanaliz çalışmasında, 2004-2017 yılları arasında yapılan, retrospektif olarak RHK'lu olgularda immünohistokimya yöntemi ile PD-L1 ekspresyonunun değerlendirildiği toplam 1863 (1404 BHRHK+459 BH dışı RHK) olguyu içeren 10 çalışma incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 10 çalışmadan 7'sinde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmede %5 eşik değer olarak alınmıştır. Bu metaanaliz çalışmasında, PD-L1 pozitifliği BHRHK tanılı olguların %29,5'inde görülürken, berrak hücreli dışındaki RHK tanılı olguların %16,8'inde PD-L1 pozitifliği izlenmiştir. PD-L1 ekspresyonunun hem BHRHK hem de berrak hücreli dışındaki RHK'lu olgularda ölüm riskini önemli ölçüde arttırdığı ve her iki tümör grubunda ileri patolojik evre, uzak metastaz ve nekroz varlığı ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır.

Ayrıca BHRHK'da PD-L1 ekspresyonunun, artmış lenf nodu metastazı ve yüksek nükleer derece ile korele olduğu tespit edilmiştir (182). Callea ve ark.'larının 53 primer ve 76 metastatik olmak üzere toplam 129 BHRHK tanılı olguyu ele alan çalışmasında, PD-L1 için 405.9A11 klonu kullanılmış ve PD-L1 ekspresyonu hem tümör hücreleri hem TİL'lerde değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu, boyanma yoğunluğuna göre (0: negatif, 1: zayıf, 2: orta, 3: güçlü) pozitif tümör hücrelerinin yüzdesini dikkate alan H-skoru kullanılarak ölçülmüştür. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu değerlendirirken ise Choueiri ve ark.'larının değerlendirmesine kısmen benzer şekilde, boyanma yoğunluğu (0: negatif, 1: fokal, 2: hafif, 3: orta, 4: belirgin) ve boyanma oranı (0: %0, 1: ≤%5, 2: %6-25, 3: %26-50, 4: %51-75, 5: >%75) ayrı ayrı değerlendirilerek iki skorun çarpımı ile H-skoru elde edilmiştir. Hem tümör hücreleri hem TİL'ler için 0'dan büyük skor değeri pozitif olarak kabul edilmiştir. PD-L1 pozitif boyanma oranının genellikle %5'in altında olduğu ve primer BHRHK tanılı 53 olgunun sadece 6'sında (%11) tümör hücrelerinde %5'in üzerinde PD-L1 pozitifliği olduğu belirtilmiştir. PD-L1 ekspresyon oranı, primer ve metastatik tümörlerde benzer bulunmuştur. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile ileri patolojik evre ve yüksek nükleer derece arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (209,210). Choueiri ve ark.'larının 2014 yılında berrak hücreli dışı RHK tanılı olgular üzerinde yaptığı çalışmada, PD-L1 ekspresyonu hem tümör hücreleri hem de TİL'lerde değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu için %5 eşik değeri kullanılmış, TİL'lerde ise PD-L1 ekspresyon oranı (0: %0, 1: <%5, 2: ≥%5) ve yaygınlığı (0: negatif, 1: fokal, 2: hafif, 3: orta ve 4: belirgin) ayrı ayrı değerlendirilerek iki skorun çarpımı ile sonuç H-skoru elde edilmiştir. Skor 0 üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda nükleer derece ve patolojik evrenin daha ileri olduğu saptanmış olup; tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir. TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, yaş, cinsiyet, tümör çapı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda PD-L1 negatif olgulara göre ölüm riskinde artış tespit edilmiştir. Tümör hücreleri veya TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda PD-L1 negatif olgulara göre rekürrensiz sağkalım süresinin kısaldığı saptanmıştır (210). Abbas ve

ark.'larının 2016 yılında yaptığı berrak hücreli dışı RHK olgularını ele alan çalışmasında, PD-L1 ekspresyonu sadece tümör hücrelerinde değerlendirilmiş; eşik değer %5 olarak alınmıştır. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile tümör agresifliği veya ileri evre hastalık ile ilişki izlenmemiştir (197). Çalışmamızda, PD-L1 için SP142 klonu kullanıldı. İki farklı eşik değer temel alınarak PD-L1 ekspresyonu hem tümör hücrelerinde, hem TİL'lerde değerlendirildi ve ayrıca ekspresyon yoğunluğu belirlendi. Olguların ikisinde tümör hücrelerinde %1 (+) boyanma, birinde %10 (+) boyanma izlenmiş olup olgu sayısının yetersizliği nedeniyle tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler ve sağkalım arasında istatistiksel olarak analiz yapılamadı. Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre tümör çapının daha küçük olduğu tespit edildi. Eşik değer %5 olarak alındığında, istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu saptanan olgularda TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu saptanmayan olgulara göre, PRYDİ ve lokal rekürrens görülme oranının daha yüksek olduğu izlendi. PD-L1 ekspresyon oranı ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, patolojik evre, nükleer derece, nekroz, RKİ, RPI, RSİ, uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Eşik değer %1 ve %5 olarak alındığında her iki durumda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyon oranı ile PFS ve OS arasında anlamlı ilişki izlenmedi. Ancak, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, her iki skorlamaya göre TİL'lerde PD-L1 pozitif olgularda, negatif olgulara göre OS'nin belirgin şekilde azaldığı dikkatimizi çekti. Ayrıca eşik değer %5 iken, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen TİL'lerde PD-L1 pozitif olgularda PFS'nin belirgin şekilde azaldığı saptandı.

KHDAK'larını ele alan çalışmalar değerlendirildiğinde, Gaule ve ark.'larının (211) çalışmasında, 6 farklı PD-L1 klonu (E1L3N, SP142, 9A11, SP263, 28-8 ve 22c3) arasında yüksek düzeyde uyumluluk izlenirken; Hendry ve ark.'larının (212) çalışmasında, dört farklı PD-L1 klonu (SP263, SP142, 22C3, 28-8) arasındaki uyumun düşük olduğu tespit edilmiş ve tümör hücrelerinde en fazla oranda boyanma gösteren klonun SP263 olduğu, tümör hücreleri ve TİL'lerde en az oranda boyanma gösteren klonun ise SP142 olduğu belirtilmiştir. McLaughlin ve ark.'larının (213) çalışmasında, iki farklı PD-L1 klonu (E1L3N ve SP142) arasındaki uyumun düşük

olduğu ve E1L3N klonu ile ekspresyon oranının daha yüksek olduğu saptanmış; Hirsch ve ark.'larının (214) alışmasında, SP142 klonu ile elde edilen PD-L1 ekspresyon oranının 28-8, 22C3 ve SP263 klonlarına göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Hirsch ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, diğer klonlara göre SP142 klonu ile ekspresyon oranının daha düşük olmasının, SP142 klonunun PD-L1'in sitoplazmik domeinine bağlanırken, 28-8, 22C3 ve SP263 klonlarının PD-L1'in ekstrasellüler domeinine bağlanmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (214). Literatürde BHRHK'ları konu alan, farklı PD-L1 klonlarının karşılaştırıldığı çalışma bulunmamaktadır. Ruf ve ark.'larının 2016 yılında BHRHK tanılı 72 taze dondurulmuş doku ve 10 formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü doku örneklerini içeren çalışmasında, üç farklı klon kullanılarak (SP142, 405.9A11, E1L3N) immünhistokimya yöntemi ile PD-L1 ekspresyonu incelenmiştir. PD-L1 ile esas olarak TİL'lerde güçlü ekspresyon izlenmiş olup, olguların sadece %10'unda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü doku örneklerine göre, taze dondurulmuş doku örneklerinde PD-L1 ile ekspresyon sıklığı ve yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak 3 farklı klon kullanılmasına rağmen, klonlar arasında karşılaştırma yapılmamıştır (215).

Literatürde, böbrek tümörleri dışındaki bazı tümör gruplarında çalışmalar olmasına rağmen, RHK'larda PD-L1 için kullanılan klonlardaki ve ekspresyon durumunu değerlendirmede kullanılan skortlama sistemindeki farklılıkları değerlendiren bir çalışma yer almamaktadır. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda özellikle tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun düşük oranı ve birçok çalışmada farklı sonuçların elde edilmesinin farklı antikör klonlarının kullanımı, standart bir skortlama sisteminin bulunmaması, bazı çalışmalarda mikroarray yönteminin kullanımı, parafine gömülü doku örnekleri veya taze dondurulmuş doku örneklerinin kullanımı gibi çeşitli faktörler ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. BHRHK'larda anti-PD-L1 ile hedefe yönelik tedavilere karar vermede standardizasyonun sağlanması için, geniş çalışma gruplarında eş zamanlı olarak farklı klon, farklı skortlama sistemi ve eşik değerler ile değerlendirmelerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

Tatlı Doğan ve ark.'larının çalışmasında PD-L1 ekspresyonu ile yüksek PD-1 ve yüksek HIF-2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptanırken, PD-L1 ile HIF-1 α arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir. PD-L1 ile HIF-2 α arasındaki anlamlı ilişki sonucunda, PD-L1'in HIF-2 α tarafından düzenlenebileceği olasılığını öne sürmüşlerdir (168). Messai ve ark.'ları 11'i VHL gen ilişkili BHRHK ve 21'i sporadik BHRHK tanılı toplam 32 olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, PD-L1 gen *promoter* bölgesinin, HRE'leri barındırdığını ve bu HRE'lerin PD-L1 gen ekspresyonunu teşvik eden HIF-1 α ve HIF-2 α transkripsiyon faktörlerine bağlanmasına aracılık ettiğini belirtmişlerdir. Buna bağlı olarak, bu çalışmada BHRHK'larda PD-L1 ekspresyonunun VHL inaktivasyonu ve HIF-2 α ekspresyonu ile korele olduğu gösterilmiştir (216). Noman ve ark.'larının 2014 yılında yaptığı moleküler temelli bir çalışmada ise, HIF-1 α 'nın PD-L1 mRNA ve protein ekspresyonunun ana düzenleyicisi olduğu ve HIF-1 α 'nın PD-L1 üzerindeki HRE'lere doğrudan bağlanarak PD-L1 ekspresyonunu düzenlediğine dair kanıt gösterilmiştir. Hipoksi altında PD-L1'in *up-regülasyonunun*, HIF-2 α 'dan ziyade HIF-1 α 'ya bağlı olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak PD-L1'in HIF-1 α 'nın inhibisyonu ile eşzamanlı bloke edilmesinin, kanser immünterapisi için yeni bir yaklaşımı temsil edebileceğini savunmaktadırlar (184). Barsoum ve ark.'ları 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada, hipoksinin HIF-1 α aracılığıyla tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonunu indüklediğini ve böylece tümör hücrelerinde sitotoksik T hücre aracılı lizise karşı direnci artırdığını göstermiştir (217). Bu iki çalışmada, hipoksik koşullarda HIF-1 α 'nın miyeloid kökenli süpresör hücrelerde, makrofajlarda, meme ve prostat kanser hücrelerinde PD-L1'in *promoter* bölgesindeki HRE'lere bağlanarak PD-L1 ekspresyonunu aktive edebildiği gösterilmiştir (184,217). Chang ve ark.'ları tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada, hipoksinin HIF-1 α aracılığıyla pulmoner pleomorfik karsinom ve oral skuamöz hücreli karsinom gibi solid tümörlerde de PD-L1'i *up-regüle* ettiği ve böylece PD-1/PD-L1 yolağı üzerinden immün yanıtı kaçırsa neden olduğu tespit edilmiştir (218). Çalışmamızda, HIF-1 α ve HIF-2 α ile TİL'lerde PD-1 ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişki incelendi, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Çalışmamızda, tümör çapı, patolojik evre, nükleer derece, nekroz, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon durumunu içeren birçok

klirikopatolojik parametre ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanması, BHRHK'larda prognozu öngörmede histopatolojik parametrelerin temel alınmaya devam edileceğini göstermektedir. HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon izlendi. Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon mevcuttu. Ancak HIF-1 α ve HIF-2 α ile TİL'lerde PD-1 ve TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmadı. HIF-1 α ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler ve sağkalım parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görölmedi. HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda tümör çapının daha küçük olduğu, nekroz ve progresyon görölme oranının daha düşük olduğu tespit edildi. Eşik değer olarak %1'i temel aldığımızda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda nekroz, MVI, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon görölme oranının daha yüksek olduğu ve OS ve PFS'nin daha kısa olduğu saptandı. Bu bulgularla TİL'lerde PD-1 ekspresyon varlığının kötü prognostik faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündük. Eşik değer olarak %1'i temel aldığımızda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda tümör çapının daha küçük olduğu izlendi.

İmmünhistokimyasal olarak değerlendirdiğimiz HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1 ve PD-L1 ile ilgili kullanılan klon, ekspresyonu değerlendirme kriterleri ve pozitif olgular için temel alınacak eşik değer ile ilgili standardizasyonun olmaması bu belirteçlerin prognozu öngörmede kullanımını kısıtlayıcı önemli faktörlerdir. Daha geniş serilerde farklı klonlar kullanılarak ve özellikle PD-1 ve PD-L1 için %1 eşik değer temel alınarak ekspresyon durumlarının değerlendirilmesine yönelik çalışmalar yapılması, elde edilen sonuçlar çerçevesinde prognoz için standardizasyonun sağlanması gereklidir. PD-1 ve PD-L1 ile tümörden ziyade TİL'lerde ekspresyon saptadığımızdan dolayı, bu belirteçlerle ekspresyon durumunu değerlendirmede, özellikle tümörün yoğun lenfosit infiltrasyonu içeren alanlarının seçilmesinin daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Bu çalışmada 103 BHRHK tanımlı olguda HIF-1 α , HIF-2 α , PD-1, PD-L1 ekspresyon durumu, bu belirteçlerin birbiriyle ve yaş, cinsiyet, tümör çapı, patolojik evre, nükleer derece, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSYDİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon, OS ve PFS ile ilişkisi araştırıldı. Ayrıca tüm klinikopatolojik parametreler patolojik evre ve nükleer derece ile karşılaştırıldı. Aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- 1- 2010 TNM evreleme sistemine göre patolojik evreleme yapılan olguların %59,2'si pT1, %10,2'si pT2, %29,1'i pT3 ve %1'i pT4 olarak değerlendirildi.
- 2- Fuhrman nükleer derecelendirme sistemine göre değerlendirilen olguların %27,2'sinde nükleer derece 1, %39,8'inde nükleer derece 2, %25,2'sinde nükleer derece 3, %7,8'inde nükleer derece 4 olarak tespit edildi.
- 3- Erkek olgularda tümörün daha ileri evrede olduğu ve nükleer derecenin daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,026; p=0,048).
- 4- Tümör çapı küçük olan olguların, tümör çapı büyük olan olgulara göre daha erken evrede ve daha düşük nükleer dereceye sahip olduğu saptandı (sırasıyla p=0,001; p=0,007).
- 5- Nükleer derecesi yüksek olan olgular daha ileri patolojik evrede idi (p= 0,005).
- 6- Nekroz bulunan olgularda daha ileri patolojik evre ve daha yüksek nükleer derece izlendi (p=0,00).
- 7- RKİ varlığı daha ileri patolojik evre ve daha yüksek nükleer derece ile ilişkiliydi (sırasıyla p=0,012; p=0,025).
- 8- PRYDİ eşlik eden olgularda daha ileri patolojik evre ve daha yüksek nükleer derece izlendi (p=0,00).
- 9- RSİ bulunan olguların daha ileri patolojik evrede olduğu görüldü (p=0,00).

10- Lokal rekürrens izlenen olgularda patolojik evrenin daha ileri olduğu görüldü ($p=0,006$).

11- Uzak metastaz görülen olgular daha ileri patolojik evrede idi ve bu olgularda nükleer derece daha yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,00$; $p=0,002$).

12- Progresyon gösteren olguların daha ileri patolojik evrede olduğu tespit edildi ve bu olgularda nükleer derece daha yüksek idi (sırasıyla $p=0,00$; $p=0,003$).

13- HIF-1 α ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

14- HIF-2 α ekspresyonu yüksek olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olgular ve HIF-2 α negatif olgulara göre daha küçük tümör çapı, daha az oranda nekroz ve daha az oranda progresyon izlendi (sırasıyla $p=0,012$; $p=0,003$; $p=0,043$). HIF-2 α ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, yaş, cinsiyet, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

15- HIF-1 α ekspresyonu ile HIF-2 α ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptandı ($p=0,003$). HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan olguların çoğunda HIF-2 α ile yüksek ekspresyon ve HIF-1 α negatif olguların çoğunda HIF-2 α negatif tespit edildi.

16- Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre nekroz görülme oranı daha fazla idi ($p=0,029$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile MVİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,013$). MVİ izlenen olguların tamamında PD-1 ekspresyonu mevcuttu (%100). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda lokal rekürrens, uzak metastaz ve progresyon görülme oranı TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre daha yüksekti (sırasıyla $p=0,017$; $p=0,001$; $p=0,002$). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, RKİ, PRYDİ, RSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

17- Eşik değeri %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile patolojik evre, nükleer derece, yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

18- Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre tümör çapının daha küçük olduğu saptandı ($p=0,040$). Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

19- Eşik değeri %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, nekroz, RKİ, PRYDİ, RSİ, lokal rekürrens, uzak metastaz, progresyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre daha fazla oranda PRYDİ ve lokal rekürrens izlendi (sırasıyla $p=0,072$; $p=0,057$).

20- Eşik değeri %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre TİL'lerde PD-L1 ekspresyon oranı daha yüksek saptandı ($p=0,002$).

21- Eşik değeri %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi ($p=0,23$).

22- Eşik değeri %1 ve %5 olarak alındığında her iki durumda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

23- Eşik değeri %1 ve %5 olarak alındığında her iki durumda, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

24- Olgularda OS $70,4\pm 3,8$ ay, PFS $67\pm 4,2$ ay olarak hesaplandı.

25- 65 yaş veya üzeri olgularda istatistiksel olarak anlamlı şekilde OS daha kısa izlendi (Log Rank $p=0,00$). İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, 65 yaş veya üzeri grupta yer alan olgularda, 65 yaş altı grupta yer alan olgulara göre PFS daha kısa idi (Log Rank $p=0,101$).

26- Erkek olgularda kadın olgulara göre OS daha kısa tespit edildi (Log Rank $p=0,031$).

27- Tümör çapı 4 cm veya üzeri olan olgularda PFS'nin daha kısa olduğu saptandı (Log Rank $p=0,008$). Tümör çapı ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (Log rank $p=0,068$). Ancak tümör çapı 4 cm veya üzeri olan olgularda, tümör çapı 4 cm'nin altında olan olgulara göre OS'nin daha kısa olduğu dikkati çekti.

28- İleri evre olgularda OS ve PFS daha kısa idi (Log Rank $p=0,00$).

29- Yüksek nükleer dereceye sahip olgularda OS ve PFS daha kısa idi (sırasıyla Log Rank $p=0,008$; $p=0,005$).

30- Nekroz bulunan olgularda OS ve PFS daha kısa idi (Log Rank $p=0,00$).

31- PRYDİ varlığının daha kısa OS ve PFS ile ilişkili olduğu tespit edildi (sırasıyla Log Rank $p=0,01$; $p=0,00$).

32- RSİ varlığı, daha kısa OS ve PFS ile ilişkili bulundu (sırasıyla Log Rank $p=0,01$; $p=0,00$).

33- Lokal rekürrens izlenen olgularda daha kısa OS ve PFS izlendi (sırasıyla Log Rank $p=0,001$; $p=0,00$).

34- Uzak organ metastazı izlenen olgularda, OS ve PFS daha kısa idi (Log Rank $p=0,00$).

35- Progresyon gösteren olgularda daha kısa OS mevcuttu (Log Rank $p=0,00$).

36- HIF-1 α ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla Log Rank p=0,607; p=0,889).

37- HIF-2 α ekspresyonu ile PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi (Log Rank p=0,036). HIF-2 α ekspresyonu yüksek olan olgularda, HIF-2 α ekspresyonu düşük olan olgulara ve HIF-2 α negatif olgulara göre PFS'nin daha uzun olduğu saptandı. HIF-2 α ekspresyonu ile OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (Log Rank p=0,315).

38- Eşik değer %1 olarak alındığında, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre OS ve PFS'nin daha kısa olduğu tespit edildi (sırasıyla Log Rank p=0,029; p=0,001). Eşik değer %5 olarak alındığında ise, TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla Log Rank p=0,411; p=0,1).

39- Eşik değer %1 veya %5 olarak alındığında, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile OS ve PFS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi (sırasıyla OS için Log Rank p=0,098; p=0,136; sırasıyla PFS için Log Rank p=0,710; p=0,261). Bununla birlikte, TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgularda OS ve PFS'nin TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre belirgin şekilde azaldığı dikkati çekti.

KAYNAKLAR

- 1- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 1999. *CA Cancer J Clin* 1999;49:8-31.
- 2- Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, et al. Integrated molecular analysis of clear cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2013;45(8):860-867.
- 3- The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature* 2013;499:43-49.
- 4- Hsieh JJ, Purdue MP, Signoretti S, Swanton C, Albiges L, Schmidinger M, et al. Renal cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17009.
- 5- Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE. Chapter 1 Tumours of the kidney. In: *WHO Classification of Tumours of the urinary system and male genital organs. Volume 4th Edition.* Lyon: IARC; 2016. p. 11-76.
- 6- Akcaglar S, Yavascaoglu I, Vuruskan H, Oktay B. Genetic evaluation of von Hippel-Lindau disease for early diagnosis and improved prognosis. *Int Urol Nephrol* 2008;40:615-620.
- 7- Verbiest A, Couchy G, Job S, Zucman-Rossi J, Caruana L, Lerut E, et al. Molecular subtypes of clear cell renal cell carcinoma are associated with outcome during Pazopanib therapy in the metastatic setting. *Clin Genitourin Cancer* 2018;16(3):605-612.
- 8- Xu F, Xu L, Wang Q, An G, Feng G, Liu F. Clinicopathological and prognostic value of programmed death ligand-1 (PD-L1) in renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:14595-14603.
- 9- Sznol M, Chen L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:1021-1034.

- 10- Nabi S, Kessler ER, Bernard B, Flaig TW, Lam ET. Renal cell carcinoma: a review of biology and pathophysiology *F1000Res* 2018;7:307.
- 11- Shariat SF and Xylinas E. Biomarkers in personalised treatment of renal-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2012;13:751-752.
- 12- Van der Jeught K, Bialkowski L, Daszkiewicz L, Broos K, Goyvaerts C, Renmans D, et al. Targeting the tumor microenvironment to enhance antitumor immune responses, *Oncotarget* 2015;6(3):1359-1381.
- 13- Bostwick DG and Cheng L. *Urologic surgical pathology*. 2nd Ed. Indianapolis: Elsevier Health Sciences 2008:77-173.
- 14- Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*. 12th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins 2012:232-240.
- 15- Mills SE. *Histology for pathologists*. 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins 2007:891-970.
- 16- Moore Keith L, Persaud TVN. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Dalçık H, Yıldırım M, Çev. Ed, 10th Ed. Ankara: Nobel tıp Kitabevi 2016:243-256.
- 17- Carlson BM. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5th Ed. Elsevier saunders 2014:376-383.
- 18- <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/25-3-gross-anatomy-of-the-kidney/>. Erişim Tarihi: 03.03.2019.
- 19- Yörükoğlu K, Tuna B. Eds. *Üropatoloji*. İzmir: Kongre Kitabevi 2016:1-167.
- 20- Lemly KV, Kriz W. Structure and function of the renal vasculature. In: Tisher CC, Brenner BM, eds. *Renal Pathology*. 2nd Ed. Philadelphia: PA: JB Lippincott 1994:981-1026.
- 21- Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. 9th Ed. Appleton & Lange 1998:384-394.

- 22- Muirhead EE. Discovery of the renomedullary system of blood pressure control and its hormones. *Hypertension* 1990;15:114-116.
- 23- Oberling C, Riviere M, Haguenu F. Ultrastructure of clear cell epitheliomas of the kidney (hypernephroma or Grawitz tumor) and its implication for the histogenesis of these tumors. *Bull Assoc Fr Etud Cancer* 1959;46:356-381.
- 24- Campbell SC, Rini BI. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2009;373(9669):1119-1132.
- 25- Mills SE, eds. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Doğusoy GB, Çev. Ed, 6th Ed. İzmir: O'Tıp Kitabevi 2016:1871-2033.
- 26- Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011;60(4):615-621.
- 27- Motzer RJ, Jonasch E, Agarwal N, Bhayani S, Bro WP, Chang SS, et al. Kidney Cancer, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15(6):804-834.
- 28- Kreiger N, Marett LD, Dodds L, Hilditch S, Darlington G. Risk factors for renal cell carcinoma: results of a population-based case-control study. *Cancer Causes Control* 1993;4:101-110.
- 29- McCredie M, Stewart JH. Risk factors for kidney cancer in New South Wales: I. Cigarette smoking. *Eur J Cancer* 1992;28A:2050-2054.
- 30- Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr, Jarvholm B. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med* 2000;343:1305-1311.
- 31- Seretis A, Cividini S, Markozannes G, Tseretopoulou X, Lopez DS, Ntzani EE, et al. Association between blood pressure and risk of cancer development: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci Rep* 2019;9(1):8565.

- 32- Heath CW, Jr, Lally CA, Calle EE, McLaughlin JK, Thun MJ. Hypertension, diuretics, and antihypertensive medications as possible risk factors for renal cell cancer. *Am J Epidemiol* 1997;145:607-613.
- 33- Lindblad P, Chow WH, Chan J, Bergstrom A, Wolk A, Gridley G, et al. The role of diabetes mellitus in the a etiology of renal cell cancer. *Diabetologia* 1999;42:107-112.
- 34- Joh HK, Willett WC, Cho E. Type 2 diabetes and the risk of renal cell cancer in women. *Diabetes Care* 2011;34:1552-1556.
- 35- Pesch B, Haerting J, Ranft U, Klimpel A, Oelschlägel B, Schill W. Occupational risk factors for renal cell carcinoma: agent-specific results from a case-control study in Germany. MURC Study Group. Multicenter urothelial and renal cancer study. *Int J Epidemiol* 2000;29(6):1014-1024.
- 36- Chow WH, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol* 2010;7(5):245-257.
- 37- Renovanz M, Kim EM. Intratumoral heterogeneity, its contribution to therapy resistance and methodological caveats to assessment. *Front Oncol* 2014;4:142.
- 38- Guarch R, Lawrie CH, Larrinaga G, Angulo JC, Pulido R, López JI. High levels of intratumor heterogeneity characterize the expression of epithelial-mesenchymal transition markers in high-grade clear cell renal cell carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 2018;34:27-30.
- 39- Lanigan D, Conroy R, Barry-Walsh C, Loftus B, Royston D, Leader MA. A comparative analysis of grading systems in renal carcinoma. *Histopathology* 1994;24(5):473-476.
- 40- Storkel S, Thoenes W, Jacobi GH, Lippold R. Prognostic parameters in renal cell carcinoma – a new approach. *Eur Urol* 1989;16(6):416-422.

- 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. *Am J Surg Pathol* 2013;37(10):1490-1504.
- 42- Neumann HP, Bender BU, Berger DP, Laubenberger J, Schultze-Seemann W, Wetterauer U, et al. Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. *J Urol* 1998;160:1248-1254.
- 43- Antonio LB, Jose CC, Liang C, Marina S, Ziya K, Rodolpo M. Update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol* 2009;16:432-443.
- 44- Şenbabaoglu Y, Gejman RS, Winer AG, Liu M, Van Allen EM, de Velasco G, et al. Tumor immune microenvironment characterization in clear cell renal cell carcinoma identifies prognostic and immunotherapeutically relevant messenger RNA signatures. *Genome Biol* 2016;17(1):231.
- 45- Geissler K, Fornara P, Lautenschläger C, Holzhausen HJ, Seliger B, Riemann D. Immune signature of tumor infiltrating immune cells in renal cancer. *Oncoimmunology* 2015;4:985082.
- 46- de Peralta-Venturina M, Moch H, Amin M, Tamboli P, Hailemariam S, Mihatsch M, et al. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases. *Am J Surg Pathol* 2001;25:275-284.
- 47- Hewett-Emmett D, Tashian RE. Functional diversity, conservation, and convergence in the evolution of the alpha-, beta-, and gamma-carbonic anhydrase gene families. *Mol Phylogenet Evol* 1996;5(1):50-77.
- 48- Genega EM, Ghebremichael M, Najarian R, Fu Y, Wang Y, Argani P, et al. Carbonic anhydrase IX expression in renal neoplasms: correlation with tumor type and grade. *Am J Clin Pathol* 2010;134:873-879.

- 49- Tan PH, Cheng L, Rioux-Leclercq N, Merino MJ, Netto G, Reuter VE, et al. ISUP Renal Tumor Panel. Renal tumors: diagnostic and prognostic biomarkers. *Am J Surg Pathol* 2013;37:1518-1531.
- 50- Reuter VE, Tickoo SK. Differential diagnosis of renal tumours with clear cell histology. *Pathology* 2010;42:374-383.
- 51- Williamson SR, Halat S, Eble JN, Grignon DJ, Lopez-Beltran A, Montironi R, et al. Multilocular cystic renal cell carcinoma: similarities and differences in immunoprofile compared with clear cell renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2012;36(10):1425-1433.
- 52- Moch H, Presti J C Jr, Sauter G, Buchholz N, Jordan P, Mihatsch M J, et al. Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:27-30.
- 53- Bakshi N, Kunju LP, Giordano T, Shah RB. Expression of renal cell carcinoma antigen (RCC) in renal epithelial and nonrenal tumors: diagnostic implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15:310-315.
- 54- Kim WY, Kaelin WG. Role of VHL gene mutation in human cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:4991-5004.
- 55- Staller P, Sulitkova J, Lisztwan J, Moch H, Oakeley E J, Krek W. Chemokine receptor CXCR4 downregulated by von Hippel-Lindau tumour suppressor pVHL. *Nature* 2003;425:307-311.
- 56- Nickerson ML, Jaeger E, Shi Y, Durocher JA, Mahurkar S, Zaridze D, et al. Improved identification of von Hippel-Lindau gene alterations in clear cell renal tumors. *Clin Cancer Res* 2008;14(15):4726-4734.
- 57- Gnarra JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, Wei MH, Li H, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet* 1994;7:85-90.

- 58- Shuin T, Kondo K, Torigoe S, Kishida T, Kubota Y, Hosaka M, et al. Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas. *Cancer Res* 1994;54:2852-2855.
- 59- Ivan M, Kondo K, Yang H, Kim W, Valiando J, Ohh M, et al. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science* 2001;292:464-468.
- 60- Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂ - regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001;292:468-472.
- 61- Beroukhi R, Brunet JP, Di Napoli A, Mertz KD, Seeley A, Pires MM, et al. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-hippel lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res* 2009;69(11):4674-4681.
- 62- Dalgliesh GL, Furge K, Greenman C, Chen L, Bignell G, Butler A, et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature* 2010;463(7279):360-363.
- 63- Kaku H, Ito S, Ebara S, Ouchida M, Nasu Y, Tsushima T, et al. Positive correlation between allelic loss at chromosome 14q24-31 and poor prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Urology* 2004;64(1):176-181.
- 64- Klatte T, Rao PN, de Martino M, LaRochelle J, Shuch B, Zomorodian N, et al. Cytogenetic profile predicts prognosis of patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009;27:746-753.
- 65- Schraml P, Struckmann K, Bednar R, Fu W, Gasser T, Wilber K, et al. CDKN2A mutation analysis, protein expression, and deletion mapping of chromosome 9p in conventional clear-cell renal carcinomas: evidence for a second tumor suppressor gene proximal to CDKN2A. *Am J Pathol* 2001;158:593-601.

- 66- Li L, Shen C, Nakamura E, Ando K, Signoretti S, Beroukhi R, et al. SQSTM1 is a pathogenic target of 5q copy number gains in kidney cancer. *Cancer Cell* 2013;24(6):738-750.
- 67- Pavlovich CP, Walther MM, Eyler RA, Hewitt SM, Zbar B, Linehan WM, et al. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Am J Surg Pathol* 2002;26(12):1542-1552.
- 68- Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med* 2006;355(13):1345-1356.
- 69- Ricketts CJ, Shuch B, Vocke CD, Metwalli AR, Bratslavsky G, Middleton L, et al. Succinate dehydrogenase kidney cancer: an aggressive example of the Warburg effect in cancer. *J Urol* 2012;188(6):2063-2071.
- 70- Delahunt B, Srigley JR. The evolving classification of renal cell neoplasia. *Semin Diagn Pathol* 2015;32(2):90-102.
- 71- Tickoo SK, Reuter VE. Differential diagnosis of renal tumors with papillary architecture. *Adv Anat Pathol* 2011;18(2):120-132.
- 72- Dhakal HP, McKenney JK, Khor LY, Reynolds JP, Magi-Galluzzi C, Przybycin CG. Renal neoplasms with overlapping features of clear cell renal cell carcinoma and clear cell papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic study of 37 cases from a single institution. *Am J Surg Pathol* 2016;40(2):141-154.
- 73- Williamson SR. What is the malignant potential of clear cell papillary renal cell carcinoma? *Urol Oncol* 2016;34(9):420-421.
- 74- Kuroda N, Hosokawa T, Michal M, Hes O, Sima R, Ohe C, et al. Clear cell renal cell carcinoma with focal renal angiomyoadenomatous tumor-like area. *Ann Diagn Pathol* 2011;15:202-206.
- 75- Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, et al. ISUP renal tumor panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP)

vancouver classification of renal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2013;37(10):1469-1489.

76- Zhao J, Eyzaguirre E. Clear Cell Papillary Renal Cell Carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2019.

77- Williamson SR, Zhang S, Eble JN, Grignon DJ, Martignoni G, Brunelli M, et al. Clear cell papillary renal cell carcinoma-like tumors in patients with von Hippel-Lindau disease are unrelated to sporadic clear cell papillary renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(8):1131-1139.

78- Delahunt B. Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma. *Mod Pathol* 2009;22(2):24-36.

79-Jimenez AR, Rolon MMR, Eyzaguirre E, Clement C. Vaginal bleeding as initial presentation of an aggressive renal cell carcinoma: A Case Report and Review of the Literature. *Case Reports in Pathology* 2018;2109279.

80- Cancer Stat Facts: Kidney and Renal Pelvis Cancer. <https://seer.cancer.gov>
Erişim tarihi: 3 Mart 2019.

81- Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(2):225-239.

82- Bertout JA, Patel SA, Simon MC. The impact of O₂ availability on human cancer. *Nat Rev Cancer* 2008;8:967-975.

83-Zhou J, Schmid T, Schnitzer S, Brune B. Tumor hypoxia and cancer progression. *Cancer Lett* 2006;237:10-16.

84- Wigerup C, Pahlman S, Bexell D. Therapeutic targeting of hypoxia and hypoxia-inducible factors in cancer. *Pharmacol Ther* 2016;164:152-169.

85- Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell* 2007;129:465-472.

- 86- Jogi A, Ora I, Nilsson H, Lindeheim A, Makino Y, Poellinger L, et al. Hypoxia alters gene expression in human neuroblastoma cells toward an immature and neural crest-like phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:7021-7026.
- 87- Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, Housman DE, Koch CJ, Lowe SW, et al. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* 1996;379:88-91.
- 88- An WG, Kanekal M, Simon MC, Maltepe E, Blagosklonny MV, Neckers LM. Stabilization of wild-type p53 by hypoxia-inducible factor 1alpha. *Nature* 1998;392:405-408.
- 89- Bersten DC, Sullivan AE, Peet DJ, Whitelaw ML. bHLH-PAS proteins in cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13:827-841.
- 90- Linehan WM, Ricketts CJ. The metabolic basis of kidney cancer. *Semin Cancer Biol* 2013;23:46-55.
- 91- Wettersten HI, Omran Abu Aboud OA, Primo N, et al. Metabolic reprogramming in clear cell renal cell carcinoma. *Nat Rev Nephrol* 2017;13:410-419.
- 92- Maher ER, Hartmut PH, Neumann HPH. von Hippel-Lindau disease: a clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet* 2011;19:617-623.
- 93- Brugarolas J. Molecular genetics of clear-cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2014;32:1968-1976.
- 94- Kumar H, Choi DK. Hypoxia inducible factor pathway and physiological adaptation: a cell survival pathway? *Mediators Inflamm* 2015;2015:584758.
- 95- Schofield CJ, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:343-354.
- 96- Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer* 2011;12(1):9-22.

- 97- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:721-732.
- 98- Martinez-Saez O, Borau PG, Alonso-Gordoa T, Molina-Cerrillo J, Grande E. Targeting HIF-2 α in clear cell renal cell carcinoma: A promising therapeutic strategy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2017;111:117-123.
- 99- Akeno N, Czyzyk-Krzeska MF, Gross TS, Clemens TL. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor gene transcription in human osteoblast-like cells through the hypoxia-inducible factor-2 α . *Endocrinology* 2001;142(2):959–962.
- 100- Holmquist-Mengelbier L, Fredlund E, Lofstedt T, Noguera R, Navarro S, Nilsson H, et al. Recruitment of HIF-1 α and HIF-2 α to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2 α promotes an aggressive phenotype. *Cancer Cell* 2006;10:413-423.
- 101- Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006;70(5):1469-1480.
- 102- Beasley NJ, Leek R, Alam M, Turley H, Cox GJ, Gatter K, et al. Hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α in head and neck cancer: relationship to tumor biology and treatment outcome in surgically resected patients. *Cancer Res* 2002;62:2493-2497.
- 103- Volm M, Koomagi R. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) and its relationship to apoptosis and proliferation in lung cancer. *Anticancer Res* 2000;20:1527-1533.
- 104- Noguera R, Fredlund E, Piqueras M, Pietras A, Beckman S, Navarro S, et al. HIF-1 α and HIF-2 α are differentially regulated in vivo in neuroblastoma: high HIF-1 α correlates negatively to advanced clinical stage and tumor vascularization. *Clin Cancer Res* 2009;15:7130-7136.
- 105- Raval RR, Lau KW, Tran MG, Sowter HM, Mandriota SJ, Li JL, et al. Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. *Mol Cell Biol* 2005;25:5675-5686.

- 106- Hu CJ, Wang LY, Chodosh LA, Keith B, Simon MC. Differential Roles of Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 alpha) and HIF-2alpha in Hypoxic Gene Regulation. *Mol Bio Cell* 2003;23:9361-9374.
- 107- Korkolopoulou P, Patsouris E, Konstantinidou AE, Pavlopoulos PM, Kavantzias N, Boviatsis E, et al. Hypoxiainducible factor 1alpha/vascular endothelial growth factor axis in astrocytomas. Associations with microvessel morphometry, proliferation and prognosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2004;30:267-278.
- 108- Theodoropoulos VE, Lazaris A, Sofras F, Gerzelis I, Tsoukala V, Ghikonti I, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha expression correlates with angiogenesis and unfavorable prognosis in bladder cancer. *Eur Urol* 2004;46:200-208.
- 109- Yamamoto Y, Ibusuki M, Okumura Y, Kawasoe T, Kai K, Iyama K, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha is closely linked to an aggressive phenotype in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008;110:465-475.
- 110- Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000;60:4693-4696.
- 111- Griffiths EA, Pritchard SA, Valentine HR, Whitchelo N, Bishop PW, Ebert MP, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression in the gastric carcinogenesis sequence and its prognostic role in gastric and gastro-oesophageal adenocarcinomas. *Br J Cancer* 2007;96:95-103.
- 112- Mizokami K, Kakeji Y, Oda S, Maehara Y. Relationship of hypoxia-inducible factor 1alpha and p21WAF1/CIP1 expression to cell apoptosis and clinical outcome in patients with gastric cancer. *World J Surg Oncol* 2006;4:94.
- 113- Takahashi R, Tanaka S, Hiyama T, Ito M, Kitadai Y, Sumii M, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression and angiogenesis in gastrointestinal stromal tumor of the stomach. *Oncol Rep* 2003;10:797-802.

- 114- Scrideli CA, Carlotti CG Jr , Mata JF, Neder L , Machado HR , Oba-Sinjo SM , et al. Prognostic significance of co-overexpression of the EGFR/IGFBP-2/HIF-2A genes in astrocytomas. *J Neurooncol* 2007;83:233-239.
- 115- Li Z, Bao S, Wu Q, Wang H, Eyler C, Sathornsumetee S, et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell* 2009;15:501-513.
- 116- Helczynska K, Larsson AM, Holmquist Mengelbier L, Bridges E, Fredlund E, Borgquist S, et al. Hypoxia-Inducible Factor-2alpha correlates to distant recurrence and poor outcome in invasive breast cancer. *Cancer Research* 2008;68:9212-9220.
- 117- Kawanaka T, Kubo A, Ikushima H, Sano T, Takegawa Y, Nishitani H. Prognostic significance of HIF-2alpha expression on tumor infiltrating macrophages in patients with uterine cervical cancer undergoing radiotherapy. *J Med Invest* 2008;55(1-2):78-86.
- 118- Bangoura G, Liu ZS, Qian Q, Jiang CQ, Yang GF, Jing S. Prognostic significance of HIF-2alpha/EPAS1 expression in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2007;13:3176-3182.
- 119- Yoshimura H, Dhar DK, Kohno H, Kubota H, Fujii T, Ueda S, et al. Prognostic impact of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha in colorectal cancer patients: correlation with tumor angiogenesis and cyclooxygenase-2 expression. *Clin Cancer Res* 2004;10:8554–8560.
- 120- Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Simopoulos C, Turley H, Talks K, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF1A and HIF2A), angiogenesis, and chemoradiotherapy outcome of squamous cell head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53:1192-1202.
- 121- Winter SC, Shah KA, Han C, Campo L, Turley H, Leek R, et al. The relation between hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha expression with

anemia and outcome in surgically treated head and neck cancer. *Cancer* 2006;107:757-766.

122- Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Sivridis E, Turley H, Talks K, Pezzella F, et al. Relation of hypoxia inducible factor 1 alpha and 2 alpha in operable non-small cell lung cancer to angiogenic/molecular profile of tumours and survival. *Br J Cancer* 2001;85:881-890.

123- Giatromanolaki A, Sivridis E, Kouskourakis C, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI. Hypoxia-inducible factors 1 alpha and 2alpha are related to vascular endothelial growth factor expression and a poorer prognosis in nodular malignant melanomas of the skin. *Melanoma Res* 2003;13:493-501.

124- Osada R, Horiuchi A, Kikuchi N, Yoshida J, Hayashi A, Ota M, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha, hypoxia-inducible factor 2alpha, and von Hippel-Lindau protein in epithelial ovarian neoplasms and allelic loss of von Hippel-Lindau gene: nuclear expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha is an independent prognostic factor in ovarian carcinoma. *Hum Pathol* 2007;38:1310-1320.

125- Shibaji T, Nagao M, Ikeda N, Kanehiro H, Hisanaga M, Ko S, et al. Prognostic significance of HIF-1 alpha overexpression in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2003;23:4721-4727.

126- Sun HC, Qiu ZJ, Liu J, Sun J, Jiang T, Huang KJ, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and associated proteins in pancreatic ductal adenocarcinoma and their impact on prognosis. *Int J Oncol* 2007;30:1359-1367.

127- Nanni S, Benvenuti V, Grasselli A, Priolo C, Aiello A, Mattiussi S, et al. Endothelial NOS, estrogen receptor beta, and HIFs cooperate in the activation of a prognostic transcriptional pattern in aggressive human prostate cancer. *J Clin Invest* 2009;119:1093-1108.

- 128- Mazumdar J, Hickey MM, Pant DK, Durham AC, Sweet-Cordero A, Vachani A, et al. HIF-2alpha deletion promotes Kras-driven lung tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:14182-14187.
- 129- Kondo Y, Hamada J, Kobayashi C, Nakamura R, Suzuki Y, Kimata R, et al. Over expression of hypoxia-inducible factor-1 in renal and bladder cells increases tumorigenic potency. *J Urol* 2005;173:1762-1767.
- 130- Daponte A, Ioannou M, Mylonis I, Simos G, Minas M, Messinis IE, et al. Prognostic significance of Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha (HIF-1 alpha) expression in serous ovarian cancer: an immunohistochemical study. *BMC Cancer* 2008;8:335.
- 131- Mayer A, Hockel M, Wree A, Leo C, Horn LC, Vaupel P. Lack of hypoxic response in uterine leiomyomas despite severe tissue hypoxia. *Cancer Res* 2008;68:4719-4726.
- 132- Simiantonaki N, Taxeidis M, Jayasinghe C, Kurzik-Dumke U, & Kirkpatrick CJ. Hypoxia-inducible factor 1 alpha expression increases during colorectal carcinogenesis and tumor progression. *BMC Cancer* 2008;8:320.
- 133- Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999;59: 5830-5835.
- 134- Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI. Association of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 2002;95:1055-1063.
- 135- Birner P, Schindl M, Obermair A, Breitenecker G, Oberhuber G. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha in epithelial ovarian tumors: its impact on prognosis and on response to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2001;7:1661-1668.

- 136- Birner P, Gatterbauer B, Oberhuber G, Schindl M, Rössler K, Proding A, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha in oligodendrogliomas: its impact on prognosis and on neoangiogenesis. *Cancer* 2001;92:165-171.
- 137- Lofstedt T, Fredlund E, Holmquist-Mengelbier L, Pietras A, Ovenberger M, Poellinger L, et al. Hypoxia inducible factor-2alpha in cancer. *Cell Cycle* 2007;6:919-926.
- 138- Nallamshetty S, Chan SY and Loscalzo J. Hypoxia: A master regulator of microRNA biogenesis and activity. *Free Radic Biol Med* 2013;64:20- 30.
- 139- Ruan K, Song G and Ouyang G: Role of hypoxia in the hallmarks of human cancer. *J Cell Biochem* 2009;107(6):1053-1062.
- 140- Gort EH, Groot AJ, van der Wall E, van Diest PJ, Vooijs MA. Hypoxic regulation of metastasis via hypoxia-inducible factors. *Curr Mol Med* 2008;8(1):60-67.
- 141- Rockwell S, Dobrucki IT, Kim EY, Marrison ST, Vu VT. Hypoxia and radiation therapy: past history, ongoing research, and future promise. *Curr Mol Med* 2009;9(4):442-458.
- 142- Walsh JC, Lebedev A, Aten E, Madsen K, Marciano L, Kolb HC. The clinical importance of assessing tumor hypoxia: relationship of tumor hypoxia to prognosis and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2014;21(10):1516-1554.
- 143- Moreno Roig E, Yaromina A, Houben R, Groot AJ, Dubois L, Vooijs M. Prognostic Role of Hypoxia-Inducible Factor-2 α Tumor Cell Expression in Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Front Oncol* 2018;8:224.
- 144- Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural Innate and Adaptive Immunity to Cancer. *Annu Rev Immunol* 2011;29:235-271.
- 145- Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:11-22.

- 146- Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol Immunol* 2004;40:845-859.
- 147- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646-674.
- 148- Mellman I, Coukos G, and Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 2011;480:480-489.
- 149- Boudreau JE, Bonehill A, Thielemans K, Wan Y, et al. Engineering Dendritic Cells to Enhance Cancer Immunotherapy. *Mol Ther* 2011;19(5):841-853.
- 150- Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Tumour progression and metastasis. *Ecancermedicalsecience* 2016;10:617.
- 151- Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):252-264.
- 152- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 1992;11(11):3887-3895.
- 153- Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin Cancer Res* 2007;13:709-715.
- 154- Nishimura H, Minato N, Nakano T, Honjo T. Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell responses. *Int Immunol* 1998;10(10):1563-1572.
- 155- Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999;11(2):141-151.
- 156- Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science* 2001;291(5502):319-322.

- 157- McKinney EF, Lee JC, Jayne DR, Lyons PA, Smith KG. T-cell exhaustion, co-stimulation and clinical outcome in autoimmunity and infection. *Nature* 2015;523(7562):612-616.
- 158- Afreen S, Dermime S. The immunoinhibitory B7-H1 molecule as a potential target in cancer: killing many birds with one stone. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2014;7:1-17.
- 159- Blank C, Gajewski TF, Mackensen A. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumorspecific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2005;54:307-314.
- 160- Shin SJ, Jeon YK, Kim PJ, Cho YM, Koh J, Chung DH, et al. Clinicopathologic Analysis of PD-L1 and PD-L2 Expression in Renal Cell Carcinoma: Association with Oncogenic Proteins Status. *Ann Surg Oncol* 2016;23(2):694-702.
- 161- Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC, Dong H, Lohse CM, Webster WS, et al. Tumor B7- H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res* 2006;66:3381-3385.
- 162- Brahmer JR, Hammers H, Lipson EJ. Nivolumab: targeting PD-1 to bolster antitumor immunity. *Future Oncol* 2015;11:1307-1326.
- 163- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136:359-386.
- 164- Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi, R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc* 2009;16:432-443.
- 165- Minardi D, Lucarini G, Filosa A, Milanese G, Zizzi A, Di Primio R, et al. Prognostic role of tumor necrosis, microvessel density, vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1alpha in patients with clear cell renal carcinoma

after radical nephrectomy in a long term follow-up. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2008;21(2):447-455.

166- Minardi D, Lucarini G, Santoni M, Mazzucchelli R, Burattini L, Conti A, et al. Survival in patients with clear cell renal cell carcinoma is predicted by HIF-1 α expression. *Anticancer Res* 2015;35(1):433-438.

167- Kim KS, Sekar RR, Patil D, Dimarco MA, Kissick HT, Bilen MA, et al. Evaluation of programmed cell death protein 1 (PD-1) expression as a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncoimmunology* 2018;7(4):1413519.

168- Tatli Dogan H, Kiran M, Bilgin B, Kiliçarslan A, Sendur MAN, Yalçın B, et al. Prognostic significance of the programmed death ligand 1 expression in clear cell renal cell carcinoma and correlation with the tumor microenvironment and hypoxia-inducible factor expression. *Diagn Pathol* 2018;13(1):60.

169- Ebru T, Fulya OP, Hakan A, Vuslat YC, Necdet S, Nuray C, et al. Analysis of various potential prognostic markers and survival data in clear cell renal cell carcinoma. *Int Braz J Urol* 2017;43(3):440-454.

170- Wu S, Jiang F, Wu H, Wang Y, Xu R, Cao J, et al. Prognostic significance of hypoxia inducible factor-1 α expression in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Mol Med Rep* 2018;17(3):4846-4852.

171- Kang MJ, Kim KM, Bae JS, Park HS, Lee H, Chung MJ, et al. Tumour-infiltrating PD1-Positive Lymphocytes and FoxP3-Positive Regulatory T Cells Predict Distant Metastatic Relapse and Survival of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Transl Oncol* 2013;6(3):282-289.

172- Na X, Wu G, Ryan CK, Schoen SR, di'Santagnese PA, Messing AM. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 α expression in renal cell carcinomas. *J Urol* 2003;170:588-592.

173- Krieg M, Haas R, Brauch H, Acker T, Flamme I, Plate KH. Up-regulation of hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α under normoxic conditions in renal carcinoma cells by von Hippel-Lindau tumor suppressor gene loss of function. *Oncogene* 2000;19:5435-5443.

174- Klatter T, Seligson DB, Riggs SB, Leppert JT, Berkman MK, Kleid MD, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(24):7388-7393.

175- Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Vasko J, Ljungberg B. The expression of hypoxia inducible factor 1a is a favorable independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:1129-1135.

176- Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Bergh A, Ljungberg B. Hypoxia-inducible factor 1alpha expression in renal cell carcinoma analyzed by tissue microarray. *Eur Urol* 2006;50:1272-1277.

177- Minervini A, Di Cristofano C, Gacci M, Serni S, Menicagli M, Lanciotti M, et al. Prognostic role of histological necrosis for nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma: correlation with pathological features and molecular markers. *J Urol* 2008;180:1284-1289.

178- Biswas S, Charlesworth PJ, Turner GD, Leek R, Thamboo PT, Campo L, et al. CD31 angiogenesis and combined expression of HIF-1alpha and HIF-2alpha are prognostic in primary clear-cell renal cell carcinoma (CC-RCC), but HIFalpha transcriptional products are not: implications for antiangiogenic trials and HIFalpha biomarker studies in primary CC-RCC. *Carcinogenesis* 2012;33:1717-1725.

179- Kroeger N, Seligson DB, Signoretti S, Yu H, Magyar CE, Huang J, et al. Poor prognosis and advanced clinicopathological features of clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) are associated with cytoplasmic subcellular localisation of Hypoxia inducible factor-2 α . *Eur J Cancer* 2014;50(8):1531-1540.

- 180- Lim E, Kuo CC, Tu HF, Yang CC. The prognosis outcome of oral squamous cell carcinoma using HIF-2 α . *J Chin Med Assoc* 2017;80(10):651-656.
- 181- Ioachim E, Michael M, Salmas M, Michael MM, Stavropoulos NE, Malamou-Mitsi V. Hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α expression in bladder cancer and their associations with other angiogenesis-related proteins. *Urol Int* 2006;77:255-263.
- 182- Wang Z, Peng S, Xie H, Guo L, Cai Q, Shang Z, et al. Prognostic and clinicopathological significance of PD-L1 in patients with renal cell carcinoma: a meta-analysis based on 1863 individuals. *Clin Exp Med* 2018;18(2):165-175.
- 183- Nunes-Xavier CE, Angulo JC, Pulido R, López JI. A Critical Insight into the Clinical Translation of PD-1/PD-L1 Blockade Therapy in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Curr Urol Rep* 2019;20(1):1.
- 184- Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmim M, Karray S, Dessen P, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *J Exp Med* 2014;211(5):781-790.
- 185- Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer Ther* 2015;14:847-856.
- 186- Melero I, Berman DM, Aznar MA, Korman AJ, Perez Gracia JL, Haanen J. Evolving synergistic combinations of targeted immunotherapies to combat cancer. *Nat Rev Cancer* 2015;15(8):457-472.
- 187- Dong H, Strome SE, Matteson EL, Moder KG, Flies DB, Zhu G, et al. Costimulating aberrant T cell responses by B7-H1 autoantibodies in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2003;111(3):363-370.
- 188- Smyth MJ, Ngiow SF, Ribas A, Teng MW. Combination cancer immunotherapies tailored to the tumour microenvironment. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13(3):143-158.

- 189- Zavala VA, Kalergis AM. New clinical advances in immunotherapy for the treatment of solid tumours. *Immunology* 2015;145(2):182-201.
- 190- He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 pathway in tumor immune microenvironment and treatment for non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 2015;5:13110.
- 191- Guo L, Zhang H, Chen B. Nivolumab as programmed death-1 (PD-1) inhibitor for targeted immunotherapy in tumor. *J Cancer* 2017;8(3):410-416.
- 192- Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443-2454.
- 193- Chen L, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and Future. *J Clin Invest* 2015;125(9):3384-3391.
- 194- Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2455-2465.
- 195- Motzer R, Escudier B, McDermott D, George S, Hammers H, Srinivas S, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal cell carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373(19):1803-1813.
- 196- Zhang X, Yin X, Zhang H, Sun G, Yang Y, Chen Y, et al. Differential expressions of PD-1, PD-L1 and PD-L2 between primary and metastatic sites in renal cell carcinoma. *BMC Cancer* 2019;19:360.
- 197- Abbas M, Steffens S, Bellut M, Becker JU, Großhennig A, Eggers H, et al. Do programmed death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) play a role in patients with non-clear cell renal cell carcinoma? *Med Oncol* 2016;33:59.

- 198- Thompson RH, Dong H, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. PD-1 is expressed by tumor-infiltrating immune cells and is associated with poor outcome for patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:1757-1761.
- 199- Gibbons Johnson RM, Dong H. Functional Expression of Programmed Death-Ligand 1 (B7-H1) by Immune Cells and Tumor Cells. *Front Immunol* 2017;8:961.
- 200- Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8:793-800.
- 201- Strome SE, Chen L. Costimulation-based immunotherapy for head and neck cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2004;5(1):27-33.
- 202- Wintterle S, Schreiner B, Mitsdoerffer M, Schneider D, Chen L, Meyermann R, et al. Expression of the B7-related molecule B7-H1 by glioma cells: a potential mechanism of immune paralysis. *Cancer Res* 2003;63:7462-7467.
- 203- Massi D, Brusa D, Merelli B, Ciano M, Audrito V, Serra S, et al. PD-L1 marks a subset of melanomas with a shorter overall survival and distinct genetic and morphological characteristics. *Ann Oncol* 2014;25:2433-2442.
- 204- Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, Yoshioka Y, Matsumura N, Baba T, et al. PD-L1 on tumor cells is induced in ascites and promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer through CTL dysfunction. *Clin Cancer Res* 2013;19:1363-1374.
- 205- Wang L, Liu H, Chen X, Zhang M, Xie K, Ma Q, et al. Immune sculpting of norepinephrine on MHC-I, B7-1, IDO and B7-H1 expression and regulation of proliferation and invasion in pancreatic carcinoma cells. *Plos One* 2012;7:45491.
- 206- López JI, Pulido R, Cortés JM, Angulo JC, Lawrie CH. Potential impact of PD-L1 (SP-142) immunohistochemical heterogeneity in clear cell renal cell carcinoma immunotherapy. *Pathol Res Pract* 2018;214(8):1110-1114.

- 207- Atkins MB, Clark JI, Quinn DI. Immune checkpoint inhibitors in advanced renal cell carcinoma: experience to date and future directions. *Ann Oncol* 2017;28:1484-1494.
- 208- Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:17174-17179.
- 209- Callea M, Albiges L, Gupta M, Cheng SC, Genega EM, Fay AP, et al. Differential expression of PD-L1 between primary and metastatic sites in clear-cell renal cell carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2015;3(10):1158-1164.
- 210- Choueiri TK, Fay AP, Gray KP, Callea M, Ho TH, Albiges L, et al. PD-L1 expression in nonclear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 2014;25:2178-2184.
- 211- Gaule P, Smithy JW, Toki M, Rehman J, Patell-Socha F, Cougot D, et al. A quantitative comparison of antibodies to programmed cell death 1 ligand 1. *JAMA Oncol* 2017;3:256-259.
- 212- Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, Young RJ, Sturrock S, Cooper WA, et al. Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2018;13(3):367-376.
- 213- McLaughlin J, Han G, Schalper KA, Carvajal-Hausdorf D, Pelekanou V, Rehman J, et al. Quantitative Assessment of the Heterogeneity of PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol* 2016;2:46-54.
- 214- Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the "Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project". *J Thorac Oncol* 2017;12(2):208-222.
- 215- Ruf M, Moch H, Schraml P. PD-L1 expression is regulated by hypoxia inducible factor in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2016;139:396-403.

216- Messai Y, Gad S, Noman MZ, Le Teuff G, Couve S, Janji B, et al. Renal cell carcinoma programmed death-ligand 1, a new direct target of hypoxia-inducible factor-2 alpha, is regulated by von Hippel-Lindau mutation status. *Eur Urol* 2016;70:623-632.

217- Barsoum IB, Smallwood CA, Siemens DR, Graham CH. A mechanism of hypoxia-mediated escape from adaptive immunity in cancer cells. *Cancer Res* 2013;74(3);665-674.

218- Chang YL, Yang CY, Lin MW, Wu CT, Yang PC. High co-expression of PD-L1 and HIF-1 α correlates with tumour necrosis in pulmonary pleomorphic carcinoma. *Eur J Cancer* 2016;60:125-135.