

Böbreğin Renal Hücreli Karsinomlarında Ki-67 Proliferasyon İndeksi, p53 Expresyonu, AgNOR Sayısı ve Prognostik Faktörlerin, Histopatolojik Tip ve Derecelendirme İle İlişkisi

Özgen Arslan SOLMAZ^{a1}, Hayreddin YEKELER²

¹Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, ELAZIĞ, Türkiye

²Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, İSTANBUL, Türkiye

ÖZET

Amaç: En sık görülen malign böbrek tümörü olan renal hücreli karsinomlar, ürolojik tümörler içerisinde 3. sıradadır. Renal hücreli karsinomu olan hastalar genellikle kötü prognoza sahiptir. Bu çalışmamızda, renal hücreli karsinomlu olgulara ait nefrektomi materyallerinden hazırlanan örneklerde, immünohistokimyasal olarak P53 ve Ki-67, histokimyasal olarak AgNOR'un boyanma özelliklerini karşılaştırarak, bunların prognostik kriterler olarak yararının değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: 1994-2002 yılları arasında Renal hücreli karsinom tanısı alan nefrektomi materyalleri çalışmaya alındı. Toplam 54 olgunun tanıları doğrulandı. Prognostik faktörler yeniden değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak Ki-67, P53 ve AgNOR boyama yöntemi uygulandı.

Bulgular: Ki-67 PI şeffaf RCC'de %4.55, granüler RCC'de %3.33, kromofob RCC'de %3.66, iğsi hücreli karsinomda %28.7, kistik RCC'de %0.3 olarak belirlendi ve Ki-67 PI'nin renal hücreli karsinomlarda histopatolojik tiplere göre değişiklikler gösterdiği saptandı. İğsi RCC'nin PI'si ile diğer tip RCC'lerin PI'leri arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktaydı (P<0.001). Diğer gruplar arasında bulgular benzerdi. Ki-67 PI şeffaf RCC'de %4.55, granüler RCC'de %3.33, kromofob RCC'de %3.66, iğsi hücreli karsinomda %28.7, kistik RCC'de %0.3 olarak belirlendi ve Ki-67 PI'nin renal hücreli karsinomlarda histopatolojik tiplere göre değişiklikler gösterdiği saptandı. İğsi RCC'nin PI'si ile diğer tip RCC'lerin PI'leri arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktaydı (P<0.001).

Sonuç: Prognostik faktör olarak belirtilen parametrelerin, çalışmalar arasında farklılıklar göstermesi nedeniyle prognozu belirlemede güvenilirliklerinin yeterli olmadığına karar verilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Renal hücreli karsinom, Ki-67, P53, AgNOR

ABSTRACT

The Relationship of Ki-67 Proliferation Index, p53 Expression, AgNOR Number and Prognostic Factors in Kidney's Renal Cell Carcinomas with Histopathological Type and Grading

Objective: Renal cell carcinomas, the most common malignant kidney tumor, ranks third among urological tumors. The patients with renal cell carcinoma usually have bad prognosis. In this study, in the samples prepared by nephrectomy materials belonging to incidents with renal cell carcinoma, by comparing P53 ve Ki-67 immunohistochemically, AgNOR's chromophobe qualities histochemically, it was aimed to evaluate the benefit of them as prognostic criteria.

Materials and Methods: Nephrectomy materials diagnosed with renal cell carnicoma were taken into study between 1994 and 2002 in our department. Sections of 54 incidents were looked into and diagnoses were confirmed. Prognostic factors were re-evaluated. Ki-67 P53 and AgNOR chromophobe methods were applied to the prepared sections as immunohistochemically.

Results: Ki-67 PI was determined to be 4.55% in transparent RCC, 3,33% in granular RCC, 3,66%in chromoplobe RCC, 28,7% in fusiform cell carcinoma,0,3% in cystic RCC, and it was found out that Ki-67 PI displayed differences according to histopathological types in renal cell carnicomas. There was a significant difference between PI of fusiform RCC and PI of other types of RCC (p<0.001).

Conclusion: In conclusion, we decided to that the parameters as prognostic factors, because of studies showing differences between the reliability in determining the prognosis was not enough.

Key words: Renal cell carcinoma, Ki-67, P53, AgNOR

En sık görülen malign böbrek tümörü olan renal hücreli karsinomlar, ürolojik tümörler içerisinde 3. sıradadır (1). Yetişkinlerde görülen tüm malign tümörlerin %2'sini, tüm böbrek tümörlerinin ise %80'ini oluştururlar (2). Genellikle 55-60 yaşlar arasında ve kadınlarda erkeklerin iki katı sıklıkla görülür (3).

Renal hücreli karsinomu olan hastalar genellikle kötü prognoza sahiptir. 5 yıllık yaşam süresi %50, 10 yıllık yaşam

süresi ise %33'dür (2,4). Hastaların %40'ında nüks görülmektedir (4). Olguların %50'sinde erken tanı konmasına rağmen, metastaz tesbit edilmiştir (2).

Tümör paterni, pseudokapsül kalınlığı, stoplazmik granülasyon varlığı, mitoz sayısı, nükleer pleomorfizm derecesi gibi değişkenlerin yanı sıra, tümör derecesi ve evresi renal hücreli karsinom için temel prognostik ölçütler olarak kabul edilirler (5).

^aYazışma Adresi: Dr. Özgen Arslan SOLMAZ, Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, ELAZIĞ, Türkiye
Tel: +90 424 2381000

e-mail: ozgensolmaz@myynet.com

Bu faktörlere ek olarak, bir tümör baskılayıcı gen olan P53'ün, proliferasyon belirleyicilerinden Ki-67 ve AgNOR'un da renal hücreli karsinomlarda prognoz ile ilişkisi olduğu ileri sürülmektedir (1, 2, 4, 5). Tümör hücrelerinin proliferatif aktivitesi ve mutant P53 gen protein miktarının derece, evre ve klinik gidiş üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (1, 2, 4, 5).

Bu çalışmamızda, renal hücreli karsinomlu olgulara ait nefrektomi materyallerinden hazırlanan örneklerde, immünohistokimyasal olarak P53 ve Ki-67, histokimyasal olarak AgNOR'un boyanma özelliklerini karşılaştırarak, bunların prognostik ölçütler olarak yararının değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

1994-2002 yılları arasında Renal hücreli karsinom tanısı alan 54 nefrektomi materyali tanıları ve prognostik faktörleri yeniden değerlendirildi. Tüm olgular WHO'nun histopatolojik tiplendirilmesine göre tiplendirildi. Furhman derecelendirme sistemine göre derecelendirildi.

Ayrıca hazırlanan kesitlere avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal olarak Ki-67 ve P53 uygulandı AgNOR boyama için hazırlanan kesitler ise AgNOR çalışma çözeltisi ile boyandı.

Doku kesitlerinden rastgele seçilen 5 büyük büyütmeye alanında toplam 1000 hücre sayılarak, Ki-67 ve P53 ile intranükleer boyama gösteren hücrelerin yüzdesi belirlendi. %1-5 arasındaki boyanma grade I, %5-50 arasındaki boyanma grade II, %50'den fazla boyanma ise grade III olarak derecelendirildi.

AgNOR boyamada değerlendirme x1000 büyütmeye ile ışık mikroskopunda 100 hücre nükleusunda AgNOR benekcikleri sayıldı. Nükleus başına düşen AgNOR sayısı, toplam sayının 100'e bölünmesi ile bulundu.

Çalışmamızdaki 52 olgu histopatolojik tiplerine göre ve Furhman nükleer derecesine göre gruplara ayrıldı İstatistiksel değerlendirme bilgisayarda SPSS paket programı 10. kullanılarak yapıldı. Histopatolojik tipler kendi aralarında, tümör dereceleri ise kendi aralarında ayrı ayrı değerlendirildi. Her belirleyicinin, histopatolojik tipler ve nükleer dereceler arasındaki farkları tek yönlü varyans analizi ve post ANOVA testleri olan Tukey B ve Scheffé testleri ile değerlendirildi. Belirleyicilerin kendi aralarındaki ilişkiler ise Pearson-Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Histopatolojik olarak değerlendirilen RCC olgularından 27 tanesi şeffaf hücreli karsinom, 6 tanesi granüler hücreli RCC, 6 tanesi kromofob hücreli RCC, 9 tanesi işsi hücreli RCC ve 6 tanesi ise kistik RCC olarak sınıflandı.

Ki-67 proliferasyon indeksi (PI) şeffaf hücreli RCC (grup 1) de %4.55 (Resim 1), granüler hücreli RCC (grup 2) de %3.33, kromofob hücreli RCC (grup 3) de %3.66, kistik RCC (grup 4) de %28.7 (Resim 2), işsi hücreli RCC (grup 5) de %0.3 olarak belirlendi ve Ki-67 PI'nin renal hücreli

karsinomlarda histopatolojik tiplere göre değişiklikler gösterdiği dikkati çekti. Grup 1 ile grup 4 (P<0.001), grup 2 ile grup 4 (P<0.01), grup 3 ile grup 4 (P<0.001) ve grup 4 ile grup 5 (P<0.001) arasında Ki-67 PI açısından anlamlı bir farklılık bulundu. Diğer gruplar arasında bulgular benzerdi.

Nükleer derecesine göre ayrılan gruplarda Ki-67 PI derece 1 tümörlerde (grup 6) %5.33, derece 2 tümörlerde (grup 7) %4.8, derece 3 tümörlerde (grup 8) %4, derece 4 tümörlerde (grup 9) ise %20.7 olarak bulundu. Grup 6 ile grup 9 (P<0.05), grup 7 ile grup 9 (P<0.001), grup 8 ile grup 9 (P<0.01) arasında Ki-67 PI anlamlı farklılık göstermekteydi. Ancak diğer gruplar arasındaki fark anlamsızdı.

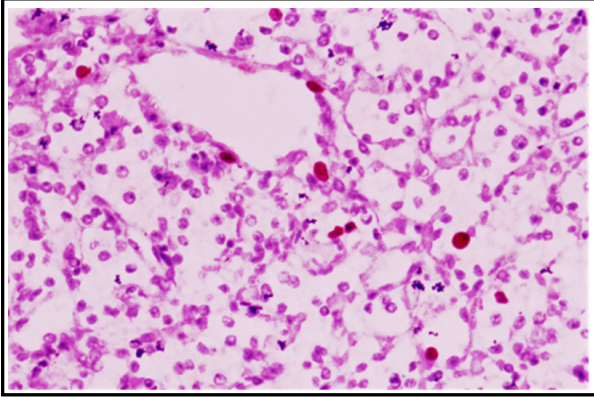
İmmünohistokimyasal yöntemle anti P53 antikoruna ile boyanma tümör hücrelerinin nükleuslarında görülmüş olup değerlendirilmede boyanma yoğunluğu ve bazı hücrelerde görülen sitoplazmik boyanmalar dikkate alınmadı. Histopatolojik tiplerde P53 pozitiflik oranları, Grup 1 tümörlerde %2.5, Grup 2 tümörlerde %1.66, Grup 3 tümörlerde %2.8, Grup 4 tümörlerde %24 (Resim 3), Grup 5 tümörlerde %3 olup tümörün histolojik tipleri arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Grup 1 ile grup 4 (p<0.001), grup 2 ile grup 4 (P<0.01), grup 3 ile grup 4 (P<0.01) ve grup 4 ile grup 5 (P<0.01) arasında p53 pozitifliği arasında anlamlı bir fark gözlenirken, diğer histopatolojik tipler arasında istatistiksel olarak fark izlenmedi.

Tümörün nükleer derecesine göre ayrılan istatistiksel gruplarda ise p53 pozitiflik oranları, Grup 6 tümörlerde %8.5, Grup 7 tümörlerde %2, Grup 8 tümörlerde %10, Grup 9 tümörlerde %9.4 (Resim 4) olarak belirlendi. Ancak nükleer derecelerine göre tümörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi.

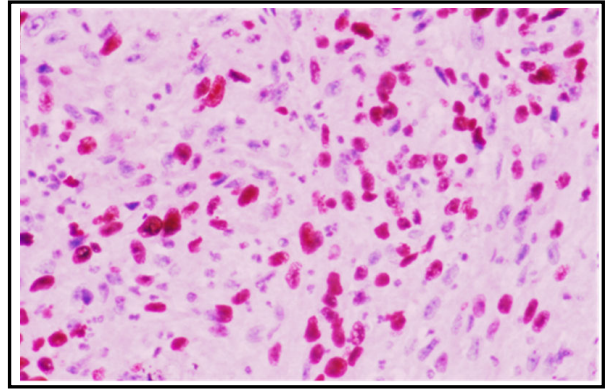
Nükleuslarında AgNOR benekcikleri bulunan 100 hücre sayılarak ortalamaları alındı. Histopatolojik tiplere göre incelendiğinde Grup 1 tümörlerde AgNOR sayısı 5.18, Grup 2 tümörlerde 3.47, Grup 3 tümörlerde 6.63, Grup 4 tümörlerde 16.86 (Resim 5) ve Grup 5 tümörlerde 5.68 olarak görüldü. Tümör tiplerine göre farklılık gösteren AgNOR sayıları, istatistiksel olarak gruplar arasında benzer olarak bulundu. Grup 1 ile Grup 4 (P<0.001), Grup 2 ile Grup 3 (P<0.05), Grup 2 ile Grup 4 (P<0.001) ve Grup 3 ile Grup 4 (P<0.001) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken, Grup 4 ile Grup 5 (P<0.001) arasında anlamlı bir azalma belirlendi. Nükleer derecelerine göre incelendiğinde ortalama AgNOR sayısı Grup 6 tümörlerde 5.52, Grup 7 tümörlerde 4.87, Grup 8 tümörlerde 7.68, Grup 9 tümörlerde 12.14 (Resim 6) olarak bulundu.

Ortalama AgNOR sayısının, nükleer derece arttıkça artış gösterdiği tesbit edildi. Grup 6 ile grup 9 (P<0.05), grup 7 ile grup 8 (P<0.05) ve grup 7 ile grup 9 (P<0.001) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü.

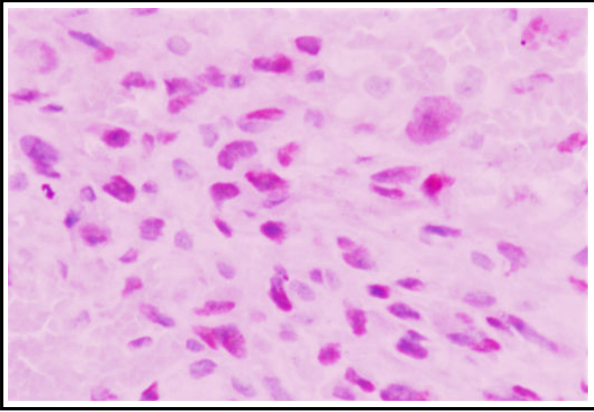
Grup 1 (r=0.657), grup 2 (r=1), grup 5 (r=0.707), grup 6 (r=0.991), grup 7 (r=0.744) ve grup 8 (r=0.866) tümörlerde Ki-67 PI ile p53 pozitifliği arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu görüldü. Grup 5 (r=0.591), grup 6 (r=0.541) ve grup 8 (r=0.660) tümörlerde Ki-67 ile AgNOR sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olduğu belirlendi. Ancak hiçbir grupta p53 pozitifliği ile AgNOR sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.



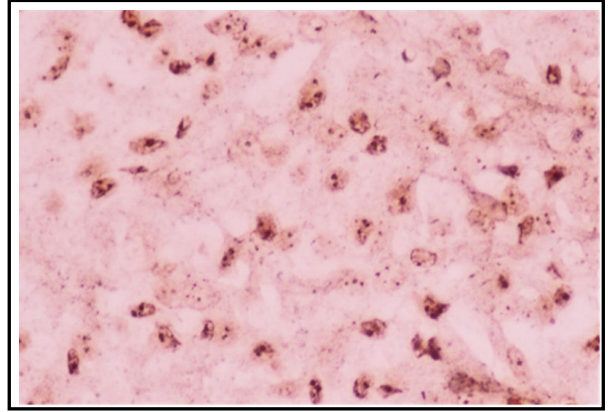
Resim 1. Şeffaf hücreli karsinomda Ki-67 pozitifliği (immünperoksidazx200).



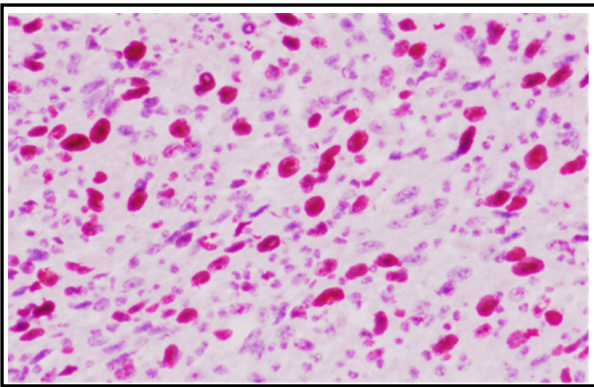
Resim 4. Derece 4 tümörlerde P53 pozitifliği (immünperoksidazx200).



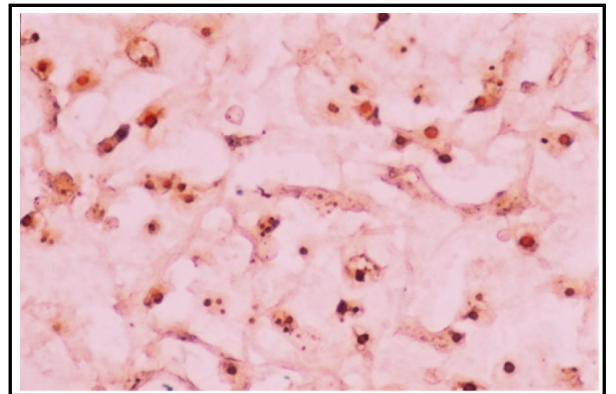
Resim 2. İğsi hücreli RCC'de Ki-67 pozitifliği (immünperoksidazx400).



Resim 5. İğsi hücreli RCC'de AgNOR benekçikleri (AgNORx1000).



Resim 3. İğsi hücreli RCC'de P53 pozitifliği (immünperoksidazx 200).



Resim 6. Derece 4 tümörlerde AgNOR benekçikleri (AgNORx1000).

TARTIŞMA

Yetişkinlerde görülen malign tümörlerin yaklaşık %2'sini oluşturan Renal hücreli karsinomlar (RCC), malign böbrek tümörleri içerisinde ilk sırayı alır (1, 2). Genellikle 55-60 yaşlar arasında ve kadınlarda erkeklerden iki kat daha sık görülür (3).

RCC'u olan hastalar genellikle kötü prognoza sahiptir. 5 yıllık yaşam süresi %50, 10 yıllık yaşam süresi ise %33'dür (2,4). Hastaların %40'ında nüks görülmektedir (4). Olguların %50'sinde erken tanı konmasına rağmen, metastaz saptanmıştır (2). Amerika'da tümörden ölüm nedenleri arasında

14'üncü sıradadır. 2003 yılında 32 bin yeni olgu saptanmış ve bunların 12 bini aynı yıl içinde ölmüştür (6).

RCC'ların prognostik faktörleri Union Internationale Contre le Cancer (UICC) ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından, 1997 yılında "tümörle ilişkili, hasta ile ilişkili ve tedavi ile ilişkili" olmak üzere üç gruba ayrıldı (7-10).

Tümör ile ilişkili faktörler evre, nükleer derece, histolojik tip, mikrovasküler invazyon gibi patolojik bulgular ile DNA içeriği, AgNOR, PCNA, P105, mitotik indeks, Ki-67, anjiyogenez, nükleer morfometri, P53, Bcl-2 gibi biyomoleküler belirleyicilerden ibarettir (7-10).

Histolojik özellikler önemli prognostik değişkenlerdir. Sitoplazmik özellikler, tümör paterni, hemoraji, tümör ile ilişkili inflamasyon, kalsifikasyon derecesi ve fibrozis, RCC alt tiplerinde histolojik derecenin ve prognozun belirlenmesinde önemlidir (11).

Yapılan moleküler analizlerde, histolojik tipler arasında genetik farklılıklar olduğu ve bu nedenle de prognozlarının da farklılık gösterdiği ileri sürülmüştür (12). Tümör alt tipleri farklı yerlere metastaz yaparlar (11).

Kromofob hücreli karsinomlar genetik olarak onkositomaya benzer. Prognozu en iyi olan RCC tipidir. 5 yıllık survi %100'dür (7). Moch ve arkadaşları (11) yaptıkları çalışmada, kromofob hücreli karsinomun diğer tüm RCC tiplerinden daha iyi bir prognoza sahip olduğunu belirlediler.

İğsi hücreli karsinom ise yüksek dereceli bir tümördür. Prognozu çok kötüdür ve hastalar genellikle bir yıl içinde ölürlere (7). Bostwick ve arkadaşları (13), iğsi hücreli karsinomun aslında diğer tip RCC'lerden transforme olduğunu ayrıca RCC tiplerinin dediferansiyasyonu sonucu oluştuğunu ileri sürdüler. Moch ve arkadaşları (11), sarkomatoid değişikliklerin yüksek dereceli tüm RCC tiplerinde görüldüğünü ve bu tümörlerin prognozunun düşük dereceli tiplerinden daha kötü olduğunu buldular.

Nükleer derece, RCC'li hastalarda temel prognostik belirleyicilerden biridir. Girgin ve arkadaşları (14), yaptıkları çalışmada, derece 1-2 ile derece 3-4 tümörlerin prognozları arasında önemli farklar olduğunu belirlediler. Goldstein (15) de çalışmasında değişik derecedeki tümörlerin yaşam sürelerinin farklı olduğunu saptadı. Gelb ve arkadaşları (16), yüksek dereceli tümörlerde yaşam süresinin önemli derecede kısaldığını bildirdiler.

Tümörlerin gelişimi, proliferasyon ve hücre ölümü arasındaki dengeye bağlıdır (1, 2, 4, 16-19). Proliferasyonun artması yada hücre ölümünün azalması, tümörün büyümesi ve prognozu açısından önemlidir (11-13, 16-19, 22, 23).

Ki-67 antijeni, hücre proliferasyonu sırasında, siklusun tüm basamaklarında bulunur ancak, G2M fazında en yüksek seviyededir (2, 4, 16, 24-27). Ki-67 ile histopatolojik derece önemli bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca RCC'nin alt tipleri arasında da proliferasyonun, dolayısı ile de Ki-67 proliferasyon indeksinin (PI) farklılık gösterdiği dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalarda, Ki-67 ile belirlenen büyüme fraksiyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (29, 30-32). Geniş serilerde yapılan çalışmalarda Ki-67 PI'nin tümör derecesi ile belirgin bir korelasyon gösterdiği

ve tümör derecesi arttıkça Ki-67 PI'nin de artış gösterdiği belirlenmiştir (4, 29, 31, 27).

Biz de çalışmamızda, nükleer derecesine göre ayrılan gruplarda Ki-67 PI nin anlamlı farklılık gösterdiğini bulduk. Ki-67 PI, RCC'nin histolojik alt tipleri arasında da farklılık gösterir. Çalışmamızda Ki-67 PI'nin RCC de histopatolojik tiplere göre değişiklikler gösterdiği saptandı. İğsi RCC'nin PI'si ile diğer tip RCC'lerin PI'leri arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktaydı ($P<0.001$). Diğer gruplar arasında bulgular benzerdi.

AgNOR boyama yöntemi, tümörlerin proliferatif aktivitesini ölçtüğü kabul edilen bir gümüşleme yöntemidir (33, 34). Tümör patolojisinde ilk olarak 1986 yılında Ploton ve arkadaşlarının basit AgNOR boyama yöntemini geliştirmesi ile kullanılmaya başlandı (35). Delahunt ve arkadaşları (36), 1989 ve 1993 yıllarında yaptıkları çalışmada ortalama AgNOR sayısı ile tümör derecesi arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu belirlediler.

Nükleer derecelerine göre incelendiğinde çalışmamızdaki olguların ortalama AgNOR sayısı ile tümör derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Çalışmada tümör tiplerine göre farklılık gösteren AgNOR sayıları iğsi hücreli karsinomda belirgin olarak artış göstermekteydi ($p<0.001$).

P53 tümör süpressör geni hücre siklus kontrolünde, DNA onarımında ve apoptozda önemli rol oynar. RCC'da da p53 mutasyonu bulunmaktadır. Mutant p53 pozitifliği ile tümörün nükleer derecesinin ilişkili olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (1, 8, 17, 20, 29, 30). Uhlman ve arkadaşlarının (37) yaptıkları çalışmada, derece 1 ile derece 2 tümörlerde P53'e rastlanmazken, derece 3 tümörlerde %31, derece 4 tümörlerde %50 P53 pozitifliğine rastlanmıştır.

Çalışmamızda ise P53 pozitifliği belirlendi ancak nükleer derecelerine göre tümörler arasında istatistiksel bir fark izlenmedi. RCC tipleri arasında da P53 pozitifliğinde farklılıklar vardır. İğsi hücreli karsinomda diğer tiplere göre P53 pozitifliği belirgin olarak yüksek bulundu.

Literatürde hasta yaşı, tümör çapı, kapsül invazyonu, kan ve lenf damarı invazyonu, ureter invazyonu gibi parametreler ile tümör derece ve tipinin ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (3, 7, 9, 10, 21). Ancak, yaptığımız çalışmada tümör tipi ve derecesi ile bu parametrelerden sadece tümör çapının anlamlı bir ilişki gösterdiği belirlendi. Tümör çapı nükleer derece ve iğsi hücreli karsinom ile pozitif bir korelasyon göstermekteydi.

Sonuç olarak, RCC'da prognostik faktörler olarak bilinen nükleer derece ve histopatolojik tipler ile Ki-67 pozitifliği ve ortalama AgNOR sayısı arasındaki ilişkinin anlamlı bulunması, bu parametrelerin prognostik faktörler olarak kullanılabilmesi, P53 pozitifliğinin, histopatolojik tipler arasında anlamlı, nükleer dereceler arasında anlamsız olması ve literatürlerde sonuçların farklılıklar göstermesi nedeniyle, bu parametrenin daha fazla çalışılması gerekmektedir. Ki-67 ve AgNOR'un ise bir çok klinik veri ile ilişkili çalışmalarla desteklendiği için daha güvenilir olarak prognozu belirlemede kullanılacakları sonucuna varılmıştır. Prognostik faktör olarak belirtilen parametrelerin, çalışmalar arasında farklılıklar göstermesi nedeniyle prognozu belirlemede güvenilirliklerinin yeterli olmadığına karar verilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Papadopoulos I, Rudolph P, Weichert-Jacobsen K. Value of p53 Expression, Cellular Proliferation, and DNA Content as Prognostic Indicators in Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 1997; 32:110-117.
2. Papadopoulos I, Weichert-Jacobsen K, Sprenger E, Wacker H.H. DNA Content and the Proliferation Marker Ki-67 as Prognostic Indicators in Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 1994; 53:181-185.
3. Ordonez NG, Rosai J. *Urinary tract. Rosai J (editör). Ackerman's Surgical Pathology. Eighth Edition, St. Louis: Missouri: Mosby Year Book Inc, 1996: 1059-1184.*
4. Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M, Eskelinen M, Syrjänen K. Prognostic Value of Ki-67 Expression in Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 1997;31:350-355.
5. Shimazui T, Tomobe M, Hattori K, Uchida K, Akaza H, Koiso K. A Prognostic Significance Of Nucleolar Organizer Region (AgNOR) In Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 1995;154:1522-1526.
6. Visapaa H, Bui M, Huang Y at al. Correlation of Ki-67 and gelsolin expression to clinical outcome in renal cell carcinoma. *Urology* 2003; 61: 845-850.
7. Lang H, Jacqmin D. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *EAU Update series. 2003; 1: 215-219.*
8. De la Taille A, Buttyan R, Katz AE at al. Biomarkers of renal cell carcinoma past and future considerations. *Urol Oncol* 2000; 5: 139-148.
9. Yasunaga Y, Shin M, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Prognostic factors of renal cell carcinoma: a multivariate analysis. *J surg oncol* 1998; 68: 11-18.
10. Delahunt B. Histopathologic prognostic indicators for renal cell carcinoma. *Semin diagn pathol* 1998;15: 68-76.
11. Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ. Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 604-614.
12. Bugert P, Kovacs G. Molecular differential diagnosis of renal cell carcinomas by microsatellite analysis. *Am J Pathol* 1996; 149: 2081-2088.
13. Bostwick D, Eble J, Denis L, Murphy G, Von Eschenbach A. Diagnosis and prognosis of renal cell carcinoma. *Cancer* 1997;80: 973-1001.
14. Girgin C, Tahrán H, Hekimgil M, Sezer A, Gürel G. P53 Mutations and Other Prognostic Factors of Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2001; 66: 78-83.
15. Goldstein NS. Grading of renal cell carcinoma. *Urol Clin Nort Am* 1999; 26: 637-642.
16. Gelb AB, Sudilovsky D, Wu DC, Weiss LM, Medeiros LJ. Appraisal of Intratumoral Microvessel Density, MIB-1 Score, DNA Content and p53 Protein Expression as Prognostic Indicators in Patients with Locally Confined Renal Cell Carcinoma. *American Cancer Society* 1997; 1768-1775.
17. Tomita Y, Bilim V, Kawasaki T at al. Frequent Expression of Bcl-2 in Renal Cell Carcinomas Carrying Wild-Type p53. *Int. J. Cancer* 1996;66: 322-325.
18. Sejima T, Miyagawa I. Expression of Bcl-2, p53 Oncoprotein and Proliferating Cell Nuclear Antigen in Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 1999;35: 242-248.
19. Haitel A, Wiener HG, Blaschitz U, Marberger M, Susani M. Biologic Behavior of and p53 Overexpression in Multifocal Renal Cell Carcinoma of Clear Cell Type. *Cancer* 1999; 85:1593-1598.
20. Vasavada PS, Novick AC, Williams B. P53, bcl-2 and Bax Expression in Renal Cell Carcinoma. *Urology* 1998; 1057-1061.
21. Patard JJ, Leray E, Rodriguez A, Leclercq NR, Guille F, Lobel B. Correlation between symptom graduation, tumor characteristics and survival in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2003; 44: 226-232.
22. Gelb AB. Renal cell carcinoma. *Cancer* 1997; 80: 981-986.
23. Ficarra V, Righetti R, Pilloni S at al. Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma: Retrospective analysis of 675 cases. *Eur Urol* 2002; 41: 190-198.
24. Gerdes J, Li L, Schlueter C at al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991; 138: 867-873.
25. Munakata S, Hendricks JB. Effect of fixation time and microwave oven heating time on retrieval of the Ki-67 antigen from paraffin-embedded tissue. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 1241-1246.
26. Tsuji M, Kojima K, Murakami Y, Kanayama H, Kagawa S. Prognostic value of Ki-67 antigen and p53 protein in urinary bladder cancer: Immunohistochemical analysis of radical cystectomy specimens. *Br J Urol* 1997; 79: 367-372.
27. Delahunt B, Bethwaite P, Thornton A, Ribas JL. Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation resistant polyclonal Ki-67 antibody labeling: Correlation with outcome. *Cancer* 1995; 75: 2714-2719.
28. Key G, Becker MHG, Baron B, Duchrow M, Schluter C, Flad HD, Gerdes J. New Ki-67 equivalent murine monoklonal antibodies (MIB 1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. *Lab Invest* 1993; 68: 629-636.
29. Tannapfel A, Hahn HA, Katalinic A, Fietkau RJ, Kuhn R, Wittekind R. Incidence of Apoptosis, Cell Proliferation and p53 Expression in Renal Cell Carcinomas. *Anticancer Res* 1997; 17: 1155-1162.
30. Bot FJ, Godschalk JC, Krishnadh KK, Van Der Kwast T, Bosman FT. Prognostic Factors in Renal Cell Carcinoma: Immunohistochemical Detection of p53 Protein Versus Clinicopathological Parameters. *Int. J. Cancer* 1994; 57: 634-637.
31. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard JY at al. Value of Immunohistochemical Ki-67 and p53 Determination as Predictive Factors of Outcome in Renal Cell Carcinoma. *Urology* 2000; 55: 501-505.
32. Tannapfel A, Hahn HA, Katalinic A, et al. Prognostic value of ploidy and proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer* 1996; 77: 164-171.
33. Di Stefano D, Mingazzini PL, Scuchi L, Donetti M, Marinozzi V. A Comparative study of histopathology, hormone receptors, peanut lectin binding, Ki-67 immunostaining and nucleolar organizer region associated proteins in human breast cancers. *Cancer* 1991; 67: 463-471.
34. Leek RD, Alison MR, Sarraf CE. Variation in the occurrence of silver staining nucleolar organizer regions (AgNOR) in non proliferating tissues. *J Pathol* 1991; 165:43-51.

35. Pich A, Chiusa L, Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron* 2000; 31: 133-141.
36. Delahunt B, Bethwaite PB, Nacey JN, Ribas JL. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression as a prognostic indicator for renal cell carcinoma: comparison with tumour grade, mitotic index, and silver- staining nucleolar organizer region numbers. *J pathol* 1993; 170: 471-477.
37. Ullman DL, Nguyen PL, Manivel JC at al. Association of immunohistochemical staining for p53 with metastatic progression and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1470-1475.

Kabul Tarihi: 23.09.2009