

Prognostic value of carbonic anhydrase IX and HIF-1 α in renal cell carcinoma

Renal hücreli karsinomda karbonik anhidraz 9 ve HIF-1 α 'nın prognostik değeri

Bilal Günaydın¹, Asif Yıldırım¹, Ebru Zemheri², Şeyma Özkanlı², Serhat Göçer¹, Sarp Korcan Keskin¹, Erem Kaan Başok¹

ABSTRACT

Objective: In this study, we evaluated the prognostic value of carbonic anhydrase IX (CA9) and HIF-1 α and their relations with anatomic, histopathologic and clinic prognostic factors.

Materials and Methods: Immunohistochemical analysis was performed on paraffin-embedded specimens from 39 patients treated with a nephrectomy for renal cell carcinoma. The immunoreactivity levels of CA9 and HIF-1 α were classified into four groups: 0%, 1-25%, 26-50%, >50% for CA9; and $\leq$ 1-10%, 11-50%, 51-80%, >80% for HIF-1 α . The CA9 and HIF-1 α stains were compared with the patient's age, sex, tumor volume, recurrence status, T stage and Fuhrman grade.

Results: The age distribution of all patients with clear cell renal cell carcinoma (RCC) was as follows: 23 (59%) were older than 50, and 16 (41%) were younger. Twenty-eight patients (71.8%) were male, and 11 (28.2%) were female. Among these patients, 34 (87.2%) survived, and 5 (12.8%) died because of RCC. Seven (17.9%) patients had a recurrence after undergoing a nephrectomy. Twenty-four (61.5%) patients were classified as stage T1 and 15 (38.2%) as stage T2. Thirty-three (84.6%) patients were classified as Fuhrman grade 2 and six (15.4%) patients as Fuhrman grade 3. Although there were different degrees of staining, immunohistochemical staining was positive in all pathological samples for either CA9 or HIF-1 α (7 1-25%, 15 26-50%, 17 >50% for CA9; 11 <10%, 10 10-50%, 14 50-80%, 4 >80% for HIF-1 α). Among the CA9 immunoreactive-positive patients, the number of male patients was statistically higher in the 1-25% group than the 26-50% and >50% groups (p=0.019). Among HIF-1 α immunoreactive-positive patients, the $\leq$ 10% group had a statistically lower number of tumors sized >4 cm than the other groups (p=0.01).

Conclusions: We noted that there was no relationship between CA9 and HIF-1 α expression with other prognostic clinicopathologic features.

Key words: Carbonic anhydrase IX; clear cell cancer; hypoxia inducible factor-1 α ; kidney.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Karbonik anhidraz-IX (CA9) ve hipoksi indüklenbilir faktör 1- α (HIF-1 α)'nın prognostik değeri ile anatomik, histopatolojik ve klinik prognostik faktörlerle arasındaki ilişkiyi değerlendirdik.

Gereç ve yöntem: Böbrek kanseri tanısı ile radikal nefrektomi yapılmış olan ve patolojisi berrak hücreli renal kanser gelen 39 hastanın parafine gömülü doku örneklerinden immünohistokimyasal analiz yapıldı. CA9 ve HIF-1 α immünoaktivite düzeyleri dört grupta sınıflandırıldı: CA9 için %0, %1-25, %26-50, >%50; HIF-1 α için $\leq$ 1-10, %11-50, %51-80, >%80. CA9 ve HIF-1 α boyanmaları hasta yaşı, cinsiyet, tümör hacmi ve nüks durumu, T evresi ve Fuhrman derecesi ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Berrak hücreli böbrek kanserli tüm hastaların yaş dağılımında 23'ü (%59) 50 yaşından büyük; 16'sı (%41) 50 yaşından küçüktü. Yirmi-sekiz (%71.8) hasta erkek ve 11 (%28.2) hasta kadındı. Bu hastaların 34'ü (%87.2) hayatta; 5'i (%12.8) böbrek hücreli kanser (BHK) nedeniyle exitus idi. 7 (%17.9) hastada nefrektomi sonrası rekürrens olmuştu. Yirmi-dört (%61.5) hasta T1; 15 (%38.2) hasta T2 evreydi. 33 (%84.6) hasta Fuhrman derece 2; 6 (%15.4) hasta Fuhrman derece 3'tü. Boyanma dereceleri farklı olduysa da, tüm patolojik preparatlarda hem CA9 hem de HIF-1 α için immünohistokimyasal boyanma pozitifliği (7 %1-25, 15 %26-50, 17 > %50 CA9 için; 11 <%10, 10 %10-50, 14 %50-80, 4 >%80 HIF-1 α için). CA9 pozitif hastalar arasında, %1-25'lik gruptaki erkek hasta sayısı %26-50 ve >%50'lik gruptan istatistiksel olarak daha fazlaydı (p=0.019). Tümör hacmine göre, HIF-1 α immünoaktivitesi pozitif hastalarda, immünoaktivitesi $\leq$ 10% olan grupta >4 cm tümör bulunma oranı istatistiksel olarak diğer gruplardan anlamlı olarak azdı (p=0.01).

Sonuç: CA9 ve HIF-1 α ekspresyonunun diğer prognostik klinikopatolojik özelliklerle arasında bir ilişki olmadığını saptadık.

Anahtar sözcükler: Berrak hücreli kanser; böbrek; hipoksi indüklenbilir faktör-1 α ; karbonik anhidraz IX.

¹Department of Urology,
İstanbul Medeniyet University
Goztepe Training and Research
Hospital, İstanbul

²Department of Pathology,
İstanbul Medeniyet University
Goztepe Training and Research
Hospital, İstanbul

Submitted:
04.11.2011

Accepted:
05.01.2012

Correspondence:
Asif Yıldırım
Hamidiye Mah, Barışyolu Cad,
Dumankaya Çekmeköy Evleri,
A6-20, Çekmeköy 34782
İstanbul, Turkey
Phone: +90 216 642 55 56
E-mail: asifyildirim@yahoo.com

©Copyright 2012 by Turkish
Association of Urology

Available online at
www.turkishjournalofurology.com

Giriş

Böbrek hücreli kanser (BHK) erişkin tümörlerinin yaklaşık %3'ünü, tüm böbrek kanserlerinin ise %85'ini oluşturan ve %40'tan fazla ölüm oranıyla ürolojik tümörlerin içinde en ölümcül olanıdır.^[1-3] Renal hücreli kanser tedavisinde radikal nefrektomi, beklenen yaşam süresi ve eşlik eden morbiditeler göz önüne alınarak sıklıkla uygulanmaktadır. Ancak radikal nefrektomi sonrasında hastaların bir kısmında postoperatif ileri dönemlerde lokal veya sistemik nüksler görülmektedir.^[2] Günümüzde hastaların prognozunu öngörmeye birtakım anatomik, histolojik ve klinik prognostik faktörler mevcuttur. Preoperatif ve/veya postoperatif dönemde hangi hastada lokal veya sistemik nüksün gelişebileceğini öngörebilecek moleküler belirteçler ise halen araştırılmaktadır.

Karbonik anhidraz-IX (CA9) hipoksik durumlara cevapta hücre çoğalmasını düzenleyen karbonik anhidraz ailesinden bir proteindir ve onkogeneze ile tümör progresyonunda rol oynayabileceği ileri sürülmektedir.^[2] Hipoksik durumlarda, Hipoksi indüklenebilir faktör 1- α (HIF-1 α) Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Trombosit türevi büyüme faktörü (PDGF) ve CA9 gibi proteinlerin transkripsiyonunda rol almaktadır ve tümöral adaptasyonu sağlamaktadır.^[3-5]

Bu çalışmada amaç, radikal nefrektomi uygulanmış hastaların doku örneklerinde CA9 ve HIF-1 α ekspresyonlarını immünohistokimyasal yöntemlerle saptamak ve böbrek kanserinin anatomik, histolojik ve klinik prognostik faktörleri ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve yöntem

Kurumumuz Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Ocak 2001 ile Aralık 2009 tarihleri arasında kliniğimize böbrek kanseri ön tanısı ile radikal nefrektomi operasyonu uygulanmış, patolojisi berrak hücreli kanser gelen ve günümüze kadar takiplerine düzenli olarak gelmiş 39 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil olan tüm hastaların patolojileri tek bir patoloji uzmanı (EZ) tarafından önceki patoloji sonucu bilinmeksizin tekrar değerlendirildi. Otuz-dokuz olguya ait hematoksilen-eosin (H&E) boyalı kesitler incelenerek, vakalara ait bloklar arasından her bir vaka için tümörü en iyi örnekleyen, immünohistokimyasal çalışması için uygun yeterlilikte doku bulunduran bloklar çalışma için seçildi. Çalışmaya seçilen bloklardaki doku örnekleri tümöral ve nontümöral alanları birlikte içermekteydi. Takiben aynı patoloji uzmanı tarafından böbrek dokularında CA9 ve HIF-1 α antikorları hastaların kliniğinden ve takibinden habersiz olarak immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal boyama işlemleri

Seçilen parafin bloklardan elde edilen 5 mikrometre kalınlıktaki kesitler, önceden poly-L-Lysin ile kaplanmış lamlara alındı.

Kesitler bir gece önce 57°C'lik sıcaklıkta etüvde bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için etüvden alınan kesitler 30 dakika süresince 3 ayrı şale ile ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi azalan alkollerden 20 dakikada geçirilen kesitler distile su ile yıkandı. Antijen retrieval amacıyla plastik taşıyıcıya alınan kesitler, kesit yüzeyini örtecek şekilde (pH6) sitrat tampon solusyonu içine yerleştirildi. Üç kez 5'er dakikalık sürelerle toplam 15 dakika mikrodalga fırında şoklandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra kesitler distile su ile yıkandı. Dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve kesitler phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla, kesitlerin üzerine hidrojen peroksidin %0.3'lük çözeltisi damlatılarak 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar PBS ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmaları engellemek amacıyla kesitler üzerine Ultra V Block Nonspecific Blocking Reagent (Lab Vision Corporation, CA, USA) 10 dakika uygulandı. Ardından CA9 (NB100-417, rabbit polyclonal antibody, Novus Biologicals, Littleton, CO) ve HIF-1 α (Mouse monoclonal antibody, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA, USA) damlatılıp 60 dakika bekletildi. Dört ayrı PBS banyosunda 10 dakika yıkandı. Sekonder antikor olarak Biotinylated Goat Anti- Polyvalent (Lab Vision Corporation, CA USA) uygulandı ve 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar 4 ayrı PBS banyosunda yıkandı ve kesitlerin üzerine immün reaksiyonu gözlemlemek için işaretleyici (label) olarak Streptavidin Peroxidase (Lab Vision Corporation, CA, USA) damlatılarak 15 dakika beklendi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine immün reaksiyonu gözlemlemek için AEC kromojen sistemi (Lab Vision Corporation Large volume AEC Substrate System, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA, USA) kullanıldı. Yirmi mikrolitre AEC kromojen, 1 mL AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra kesitlere 10 dakika süre ile uygulandı. Daha sonra kesitler distile su ile yıkayıp zıt boya olarak 1,5 dakika hematoksilen ile boyandı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak kesitler kapatıldı.

İmmünoreaktivitenin değerlendirilmesi

Bu çalışmada pozitif kontrol için çevre böbrek dokusu dikkate alındı. CA9, HIF-1 α immünoreaktivitesi nükleer boyanmanın varlığında pozitif kabul edildi. Boyanma yaygınlık ve boyanma şiddeti açısından değerlendirildi.

CA9 değerlendirmesi ile örnekler immünoreaktivite düzeyi açısından 4 farklı gruba ayrıldı; 0 (immünoreaktivite yok), + (%1-%25), ++ (%26-%50), +++ (>%50). HIF-1 α değerlendirilmesi ile ise örnekler immünoreaktivite düzeyi açısından 4 gruba ayrıldı; 0 ($\leq$ %10), +(11-50), ++ (51-80), +++ (>%80).

Otuz dokuz hastaya ait düzenli takiplerden yaş, cinsiyet, sağkalım, nüks durumu, tümör boyutu, T evreleri, Fuhrman grade değerleri elde edildi.

İstatistiksel değerlendirme

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS 2007 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, sıklık dağılımları) yanı sıra gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi, değişkenlerin birbirleri ile ilişkilerini belirlemede Spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Bulgular

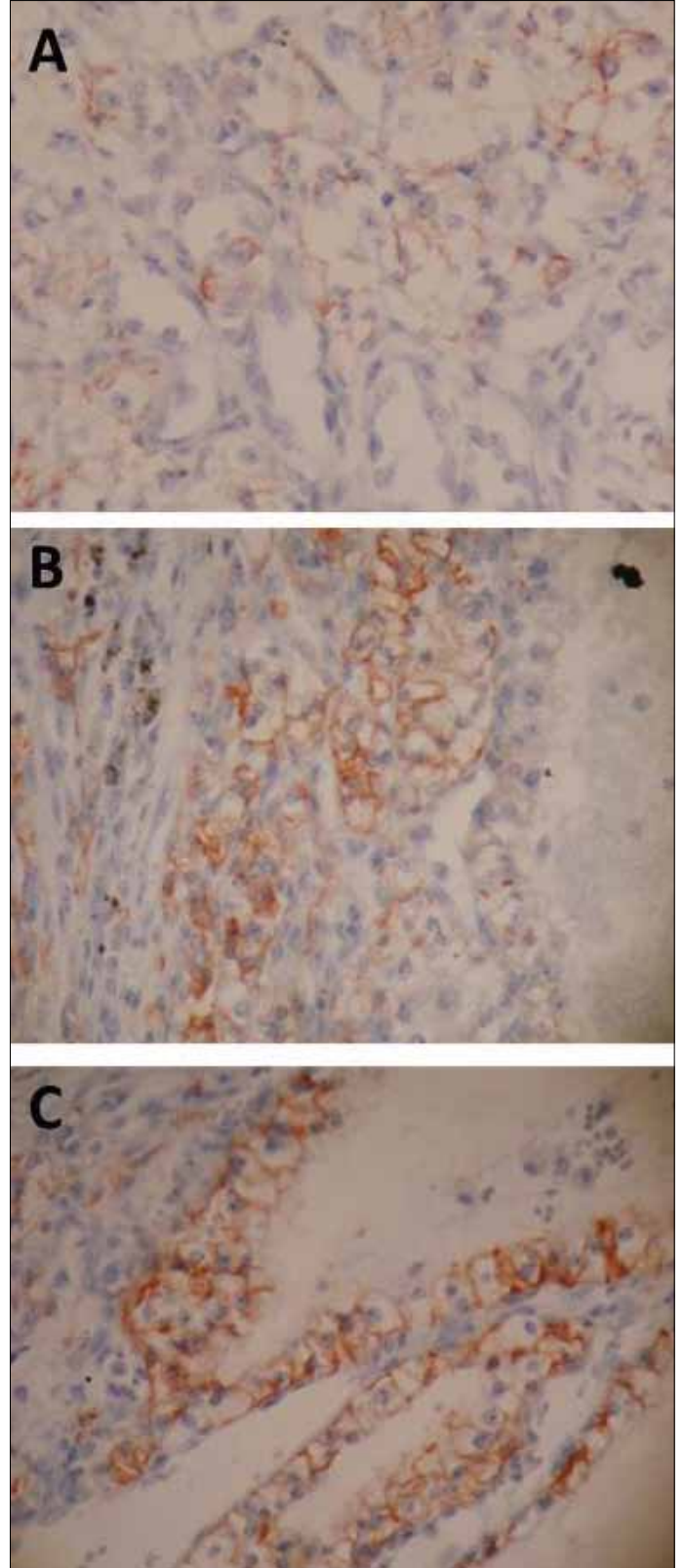
Çalışmaya BHK tanısı olan 39 hasta dahil edildi. Hastalardan 28'i (%71.8) erkek ve 11'i (%28.2) kadın idi. Elli yaşından büyük olan hasta sayısı 23 (%59) iken, 50 yaşından küçük olan hasta sayısı 16 (% 41) idi. Hastalardan 34'ü (%87.2) yaşıyor ve 15'i (%12.8) BHK nedeni ile exitus idi. Nüks eden hastaların sayısı ise 7 (%17.9) idi. Tm boyutu ≤ 4 cm olan hasta sayısı 12 (%30.8), 4-7 cm olan hasta sayısı 13 (%33.3) ve >7 cm olanların sayısı 14 (%35.9) idi. T evrelerine bakıldığında 24 hasta (%61.5) T1 ve 15 hasta (%38.5) T2 ve daha üzeri evre idi.

Fuhrman grade 2 olan hasta sayısı 33 (%84.6) ve Fuhrman grade 3 olan hasta sayısı 6 (%15.4) idi.

Olgulardan 7'si (%17.9) CA9 ile %1-25 oranında immunoreaktivite gösterirken; 15'i (%38.5) %26-50 oranında immunoreaktivite gösterdi. 17 olgu ise (%43.6) %50'den daha fazla immunoreaktivite gösterdi (Tablo 1, Şekil 1). Olgulardan 11'i (%28.2) HIF-1 α ile %10'dan daha az immunoreativite gösterirken 10'u (%25.6) %10-50 aralığında immunoreaktivite gösterdi. On-dört olgu (%35.9) %50-80 aralığında immunoreaktivite gösterdi. Dört olgu (%10.3) ise %80'den daha fazla immunoreaktivite gösterdi (Tablo 2, Şekil 2).

CA9 ile immunoreaktivite değerlendirildiğinde %1-25, %26-50, >50 gruplarının yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ($p=0.387$). Bu gruplarda cinsiyet dağılımları arasında ise %1-25 grubunda erkek hasta sayısı %26-50 ve >50 gruplarından istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p=0.019$). İmmunoreaktivite gruplarında statüs dağılımları, nüks dağılımları, boyut dağılımları, T evre dağılımları, Fuhrman grade dağılımlarında istatistiksel açıdan farklılık gözlenmedi (Tablo 1).

HIF-1 α ile immunoreaktivite değerlendirildiğinde ≤ 10 , %11-50, %50-80 ve >80 gruplarında yaş dağılımları, cinsiyet dağılımları, statüs dağılımları, nüks dağılımları, T evre dağılımları, Fuhrman grade dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken, boyut dağılımlarına bakıldığında immunoreaktivite düzeyi ≤ 10 olan grupta tümör boyutu >4 cm olan olguların sayısı istatistiksel olarak diğer gruplardan anlamlı derecede az bulundu ($p=0.01$) (Tablo 2).



Şekil 1. CA9 immunoreaktivite düzeyleri, A) %1-%25 immunoreaktivite, B) %26-%50 immunoreaktivite, C) >50 immunoreaktivite.

Tablo 1. CA9 immunoreaktivite derecelerinin yaş, cinsiyet, statüs, nüks durumu, boyut, T evre ve Fuhrman grade dağılımları

CA9		%1-25		%26-50		>%50		
Yaş	≤50 Yaş	3	%42.9	8	%53.3	5	%29.4	χ^2 :1.89
	>50 Yaş	4	%57.1	7	%46.7	12	%70.6	p=0.387
Cinsiyet	Erkek	2	%28.6	12	%80.0	14	%82.4	χ^2 :7.89
	Kadın	5	%71.4	3	%20.0	3	%17.6	p=0.019
Statüs	Yaşiyor	5	%71.4	14	%93.3	15	%88.2	χ^2 :2.07
	Exitus	2	%28.6	1	%6.7	2	%11.8	p=0.354
Nüks	Yok	5	%71.4	14	%93.3	13	%76.5	χ^2 :2.19
	Var	2	%28.6	1	%6.7	4	%23.5	p=0.334
Boyut	≤4 cm	2	%28.6	6	%40.0	4	%23.5	χ^2 :3.03 p=0.553
	4-7 cm	1	%14.3	5	%33.3	7	%41.2	
	>7 cm	4	%57.1	4	%26.7	6	%35.3	
Boyut	≤ 4 cm	2	%28.6	6	%40.0	4	%23.5	χ^2 :1.03
	>4 cm	5	%71.4	9	%60.0	13	%76.5	p=0.596
Boyut	≤7 cm	3	%42.9	11	%73.3	11	%64.7	χ^2 :1.93
	>7 cm	4	%57.1	4	%26.7	6	%35.3	p=0.381
T Evre	T1	3	%42.9	11	%73.3	10	%58.8	χ^2 :1.96
	≥T2	4	%57.1	4	%26.7	7	%41.2	p=0.374
Fuhrman Grade	Grade 2	7	%100.0	14	%93.3	12	%70.6	χ^2 :4.87
	Grade 3	0	%0.0	1	%6.7	5	%29.4	p=0.095

CA9: Karbonik anhidraz-IX

CA9 ile HIF-1 α değerleri arasında istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (r=0.392, p=0.014). HIF-1 α ile CA9 değerleri arasında istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı korelasyon gözlenmiştir (r=0.392 p=0.014).

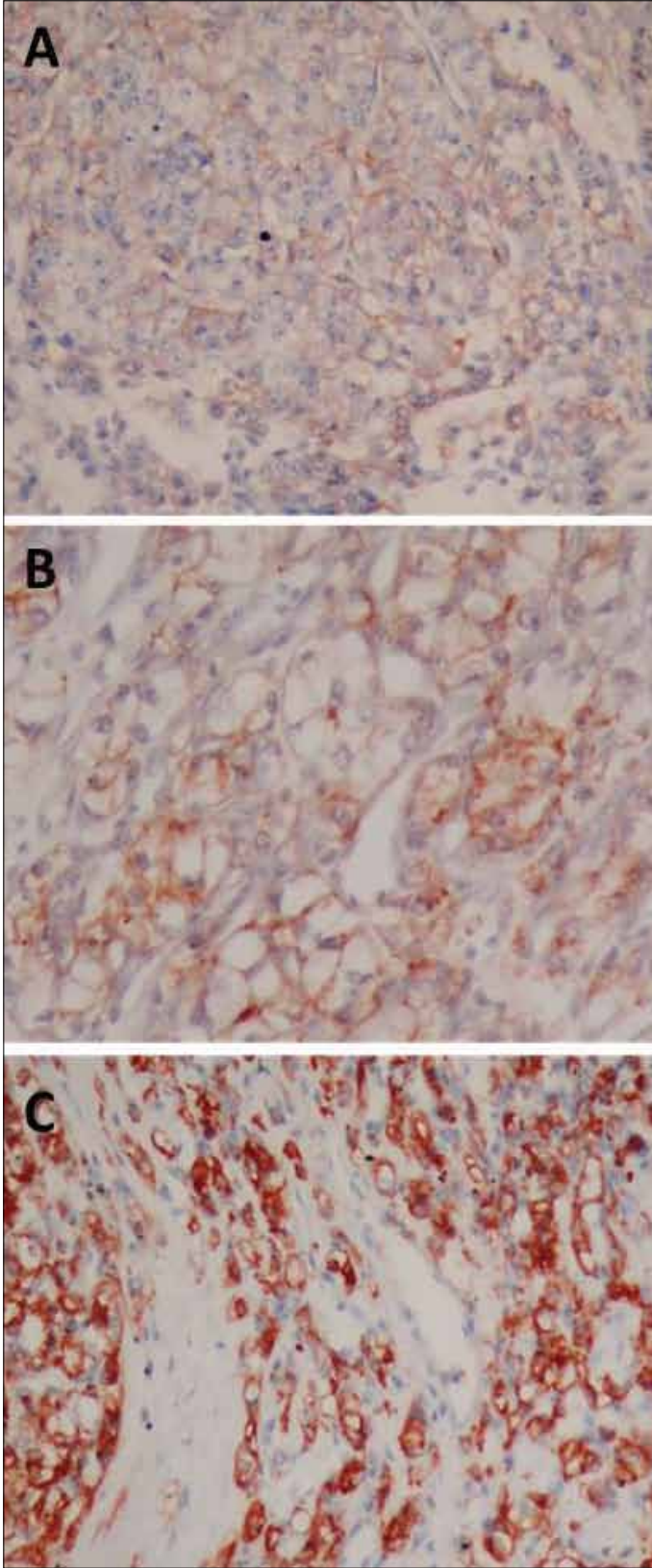
Tartışma

Görülme sıklığı son 20 yılda giderek artan BHK'de, moleküler biyoloji ile ilgili bilgilerin artması sonucunda BHK'in tanısı, tedavi yöntemleri ve prognoz tayininde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Lam ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada BHK örneklerinde CA9 ekspresyonunun oranını %86; normal böbrek dokusunda ise %9 olarak saptamışlardır.^[6] Uemura ve ark.'nın^[7] 147 adet BHK içeren çalışmasında da primer ve metastatik BHK'lerde CA9 ekspresyonunu %80'den fazla rapor etmişler ve onkositom gibi benign tümörlerde CA9 ekspresyonunun olmadığını belirtmişlerdir. Böbrekten farklı organların tümörlerinde de (özefagus, akciğer, beyin, serviks, vulva) CA9 ekspresyonunu gösteren çalışmalar mevcuttur.^[8,9] Leibovich ve ark. 240 hastanın farklı dokularından aldıkları örneklerde normal gastrik mukozada, ince barsak kriptlerinde ve pankreatikobilyer epitelde CA9 ekspresyonu

gözlemişler ancak normal böbrek dokusunda ekspresyon gözlememişlerdir.^[10]

Çalışmamızda da literatürlerle benzer sonuçlar elde edilmiş; berrak hücreli BHK vakalarının tamamında CA9 ekspresyonu saptanmış olup aynı preparatlarda tümör çevresi normal böbrek dokularında ise boyanma izlenmemiştir.

Bui ve ark.^[4] BHK tanılı 321 hasta ile yaptıkları çalışmada, yüksek CA9 ekspresyonunun metastatik BHK grubunda uzun süreli kansere özgü sağkalımda iyileşmeyi gösteren bağımsız bir öngörücü faktör olduğunu bildirmişlerdir. Sandlung ve ark.^[11] yaptıkları benzer bir çalışmada 183 lokalize BHK olgusunda CA9 ekspresyonunun rekürrenssiz sağkalımda iyileşmeyi gösteren bağımsız bir prognostik faktör olduğunu tespit etmişlerdir. Patard ve ark.^[12] 2008 yılındaki çalışmalarında 100 berrak hücreli BHK tanılı hastada düşük CA9 ekspresyonunu kansere özgü sağkalımda azalma ile korele olduğunu saptamışlardır. Fakat yakın zamanda Leibovich ve ark.^[10] 730 berrak hücreli BHK hastasını incelemişler ve tek değişkenli analizlerde düşük CA9 ekspresyonunu berrak hücreli BHK'de düşük kansere özgü sağkalımla uyumlu saptamışlarken; çok değişkenli analizlerde (nükleer



Şekil 2. HIF-1 α immunohistokimyasal boyanma, A) Zayıf şiddette, B) Orta şiddette, C) Kuvvetli şiddette

grade, tümör nekrozu ve sarkomatoid diferansiyasyon) CA9 ekspresyonu ile kansere özgü sağkalım arasında istatistiksel anlamlılık saptamamışlardır. Bu farklılığın nedeni bu çalışmadaki hastaların sadece %11'inin metastatik BHK olması ile CA9 ekspresyonunun tayininde diğer çalışmalardaki gibi immunohistokimyasal boyanmanın değil, TMA'nın (Tissue microarray) kullanılması olabilir. Çalışmamızda CA9 ekspresyonu immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirmiştir. Hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle CA9 ekspresyonu oranı ile tümör nüksü ve kansere özgü sağkalım arasında herhangi bir istatistiksel anlam bulunamamıştır.

CA9 BHK tanısında olduğu kadar adjuvan tedaviye yanıtın belirlenmesinde oldukça yararlı bir belirteçtir. Atkins ve ark.'ı 2005 yılında yayınladıkları 66 BHK hastası içeren çalışmalarında CA9 ekspresyonunun IL-2 tedavisinin başarısında öngörücü bir faktör olduğunu rapor etmişlerdir.^[13] Bu konuda daha geniş bir hasta serisi içeren randomize olmayan bir çalışma halen devam etmektedir.^[14] CA9 ekspresyonunun hedefe yönelik tedavi ajanlarından mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitörlerinin tedavi başarısının öngörüsü incelenmiştir. CA9 ekspresyonu ile sunitinib tedavisinin başarısını öngörmeye korelasyon saptanmazken, sorafenib tedavisinde ise korelasyon saptanmıştır.^[15] Atkins ve ark.'nın bu konuyla ilgili yaptıkları faz 2 çalışmasında temsirolimusun tedavi etkinliği ile CA9 ekspresyonu arasındaki ilişki incelenmiş ve korelasyon saptanmamıştır.^[16] Ancak bu çalışmaya çoğunluğu berrak hücreli olmayan BHK tanılı ve kötü prognostik faktörleri içeren hastalar dahil edilmiştir. Bu nedenle CA9 ekspresyonuyla hedefe yönelik ajanlarla tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi irdeleyen daha fazla hasta içeren ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

İn vitro çalışmalarda G250'nin şimerik varyantı (cG250)'nin antikor bağımlı hücresel sitotoksiteyi sağladığı tespit edildikten sonra, CA9 ekspresyonunu gösteren hücrelere yönelik cG250 tedavisi çalışmaları yapılmıştır. Davis ve ark.'nın 11 metastatik BHK tanılı hasta ile yaptıkları faz 1 çalışmasında bir hastada tam cevap alınmış, 9 hastada ise hastalık durağan hale gelmiştir.^[17] Bleumer ve ark.'nın yaptıkları faz 2 çalışmada 36 hasta çalışmaya dahil edilmiş, hastaların %80'i çalışma öncesi hızlı progresyon gösterirken, birinci kür tedaviden sonra %28 hasta durağan hale gelmiş, bir hastada tam ve bir hastada kısmi cevap izlenmiştir.^[18] Bu çalışmaların ışığında faz 3 ve cG250 ile IL-2'nin kombinasyonunu içeren tedaviyle ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.^[19,20]

BHK moleküler biyolojisinde önemli moleküler belirteçlerinden biri de HIF-1 α 'dır. Lidgren ve ark. 2005 yılında Western blot analizi kullanarak 66 berrak hücreli, 20 papiller ve 6 kromofob BHK olgusunda HIF-1 α ekspresyonunu incelemişler ve daha önceki çalışmalar gibi en yüksek HIF-1 α ekspresyonu berrak hücreli BHK olgularında gözlemişlerdir. Tümör doku-lardaki HIF-1 α ekspresyonu malign olmayan renal korteks

Tablo 2. HIF-1 α immunoreaktivite derecelerinin yaş, cinsiyet, statüs, nüks durumu, boyut, T evre ve Fuhrman grade dağılımları

HIF-1 α		<%10		%11-50		%51-80		>%80		
Yaş	≤50 Yaş	4	%36.4	3	%30.0	7	%50.0	2	%50.0	χ^2 :1.2
	>50 Yaş	7	%63.6	7	%70.0	7	%50.0	2	%50.0	p=0.753
Cinsiyet	Erkek	8	%72.7	7	%70.0	10	%71.4	3	%75.0	χ^2 :0.04
	Kadın	3	%27.3	3	%30.0	4	%28.6	1	%25.0	p=0.998
Statüs	Yaşiyor	10	%90.9	9	%90.0	12	%85.7	3	%75.0	χ^2 :0.766
	Exitus	1	%9.1	1	%10.0	2	%14.3	1	%25.0	p=0.858
Nüks	Yok	10	%90.9	7	%70.0	11	%78.6	4	%100.0	χ^2 :2.56
	Var	1	%9.1	3	%30.0	3	%21.4	0	%0.0	p=0.464
Boyut	≤ 4 cm	7	%63.6	4	%40.0	1	%7.1	0	%0.0	χ^2 :12.11 p=0.059
	4-7 cm	1	%9.1	3	%30.0	7	%50.0	2	%50.0	
	>7 cm	3	%27.3	3	%30.0	6	%42.9	2	%50.0	
Boyut	≤ 4 cm	7	%63.6	4	%40.0	1	%7.1	0	%0.0	χ^2 :11.42
	>4 cm	4	%36.4	6	%60.0	13	%92.9	4	%100.0	p=0.01
Boyut	≤ 7 cm	8	%72.7	7	%70.0	8	%57.1	2	%50.0	χ^2 :1.14
	>7 cm	3	%27.3	3	%30.0	6	%42.9	2	%50.0	p=0.766
T Evre	T1	8	%72.7	7	%70.0	7	%50.0	2	%50.0	χ^2 :1.89
	≥T2	3	%27.3	3	%30.0	7	%50.0	2	%50.0	p=0.594
Fuhrman	Grade 2	10	%90.9	9	%90.0	10	%71.4	4	%100.0	χ^2 :3.15
Grade	Grade 3	1	%9.1	1	%10.0	4	%28.6	0	%0.0	p=0.368

HIF-1 α : Hipoksi indüklenbilir faktör-1 α

dokusundan belirgin biçimde fazla tespit etmişlerdir. HIF-1 α ekspresyonuyla; TNM evresi, grade, tümör çapı, ven invazyonu ve DNA ploidi arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Sağ kalım analizinde ise yüksek HIF-1 α ekspresyonu gözlemlenen olgularda istatistiksel olarak anlamlı oranda kansere özgü sağkalım avantajı gözlemlenmiştir.^[21] Yine Lidgren ve ark.^[22] 2006 yılında 176 berrak hücreli BHK olgusunu immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirerek HIF-1 α ekspresyonunu gözlemlenmişler ve bu çalışmada bir önceki çalışmalarının aksine HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan grup ile düşük olan grup arasında kansere özgü sağkalım farkı saptamamışlar ancak HIF-1 α ekspresyonunun yüksek olan grupta daha iyi prognoz rapor etmişlerdir. Ancak Birner ve ark.'nın^[23] yaptıkları çalışma sonucunda HIF-1 α ekspresyonu yüksek olan grupta kötü prognoz tespit edilmiştir. Bu karşıt iki sonucun nedeni Lidgren ve ark.'nın HIF-1 α ekspresyonu tespitinde sitoplazmik boyanmayı, Birner ve ark.'nın ise nükleer boyanmayı dikkate almaları olabilir. Çünkü HIF-1 α , nükleusa transloke olduğunda aktif olan bir transkripsiyon faktörüdür ve HIF-1 α 'nın yüksek sitoplazmik seviyelerinin olması HIF-1 α 'nın sitoplazmaya transloke olduğunu gösterir. Sitoplazmik HIF-1 α ise DNA transkripsiyonu yapmaz. Bu

nedenle Lidgren ve ark.'ı yüksek sitoplazmik HIF-1 α tespit ettikleri grupta daha iyi prognoz tespit etmiş olabilirler. Çalışmamızda nükleer HIF-1 α ekspresyonu değerlendirildi ve nükleer HIF-1 α ekspresyonuyla; T evresi, grade, tümör çapı, nüks durumu ve kansere özgü sağkalım arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.

Tobias ve ark.'ı 357 BHK hastası içeren çalışmalarında lokalize BHK hastalarında CA9 ve HIF-1 α ekspresyonunu belirgin biçimde korele saptamışlarken, metastatik BHK hastalarında ise bu korelasyonu saptamamışlardır. Aksine metastatik hastalarda CA9 ekspresyonu artışı artmış sağkalımla ilişkili iken, HIF-1 α ekspresyonundaki artış ise azalmış sağkalımla ilişkilendirilmiştir.^[24] Lokalize BHK hastalarında CA9 ekspresyonu VHL geninin inaktivasyonu mekanizması ile artarken, HIF-1 α ekspresyonu için muhtemel başka mekanizmalar da öne sürülmüştür.

Sonuç

Berrak hücreli BHK'de CA9 ve HIF-1 α ekspresyonları ile klinikopatolojik özellikler arasında istatistiksel fark saptanamamıştır. Spearman sıralı korelasyon testi uygulandığında CA9 ve HIF-1 α ekspresyonları arasında korelasyon saptanmıştır.

Çalışmaya alınan hasta sayısının az olması, hastaların çoğunluğunun lokalize hastalık olması ve takip süresinin uzun olmaması bu sonuçlarda etkili olabilir. Literatürde CA9'un ve HIF-1 α 'nın prognostik değeri konusunda belirsizlik halen devam etmektedir. Bu konuda prospektif, çok sayıda hasta içeren ve uzun takip süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çıkar çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Ivanov S, Liao SY, Ivanova A, Danilkovitch-Miagkova A, Tarasova N, Weirich G, et al. Expression of hypoxia-inducible cell-surface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer. *Am J Pathol* 2001;158:905-19. [CrossRef]
2. Liao SY, Aurelio ON, Jan K, Zavada J, Stanbridge EJ. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res* 1997;57:2827-31.
3. Ivanov S, Kuzmin I, Wei MH, Pack S, Geil L, Johnson BE, et al. Down-regulation of transmembrane carbonic anhydrases in renal cell carcinoma cell lines by wild-type von Hippel-Lindau transgenes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12596-601. [CrossRef]
4. Bui MH, Seligson D, Han KR, Pantuck AJ, Dorey FJ, Huang Y, et al. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res* 2003;9:802-11.
5. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270:1230-7. [CrossRef]
6. Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Belldegrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Urology* 2005;66(5 Suppl): 1-9. [CrossRef]
7. Uemura H, Nakagawa Y, Yoshida K, Saga S, Yoshikawa K, Hirao Y, et al. MN/CA IX/G250 as a potential target for immunotherapy of renal cell carcinomas. *Br J Cancer* 1999;81:741-6. [CrossRef]
8. Saarnio J, Parkkila S, Parkkila AK, Pastorekova S, Haukipuro K, Pastorek J, et al. Transmembrane carbonic anhydrase, MN/CA IX, is a potential biomarker for biliary tumours. *J Hepatol* 2001;35:643-9. [CrossRef]
9. Saarnio J, Parkkila S, Parkkila AK, Haukipuro K, Pastorekova S, Pastorek J, et al. Immunohistochemical study of colorectal tumors for expression of a novel transmembrane carbonic anhydrase, MN/CA IX, with potential value as a marker of cell proliferation. *Am J Pathol* 1998;153:279-85. [CrossRef]
10. Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, Thompson RH, Cheville JC, Zavada J, et al. Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2007;25:4757-64. [CrossRef]
11. Sandlund J, Oosterwijk E, Grankvist K, Oosterwijk-Wakka J, Ljungberg B, Rasmuson T. Prognostic impact of carbonic anhydrase IX expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2007;100:556-60. [CrossRef]
12. Patard JJ, Fergelot P, Karakiewicz PI, Klatte T, Trinh QD, Rioux-Leclercq N, et al. Low CA9 expression and absence of VHL gene mutation are associated with tumor aggressiveness and poor survival of clear cell renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2008;123:395-400. [CrossRef]
13. Atkins M, Regan M, McDermott D, Mier J, Stanbridge E, Youmans A, et al. Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:3714-21. [CrossRef]
14. McDermott D. The High-Dose Aldesleukin (IL-2) "Select" Trial for Patients With Metastatic Renal Cell Cancer (SELECT). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00554515>. Accessed March 9, 2010.
15. Choueiri TK, Regan M, Oh W, Clement J, Amoto A, McDermott D, et al. Prognostic and predictive values of carbonic anhydrase IX (CA9) and pathologic features in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma receiving targeted therapy [abstract]. *J Clin Oncol* 2009;27 (Suppl):16067.
16. Atkins MB, Hidalgo M, Stadler WM, Logan TF, Dutcher JP, Hudes GR, et al. Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2004;22:909-18. [CrossRef]
17. Davis ID, Wiseman GA, Lee FT, Gansen DN, Hopkins W, Papenfuss AT, et al. A phase I multiple dose, dose escalation study of cG250 monoclonal antibody in patients with advanced renal carcinoma. *Cancer Immun* 2007;7:13.
18. Bleumer I, Knuth A, Oosterwijk E, Hofmann R, Varga Z, Lamers C, et al. A phase II trial of chimeric monoclonal antibody G250 for advanced renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer* 2004;90:985-90. [CrossRef]
19. Monoclonal Antibody Therapy (Rencarex) in Treating Patients Who Have Undergone Surgery for Non-Metastatic Kidney Cancer. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00087022>. Accessed March 9, 2010.
20. Bleumer I, Oosterwijk E, Oosterwijk-Wakka JC, Völler MC, Melchior S, Warnaar SO, et al. A clinical trial with chimeric monoclonal antibody WX-G250 and low dose interleukin-2 pulsing scheme for advanced renal cell carcinoma. *J Urol* 2006;175:57-62. [CrossRef]
21. Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Vasko J, Ljungberg B. The expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha is a favorable independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:1129-35.
22. 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;50:1272-7. [CrossRef]
23. 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;60:4693-6.
24. Klatte 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;13:7388-93. [CrossRef]