PDF Eraser Free

T. C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

PATOLOJİ KLİNİĞİ

ALK REARANJMANI GÖSTEREN RENAL HÜCRELİ KARSİNOM: HİSTOMORFOLOJİK VE EPİDEMİYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Dr. Kutsal DOĞAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2021

PDF Eraser Free

T. C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

PATOLOJİ KLİNİĞİ

ALK REARANJMANI GÖSTEREN RENAL HÜCRELİ KARSİNOM: HİSTOMORFOLOJİK VE EPİDEMİYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Dr. Kutsal DOĞAN

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Evrim ÖNDER

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2021

PDF Eraser Free

TEŞEKKÜR

Patoloji uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösterici ve destekleyici olan, hayata bakış ve hoşgörüsü ile bizlere esin kaynağı olan değerli hocam Prof. Dr. Murat ALPER'e,

Tezimin araştırma ve yazım sürecinde deneyimlerinden yararlandığım, harcadığı zaman, emeklerindendolayı kıymetli hocam ve ablam Doç. Dr. Evrim ÖNDER'e,

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak eğitimime önemli katkılar sağlayan sayın hocalarım Doç. Dr. Ünsal HAN ve Doç. Dr. Ata TÜRKER ARIKÖK'e,

Asistanlığım süresince her türlü konuda bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen Uzm. Dr. Ayşegül ADABAĞ, Uzm. Dr. Demet YILMAZER, Uzm. Dr. Aysun GÖKÇE, Uzm. Dr. Tuğba TAŞKIN TÜRKMENOĞLU, Uzm. Dr. Sehbal ARSLANKOZ ve Uzm. Dr. Eşref DEMİR'e,

Asistanlık eğitimin boyunca birlikte çalışmaktan ve bir arada olmaktan büyük keyif aldığım, her türlü zorluğu bir arada karşıladığımız, iyi ki varlar dediğim, asistanlık yıllarında ve tez sürecindeki destekleri ve arkadaşlıkları için tüm asistan arkadaşlarıma,

Büyük bir özveri ve gayretle çalışan sevgili laboratuar çalışanlarımıza, sekreterlerimize ve tüm diğer çalışma arkadaşlarıma,

Her şeye birlikte göğüs gerdiğimiz; desteği, sabrı ve neşesi ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Melike'ye, anneme, kardeşime ve merhum babama,

Sonsuz teşekkürler…

Dr. Kutsal DOĞAN

PDF Eraser Free

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
KISALTMALAR v
TABLO LİSTESİ vi
ŞEKİL LİSTESİ vi
GRAFİK LİSTESİ vi
RESİM LİSTESİ vii
ÖZET viii
ABSTRACT xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2. 1. ANATOMİ VE HİSTOLOJİ 3
2. 1. 1. Böbrek Gelişimi 3
2. 1. 2. Böbrek Histolojisi 3
2. 1. 3. Böbrek Anatomisi 4
2.2. RENAL HÜCRELİ TÜMÖRLER 5
2. 2. 1. Epidemiyoloji 5
2. 2. 2. Etiyoloji 6
2. 2. 2. 1. Obezite 6
2. 2. 2. 2. Tütün Kullanımı 6
2. 2. 2. 3. Hipertansiyon 6
2. 2. 2. 4. Kazanılmış Kistik Böbrek Hastalığı 6
2. 2. 2. 5. Mesleki Maruziyet 6
2. 2. 3. Genetik Yatkınlık 7
2. 2. 4. Derecelendirme 7
2. 2. 5. Renal Hücreli Karsinom Evrelemesi 8
2. 2. 6. Böbrek Tümörlerinin Sınıflandırılması 10
2. 2. 6. 1. Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinom 12
2. 2. 6. 2. Düşük Malignite Potansiyelli Multiloküler Kistik Renal Neoplazm 14
2. 2. 6. 3. Papiller Renal Hücreli Karsinom 15

PDF Eraser Free

2. 2. 6. 4. Herediter Leiomyomatozis ve Renal Hücreli Karsinom ilişkili Renal Hücreli Karsinom 16
2. 2. 6. 5. Kromofob Renal Hücreli Karsinom 17
2. 2. 6. 6. Toplayıcı Kanal Karsinomu 18
2. 2. 6. 7. Renal Medüller Karsinom 19
2. 2. 6. 8. MiT Ailesi Translokasyon ilişkili Renal Hücreli Karsinom 20
2. 2. 6. 9. Süksinat Dehidrojenaz Eksikliği ilişkili Renal Hücreli Karsinom 21
2. 2. 6. 10. Müsinöz Tübüler ve İğsi Hücreli Karsinom 21
2. 2. 6. 11. Tübülokistik Renal Hücreli Karsinom 22
2. 2. 6. 12. Edinsel Kistik Hastalık ilişkili Renal Hücreli Karsinom 22
2. 2. 6. 13. Berrak Hücreli Papiller Renal Hücreli Karsinom 23
2. 2. 6. 14. Renal Hücreli Karsinon, Sınıflandırılamayan 24
2. 3. ANAPLASTİK LENFOMA KİNAZ (ALK) 24
2. 3. 1. Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK) Proteini 24
2. 3. 2. ALK Geni Fonksiyonu 24
3. GEREÇ VE YÖNTEM 26
3. 1. OLGU GRUBUNUN TANIMLANMASI 26
3. 2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME 26
3. 3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA 28
3. 4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME 29
3. 5. DOKU MİKRODİZİLERİNİN OLUŞTURULMASI 31
3. 6. FLORESAN IN SİTU HİBRİDİZASYON (FISH) 32
3. 7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 33
3. 8. ETİK KURUL ONAYI 34
4. BULGULAR 35
4. 1. KLİNİK ve MORFOLOJİK BULGULAR 35
4. 2. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR 44
4. 3. FISH BULGULARI 47
4. 3. 1. Olgu 1 49
4. 3. 1. 1. Hasta Bilgileri 49
4. 3. 1. 2. Histomorfolojik Bulgular 49
4. 3. 1. 3. İmmunohistokimyasal ve FISH Bulgular 51

PDF Eraser Free

4. 3. 2. Olgu 2 53
4. 3. 2. 1. Hasta Bilgileri 53
4. 3. 2. 2. Morfolojik Bulgular 53
4. 3. 2. 3. İmmunohistokimyasal ve FISH Bulguları 54
4. 3. 3. Olgu 3 56
4. 3. 3. 1. Hasta Bilgileri 56
4. 3. 3. 2. Mikroskopik Bulgular 56
4. 3. 3. 3. İmmunohistokimyasal ve FISH bulguları 58
5. TARTIŞMA 59
6. SONUÇ 63
KAYNAKLAR 65
ÖZGEÇMİŞ 79
EKLER 82
EK 1. TEZ KONUSU ONAYI 82
EK 2. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL ONAYI 83
EK 3. BLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME KURULU ONAYI 84
EK 4. ALK IMMUNOHİSTOKİMYA DATASHEET 85
EK5. ALK FISH DATASHEET 88

PDF Eraser Free

KISALTMALAR

ALK-RHK : ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinom

ALK : Anaplastik lenfoma kinaz

Ark : Arkadaşları

CK : Sitokeratin

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

DSÖ/UÜPD : Dünya Sağlık Örgütü/ Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği

HBYS : Hastane bilgi yönetim sistemi

H&E : Hematoksilen & Eozin

BHRHK : Berrak hücreli renal hücreli karsinom

KRHK : Kromofob renal hücreli karsinom

PRHK : Papiller renal hücreli karsinom

OPRHK : Onkositik papiller renal hücreli karsinom

PBHRHK : Papiller berrak hücreli renal hücreli karsinom

FISH : Floresan in situ hibridizasyon

WHO : World Health Organization

VHL : Von Hippel Lindau

RHK : Renal hücreli karsinom

CA-IX : Karbonik anhidraz 9

CK : Sitokeratin

TMA : Tissue micro array

PDF Eraser Free

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. DSÖ/UÜPD derecelendirme sistemi 7
Tablo 2. AJCC sistemi böbrek tümöreri patolojik TNM evrelemesi ve klinik evreleme 9
Tablo 3. Dünya sağlık örgütü (2016) böbrek tümörlerinin sınıflandırılması 11
Tablo 4. Değerlendirilen Histopatolojik Özellikler 26
Tablo 5. Kullanılan immunohistokimya antikoru 29
Tablo 6. ALK boyanma paternleri 29
Tablo 7. Yaş ve cinsiyet dağılımı 35
Tablo 8. Tümör subtiplerinin dağılımı 36
Tablo 9. Tümör subtiplerininde yaş dağılımı 36
Tablo 10. Tümör subtiplerinin nükleer dereceye göre dağılımı 38
Tablo 11. Sağkalımın cinsiyete göre dağılımı 39
Tablo 12. Sağkalım durumunun tümör subtiplerine göre dağılımı 39
Tablo 13. ALK boyanma sıklığı ve boyanma paterni 44
Tablo 14. ALK pozitif ve negatif hastaların yaş ve sağkalım süreleri 45
Tablo 15. ALK boyanan hastalarda sağkalım 45
Tablo 16. ALK pozitif olgularda nükleer derece ve tümör subtipi 46
Tablo 17. ALK boyanan olgularda perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı 46
Tablo 18. ALK pozitif olgular 47
Tablo 19. ALK-RHK olgularının morfolojik ve klinik özellikleri 47
Tablo 20. FISH pozitif ve IHK pozitif olguların perirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz yönünden karşılatırılması 48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Böbrek histolojisi 4
Şekil 2. Böbrek anatomisi 5
Şekil 3. Renal hücreli karsinom T evrelemesi 10

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Yaş dağılımı 35
Grafik 3. Nükleer derece dağılımı 37
Grafik 2. Tümör alttiplerine göre yaş dağılım grafiği 37
Grafik 4. Perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı 38
Grafik 5. Sağkalım durumunun tümör subtiplerine göre dağılımı 40
Grafik 6. Ölen hastaların ortalama yaşam süresi 40
Grafik 7. Ölen hastaların cinsiyet, tümör subtipi ve nükleer derece dağılımı 41
Grafik 8. Ölen hastalarda perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz durumu 42

PDF Eraser Free

Grafik 9. Tümör subtipi, nükleer derece, perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığının sağkalıma Etkisi 43
Grafik 10. ALK pozitif olgularda sağkalım 45

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Renal hücreli karsinom DSÖ/UÜPD Derecelendirme 8
Resim 2. Renal hücreli karsinom 13
Resim 3. Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm 14
Resim 4. Papiller renal hücreli karsinom 16
Resim 5. Herediter leiomymatozis ilişkili renal hücreli karsinom. 17
Resim 6. Kromofob renal hücreli karsinom. 18
Resim 7. Toplayıcı kanal karsinomu 19
Resim 8. Renal medüller karsinom 20
Resim 9. Mit ailesi translokasyon ilişkili renal hücreli karsinom 21
Resim 10. Müsinöz tübüler ve iğsi hücreli karsinom 22
Resim 11. Tübülokistik karsinom 22
Resim 12. Berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom 23
Resim 13. DSÖ/UÜPD nükleer derecelendirme. 27
Resim 14. Perirenal yağ doku invazyonu 27
Resim 15. Lenfovasküler invazyon 28
Resim 16. Tümör nekrozu 28
Resim 17. Membranöz ALK boyanması 30
Resim 18. Perinükleer ALK boyanması 30
Resim 19. Sitoplazmik ALK boyanması 31
Resim 20. Hazırlanan TMA bloğu (kesit sonrası) 32
Resim 21. ALK geninde ayrılma (break apart) 33
Resim 22. Olgu 1 histomorfolojik özellikler. 51
Resim 23. Olgu 1 ALK immunohistokimyası ve FISH 52
Resim 24. Olgu 2 histomorfolojik özellikler 54
Resim 25. Olgu 2 ALK immunohistokimyası ve FISH 55
Resim 26. Olgu 3 histomorfolojik özellikler 57
Resim 27. Olgu 3 ALK immunohistokimyası ve FISH. 58

PDF Eraser Free

ÖZET

Amaç:ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinom (ALK-RHK), Dünya Sağlık Örgütünün 2016 yılında yayımladığı "Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırması" kitabında yer alanprovizyonel bir antitedir. Bu antite içerisinde, ALK geninin farklı genlerle translokasyonlarını gösteren renal hücreli karsinomlar yer almaktadır. ALK, son zamanlarda geliştirilen hedefe yönelik tedavi yöntemleri için odaklanılmış genler arasında yer almaktadır. ALK inhibitörleri, anaplastik büyük hücreli lenfoma, akciğerin küçük hücreli dışı karsinomları ve diğer bazı solid tümörlerde kullanılmaktadır. ALK inhibitörleri, özellikle akciğer adenokarsinomlarında hedefe yönelik ajan olarak tedavi sürecinde rutin olarak kullanılmaktadır. ALK inhibitörlerine klinik yanıt veren ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinomların bildirilmesi bu olgulara yönelik hedeflenebilir terapötik seçenek sunmaktadır. Son zamanlarda artan çalışmalarla birlikte ALK rearanjmanı gösteren renal karsinomların sayısında artış bildirilmiştir. Önceki çalışmalarda ALK-RHK; Afrikalı-Amerikalı, beyaz ve Asya kökenli insanlarda tanımlanmış olup geniş toplumsal dağılım göstermekte olduğu belirtilmektedir. ALK-RHK'ların toplumlar arası insidansının farklılık gösterbileceğini belirten çalışmalar mevcuttur. Türkiye'de ALK-RHK'lara yönelik ulaşabildiğimiz bir çalışma mevcut değildir. ALK-RHK'lar çok değişken morfolojik ve immunohistokimyasal özellikler sergileyebilmektedir. Bu çalışmada renal hücreli karsinomlar içerisinde farklı histomorfolojik özellikler gösteren ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinon olgularının belirgin ve yaygın morfolojik özelliklerini ortaya koymayı, insidans açısından toplumsal farklılık gösterebilen bu tümörün Türkiye'deki sıklığını immunohistokimya ve FISH yöntemini kullanarak belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada; Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji kliniğinde Ocak 2010-Haziran 2020 yılları arasında "renal hücreli karsinom" tanısı almış276 olguya ait nefrektomi materyaline ait Hematoksilen&Eozin (H&E) boyalı arşiv preparatları iki gözlemci tarafından ışık mikroskobu ile yeniden incelenmiştir. Olgular nekroz, lenfovasküler invazyon, perirenal yağ doku invazyonu varlığı, rabdoid/sarkomatöz transformasyon açısından yeniden değerlendirilmiştir. Tümör alttipi ve DSÖ/UÜPDnükleer derecesi Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırmasına uygun olarak yeniden düzenlenmiştir. Olguların farklı tümör paterni gösteren nekroz alanlarının en az olduğu blokları seçilerek ALK immunohistokimyası uygulanmıştır. ALK ile pozitif boyanan olgular ile TMA bloğu hazırlanarak FISH çalışılmıştır.

Bulgular: Olguların 170 (%62) 'i erkek, 106'sı (%38) kadındır. Tüm hastaların yaş ortalaması 61.3 (29-92) 'tür. Olguların 195 (%70.7) 'i BHRHK,

PDF Eraser Free

21(%7.6) 'i KRHK, 1 (%0.4) 'i PBHRHK, 34 (%12.3) 'ü PRHK-1, 9 (%3.3) ' u PRHK-2, 3 (%1.1) 'ü OPRHK ve 12 (%4.7) 'si sınıflandırılamayan RHK'dan oluşmaktadır. DSÖ/UÜPD derecelendirme sistemine göre olguların 126 (%49) 'sı derece 2, 89 (%35) 'u derece 3 26 (%10) 'sı derece 1 ve 14 (%5) 'ü derece 4'tür. Olguların 83 (%30) ' ünde perirenal invazyon, 22 (%8) 'sinde lenfovasküler invazyon mevcuttur. Olguların 58 (%21) 'inde tümör nekrozu izlenmiştir. Olgulardan sağ olan 218 kişinin 127'si erkek, 91 kadın; ölen 58 kişinin 43'ü erkek, 15'i kadındır. Ölen hastaların ortalama yaşam süresi 22 (1-102) aydır. Ölen hastaların 43 (%74)'ü erkek, 15 (%26)'i kadındır. Ölen hastalara ait tümörlerin 41 (%71) i BHRHK, 7 (%12) 'si RHK, sınıflandırılamayan, 5 (%9)'i PRHK-2, 4 (%7)'ü PRHK-1 ve 1 (%2)'i KRHK, ven morfolojisindedir. Ölen hastalara ait tümörlerin 26 (%48)'si derece 3, 14 (%26)'ü derece 2, 10 (%19) 'u derece 4 ve 4 (%7)'ü derece 1'dir. Ölen hastalara ait tümörlerin 27 (%47)'sinde perirenal invazyon, 11 (%19)'inde lenfovasküler invazyon izlenmiştir. 22 (%38) olguda nekroz mevcuttur. Sağkalım açısından tümör subtipleri, nükleer derece, perirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı açısından anlamlı fark bulunmuştur. Olguların 8 (%2.9)'i ALK immunohistokimyası ile pozitif, 268 (%97.1)'i negatif boyanmıştır. ALK ile boyanan tümörlerin 4'ü erkek, 4'ü kadındır. ALK ile boyanma gösteren olguların ortalama yaşı59.3 (38-78)'tür. ALK ile boyanma gösteren olgulardan 2 (%25)'i ölü, 6 (%75)'sı sağdır. ALK pozitif olgularda ortalama sağkalım 34 (4-69) ay iken negatif olgularda ortalama sağkalım 48.7 (1-114) aydır. ALK ile pozitif boyanan olguların 4 (%50) 'ü perinükleer, 3 (%37.5) 'ü sitoplazmik, 1 (%12. 5) 'i membranöz paternde boyanmıştır. ALK ile boyanan olguların 3 (%37.5) 'i KRHK, 2 (%25) 'i BHRHK, 2 (%25) 'si RHK, sınıflandırılamayan ve 1 (%12.5) 'i PRHK-2 morfolojisindedir. KRHK morfolojisi dışındaki ALK pozitif RHK'lardan 3'ü nükleer derece 3, 1'i nükleer derece 2 ve 1'i derece 4'tür. ALK pozitif olguların 3'ünde perirenal invazyon, 2'sinde lenfovasküler invazyon izlenmiş olup 3 olguda nekroz mevcuttur. Olgulardan 1'i perirenal invazyon ve nekroz göstermektedir. 2 olgu da perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz mevcuttur. İmmunohistokimyasal olarak ALK ile pozitif boyanan olgulara uygulanan FISH çalışmada 3 olguda %15'in üzerinde (%21, %20 ve %18 oranlarında) ayırlma (break apart) izlenmiştir. Olgular BHRHK (Olgu 1), KRHK (Olgu 2) ve kistik PRHK (Olgu 3) morfolojisindedir. Tümörlerden KRHK olgusu dışındaki diğer iki olgu nükleer derece 3'tür. Ortalama tümör çapı 6, 2 (3, 2-11) cm'dir. Sadece bir tümörde (Olgu 1) perirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz izlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda 276 olguiçinde ALK ile immunohistokimyasal olarak pozitif boyanan 8 olgu izlenmiştir. Bu pozitif olgulara TMA bloğu hazırlanarak çalışılan FISH sonucunda, 3 olguda %15'in üzerinde ayrılma (break apart) izlenmiştir. Olgulardan 1'i BHRHK, 1'i PRHK-2, 1'i KRHK morfolojisindedir. Bu çalışma ALK-RHK üzerine Türkiye'de yapılan ilk çalışmadır. Olgu 1'de tümör

PDF Eraser Free

içerisinde izlenen nonneoplastik glomerüllerin yer alması daha önceki ALK-RHK'larda tanımlanmamış bir morfolojidir. ALK-RHK'ların toplumsal olarak farklı insidans gösterebileceği düşünülen çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızın tümörün Türkiye'deki sıklığı hakkında fikir verebileceği düşünülmektedir. Benzer geniş örneklemli çalışmalarla bulguların tekrarlanması faydalı olacaktır. Bunun yanında ALK inhibitörleri ile tedavi edilen ALK-RHK'larda tedaviye olumlu yanıt aldındığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu durum küçük hücreli dışı akciğer adenokarsinomlarında rutin bir tedavi seçeneği haline gelene ALK inhibitörlerinin ALK-RHK'larda da hedefe yönelik tedavi seçeneği olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: Renal hücreli karsinom, ALK, immünohistokimya, böbrek, ALK-RHK

PDF Eraser Free

ABSTRACT

Aim: Anaplastic lymphoma kinase (ALK) rearrangement-associated renal cell carcinoma (ALK-RCC) has recently been listed in the 2016 World Health Organization (WHO) classification as an emerging/provisional entityThe ALK gene is the one of the main focus for the recently developed targeted therapy methods. ALK gene rearrangements with several partner genes have been identified in other tumors including anaplastic large cell lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma, non-small-cell lung carcinoma, breast carcinoma, colon carcinoma, serous ovarian carcinoma, squamous esophageal carcinoma, neuroblastoma, anaplastic thyroid carcinoma, inflammatory myofibroblastic tumor and epithelioid inflammatory myofibroblastic sarcoma. Especially in the lung adenocarcinomas, ALK inhibitors are routinely used as targeted agents in the treatment proccess. The use of ALK inhibitors in the treatment of other tumors showing ALK rearrangement also makes ALK-RCCs clinically relevant. Clinical response to ALK inhibitors has been reported in patients with ALK rearranged tumors, revealing that ALK inhibitors may be a targetable opion for ALK-RCCs.

Material And Methods: In this study; Hematoxylin&Eosin (H&E) stained slidesofnephrectomy material belonged to 276 cases diagnosed with "renal cell carcinoma" between January 2010 and June 2020 at the Ministry of Health Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital Medical Pathology Clinic werere-evaluated with a light microscope by two observers in the presence of necrosis, lymphovascular invasion, presence of perirenal adipose tissue invasion, and rhabdoid/sarcomatous transformation. Tumor subtype and WHO/ISUP nuclear grade were reassessed by the Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. ALK immunohistochemistry was performed by selecting the blocks with the least areas of necrosis showing different tumor patterns. FISH was studied by preparing TMA block with the cases stained positive with ALK.

Results: Of the cases, 170 (62%) were male, 106 (38%) were female. The mean age of all patients were 61.3 (29-92). Cases consisted of 195 (70. 7%) clear cell carcinoma (CCRCC), 34 (12.3%) papillary RCC type 1 (PRCC-1), 21 (7.6%) chromophobe RCC (ChRCC), 12 (4.7%) RCC, unclassified, 9 (3.3%) papillary RCC type 2 (PRCC-2), 3 (1.1%) oncocytic papillary RCC (OPRCC), 1 (0.4%) papillary clear cell RCC (PCCRCC). 126 (49%) of the cases were grade 2, 89 (35%) were grade 326 (10%) were grade 1, 14 (5%) were grade 4 based on the WHO/ISUP grading system. The perirenal invasion was present in 83 (30%) of the cases. The lymphovascular invasion was present in 22 (8%) of the cases. Tumor necrosis was observed in 58 (21%) of the cases. Of the 218 survivors, 127 were male and 91 were female. Of the 58 people who died, 43 were men and 15 were women. The average life expectancy of deceased patients was 22 (1-102) months.

PDF Eraser Free

Of the deceased patients, 43 (74%) were male, 15 (26%) were female. The tumors of the deceased patients consist of 41 (71%) CCRCC, 7 (12%) RCC, unclassified, 5 (9%) PRCC-2, 4 (7%) PRCC-1, 1 (2%) ChRCC. 26 (48%) of the tumors of deceased patients were grade 3, 14 (26%) were grade 2, 10 (19%) were grade 4, 4 (7%) were grade 1. The perirenal invasion was observed in 27 (47%) of the tumors of the deceased patients. The lymphovascular invasion was observed in 11 (19%) of the deceased patients.

8 (2. 9%) of the cases stained positive by ALK immunohistochemistry, 268 (97.1%) were negative. Of the ALK positive cases 4 of the cases were male, 4 of the cases were female. The mean age of the cases positive with ALK were 59.3 (38-78). 2 (25%) of the ALK positive caseswere dead, 6 (75%) were alive. The mean survival in ALK-positive cases was 34 (4-69) months, while the mean survival in negative cases was 48. 7(1-114) months. 4 (50%) of the cases stained positive with ALK were perinuclear, 3 (37.5%) were cytoplasmic, 1 (12.5%) were membranous. The ALK positive cases consisted of 3 (37.5%) ChRCC, 2 (25%) CCRCC, 2 (25%) RCC, unclassified, 1 (12.5%) PRCC-2. Except for the ChRCC subtype, 1 of the ALK-positive RCCs was nuclear grade 2, 3 were nuclear grade 3, and 1 was grade 4. The perirenal invasion was observed in 3, lymphovascular invasion in 2 of ALK-positive cases, and necrosis was present in 3 cases. One of the cases showed both perirenal invasion and necrosis. Perirenal, lymphovascular invasion, and necrosis were present in 2 cases. In the FISH study, which was applied to the cases with immunohistochemically positive for ALK, break apart was observed in more than 15% of tumor cells in 3 cases (21%, 20%, and 18%). The cases were in the morphology of CCRCC (Case 1), ChRCC (Case 2), and PRCC (Case 3). Except for the ChRCC, the other two tumors were nuclear grade 3. The mean tumor diameter was 6.2 (3.2-11) cm. Perirenal invasion, lymphovascular invasion, and necrosis were observed in only one tumor (Case 1).

Conclusion: In our study, 8 cases stained positive by ALK immunohistochemistry were observed in 276 cases. As a result of FISH, which was studied by preparing a TMA block for these positive cases, more than 15% break apart was observed in 3 cases. Cases have CCRCC (Case 1), PRHK-2 (Case 2), and ChRCC (Case 3) morphology. This is the first study on ALK-RCC in Turkey. There are studies that are thought to show a socially different incidence of ALK-RCC. It is thought that our study can give an idea about the frequency of ALK-RCC in Turkey. It would be useful to repeat the findings with studies with similar large samples. In addition, there are studies showing a positive response to treatment in ALK-RCCs treated with ALK inhibitors. This allows ALK inhibitors that are used for the treatment of lung adenocarcinomas to be used as a targeted treatment option in ALK-RCCs.

KEYWORDS: Renal cell carcinoma, ALK, immunohistochemistry, kidney, ALK-RCC

PDF Eraser Free

1. GİRİŞ ve AMAÇ

ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinom (ALK-RHK) Dünya Sağlık Örgütünün 2016 yılında yayımladığı "Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırması" kitabında yer alanprovizyonel antitedir[1]. ALK geninin farklı genlerle füzyonlarını içeren translokasyonlarını gösteren renal hücreli karsinomları kapsamaktadır. ALK geni reseptör tirozin kinaz süper ailesinin bir üyesidir ve 2p23 bölgesinde yerleşim göstermektedir. ALK genininde görülen füzyonlar sonucu oluşan kromozomal rearanjmanlar onkojenik kimerik proteinler aracılığıyla ALK geninde olağandışı aktivasyona neden olmaktadır[2]. ALK rearanjmanları yalnızca renal hücreli karsinomlarla sınırlı değildir. Küçük hücreli dışı akciğer adenokarsinomları, anaplastik tiroid karsinomları, anaplastik büyük hücreli lenfoma gibi farklı tümörlerde de ALK rearanjmanı saptanmıştır [3]. ALK, son zamanlarda geliştirilen hedefe yönelik tedavi yöntemleri için odaklanılmış genler arasında yer almaktadır. ALK inhibitörleri, anaplastik büyük hücreli lenfoma, küçük hücreli dışı karsinomlar ve diğer bazı solid tümörler tedavisinde kullanılmaktadır. ALK inhibitörlerine klinik yanıt veren ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinomların bildirilmesi bu olgulara yönelik hedeflenebilir terapötik seçenek sunmaktadır[2].

ALK geni üzerine yapılan çalışmaların artmasıyla birlikteALK rearanjmanı gösteren renal karsinomların sayısında artış bildirilmiştir. ALK geni farklı genler ile füzyon gösterebilmektedir. Füzyon gerçekleştirdiği gene göre immunohistokimyasal olarak sitoplazmik, sitoplazmik-nükleer, perinükleer-sitoplazmik ya da nükleer membran boyanması izlenebilmektedir [4]. ALK-RHK'larda önceden tespit edilmiş TPM3, STRN, VCL, EML4, PLEKHA7, HOOK1 gibi genler yanı sıra Kuroda ve ark. 'nın son zamanlarda ortaya koyduğu CLIP1, KIF5B, KIAA1217 genleri ile ALK geni arasında füzyonlar saptanmıştır[2], [4]. VCL-ALK füzyonu gösteren olgular orak hücreli anemi ile ilişkili bulunmuştur. VCL-ALK ve TPM3-ALK füzyonu gösteren pediatrik olgularda, erişkin renal medüller karsinom ve toplayıcı kanal karsinomuna benzer morfolojik özellikler izlenmiştir [5], [6]. ALK-RHK'lar papiller, solid, tübüler, tübülokistik, kribriform, trabeküler, iğsi hücreli ve taşlı yüzük hücreli gibi farklı morfolojik özellikler gösterebilmektedir. İnterstisyel veya intrasitoplazmik müsin varlığının tanı için önemli bir ipucu olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur [6]–[8]. Hücreler eozinofilik sitoplazmalı, rabdoid, vakuolize, pleomorfik dev hücreler ve metanefrik adenom benzeri küçük hücre morfolojisi gibi değişken morfolojiler gösterebilmektedir[4]. Görülen farklı histomorfolojik özellikler ALK-RCC tümörlerinde belirgin morfotipin ortaya konulmasını güçleştirmektedir[3].

Biz bu çalışmadarenal hücreli karsinomlar içerisinde farklı morfolojik özellikler gösterenALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinon olgularının

PDF Eraser Free

belirgin ve yaygın morfolojik özelliklerini ortaya koymayı, insidans açısından toplumsal farklılık gösterebilen bu tümörün immunohistokimya ve FISH yöntemini kullanarak Türkiye'deki sıklığını belirlemeyi amaçladık.

PDF Eraser Free

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. ANATOMİ VE HİSTOLOJİ

2. 1. 1. Böbrek Gelişimi

Üriner sistem ve genital yollar gelişimsel olarak yakından ilişkilidir. Her ikisi de aortun lateralinde bilateral yer alan orta mezodermden gelişir. Mezodermden intrauterin hayatta sırasıyla pronefroz (0-3. hafta), mezonefroz (25. gün-3. ay) ve metanefroz olarak üç sistem gelişir. Pronefroz ve mezonefroz geçiçi yapılar olmakla birlikte üriner sistem ve üreme organlarının oluşumunda kritik role sahiptir. Metanefroz yetişkin böbreği oluşturur. Böbrekler iki bölüm ile dört aşamada gelişmektedir. Gestasyonun 4-6 haftasından itibaren yetişkin metanefrik böbrek oluşur. 7. haftadan itibaren toplayıcı kanallar ve nefronlar gelişir. Üreterik tomurcuktan renal pelvis, minör kaliksler ve toplayıcı kanallar oluşur. Metanefrik mezenkimden nefronlar meydana gelmektedir. 22-36. haftalar arasında nefrogenez meydana gelirken 36. haftadan sonra sadece tubulointerstisyel alan gelişir.

2. 1. 2. Böbrek Histolojisi

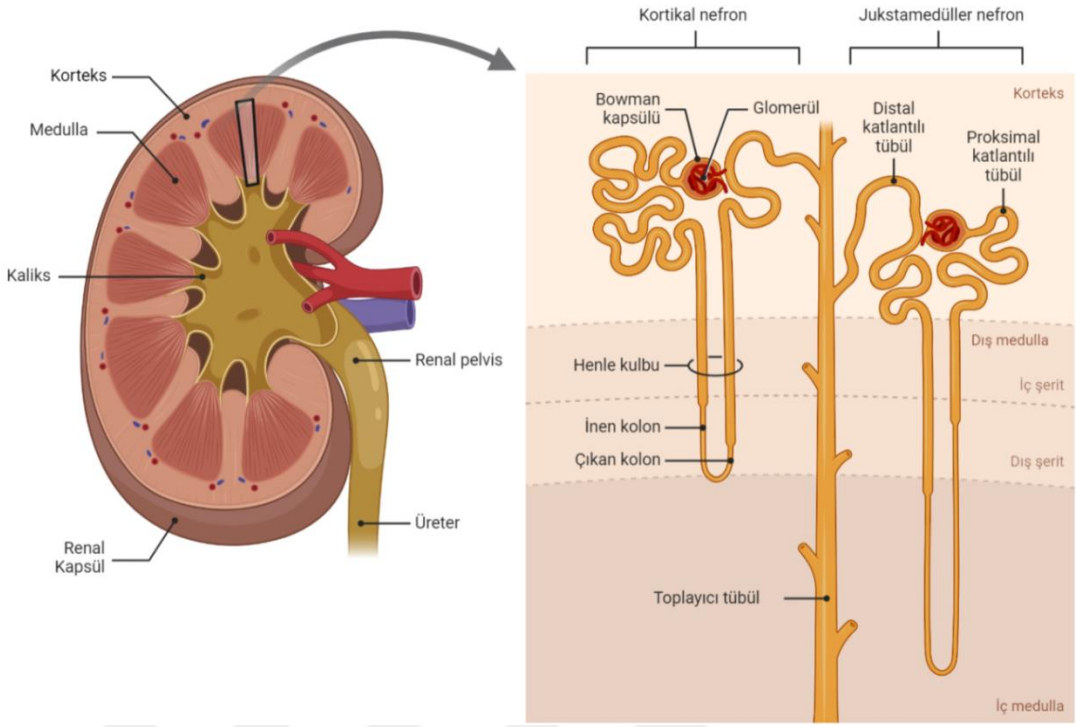
Korteks, kortikal labirent ve medüller ışınlar şeklinde düzenlenmiştir. Labirent; glomerüller, proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller, toplayıcı tübüller ve toplayıcı kanalların başlangıç kısmı yanı sıra interlobüler damarlar, arterioller, kılcal damarlar ve lenfatikleri içermektedir.

Kortekste tübüller sıkıca paketlenmiş olup bazal membran ile yan yana sıralanmıştır. İnterstisyel boşluk sınırlı olup peritübüler kapiller pleksus ve az sayıda interstisyel fibroblast ve retiküler hücre içermektedir.

Medüller ışınlar, toplayıcı kanal ve proksimal ve distal düz tübüllerden oluşur. Tek medüller ışına ait toplayıcı kanallara boşalan nefronlar böbreğin fonksiyonel birimi olan renal lobülü oluşturur.

Medulla iç (papilla) ve dış medulla olarak ikiye ayrılır. Dış medulla, iç ve dış şeritten oluşur. Dış şerit proksimal tübülün düz kısmı, Henle kulbunun kalın asendan kolu ve toplayıcı kanalları; iç şerit Henle kulbunun ince inen ve kalın kısmı ve toplayıcı kanalları içermektedir. İç medulla Henle kulbunun ince inen ve çıkan kısmı ve Belli'nin toplayıcı kanallarını bulundurur (Şekil 1).

PDF Eraser Free



Şekil 1. Böbrek histolojisi

2. 1. 3. Böbrek Anatomisi

Böbrekler, retroperitoneal alanda 12. torakal vertebra ile 3. lomber vertebra seviyeleri arasında bilateral olarak yerleşmiştir ve yaklaşık 130-150 gram ağırlığındadır. Erişkin bir insanda 11-13 cm uzunlukta, 5-7 cm genişlikte ve2, 5-3 cm kalınlıkta fasülye benzeri görünüme sahip organdır[9]. İç bükey kısmından önden arkaya doğru arter girer, ven ve üreter ayrılır.

Böbrek kesit yüzü korteks ve medulla olarak iki bölümden oluşur. Dış bükey kısmında yer alan korteks 1,2-1,5 cm kalınlıktadır. Medulla iç bükey kısımda yer alır ve iç ve dış medulla olarak ikiye ayrılır. İç medulla böbrek papillasından oluşur. Papillalar minör kalikse protrude olur. Papillanın uç kısmında bulunanan papiller toplayıcı kanalların20-70 arasında renal pelvise açıklığı (Bellini kanalları) izlenir. Renal piramitler arasında ilerleyen korteks bölgesine Bertini kolonlarını denir (Şekil 2) [9]–[11].

Böbrekler intrauterin dönemde lobüler görünüme sahiptir. Normal bir yetişkin böbreği 10-14 lobülden oluşur. Bir lobülün tabanı kapsül, tepesi böbrek papillasından oluşur.

Korteks; glomerüller, tübüller, interlober arterler, toplayıcı duktusların başlangıcını oluşturan kortikal labirent ve medüller çizgi alanını içerir. Korteksin büyük kısmını proksimal tübüller oluşturur. İnterstisyum yalnızcaperivasküler

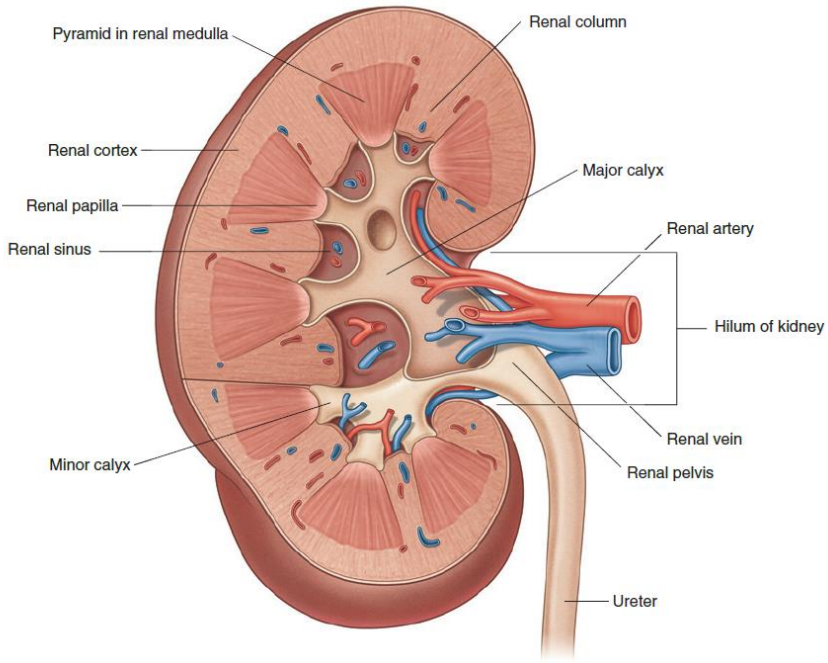
PDF Eraser Free

alandaizlenir. Buradaki medüller alan, toplayıcı duktuslar ve tübüllerin düz segmentlerinden oluşur.

Ana renal arter aortadan köken alır. Renal arter; anterior, posterior ve bu dallardan köken alan 5 segmental artere ayrılmaktadır. Segmental arterler iseinterlobar arterler, arkuat arterler, interlobüler arterler, ve son olarak arteriollere ayrılmaktadır.

İnterlobüler, arkuat ve inter lobar venler arterlere paralel olarak seyrederler. Arkuat venler arterlerin aksine çok sayıda anastomoz yaparakbirleşerek 3 büyük segmental veni oluştururlar. Venler, renal pelvis anteriorundan uzanarak ana renal veni oluştururlar.

Böbrek lenfatik drenajı asıl olarak damarları takip ederek lateral aortokaval lenf düğümünde sonlanır. Yüzeyel korteksten minör kapsüler lenfatik drenaj kapsüle ve devamında hilus aracılığıyla ana lenfatik dolaşıma katılır.



Şekil 2. Böbrek anatomisi

2.2. RENAL HÜCRELİ TÜMÖRLER

2. 2. 1. Epidemiyoloji

Renal hücreli karsinom dünyada 2020 yılı verilerinde erkekler arasında en sık onuncu, kadınlar arasında ise en sık on dördüncü kanser olarak bildirilmiştir[12]. Olguların %70'i yüksek sosyoekonomikdüzeyli ülkelerde

PDF Eraser Free

saptanmaktadır. Renal hücreli karsinom erkeklerde daha sık görülmekte olup erkek/kadın oranı yaklaşık 2/1'dir. Çocuklarda nadir olarak görülmektedir. Tüm dünyada kanser nedenli ölümler arasında on altıncı sırada yer almaktadır. Bildirilen olguların çoğu gelişmiş ülkelerde izlenmesinerağmen öldürücülük hızı gelişmiş ülkelerde 0, 4; gelişmemiş ülkelerde ise 0, 5'tir[1].

Türkiye'de ise Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü 2016 kanser istatistiklerinde tüm yaş gruplarında erkeklerde en sık 6'ncı, çocukluk çağında en sık 7'nci kanser iken kadınlarda ilk 10 kanser türü arasında yer almamaktadır[13].

2. 2. 2. Etiyoloji

2. 2. 2. 1. Obezite

Kilolu, özellikle de obez olmak, hem kadın hem de erkekler için renal hücreli karsinom açısından risk faktörüdür[14]. Amerika ve Avrupa'darenal hücreli karsinomların yaklaşık%40'ı obezite ve fazla kilo ile ilişkili bulunmuştur [15], [16]. Obezitenin renal karsinogenezdeki etki mekanizması bilinmemektedir. Seks steroid hormonlarının endokrin reseptörler aracılığı ile renal hücre proliferasyonuna etki ettiği düşünülmektedir [1].

2. 2. 2. 2. Tütün Kullanımı

Meta-analizler, devamlı sigara kullanımının hiç sigara içmeyenlere göre renal karsinom riski artırdığını göstermektedir[17], [18]. Günlük içilen sigara sayısı da doz bağımlı risk faktörü artışına neden olmaktadır. Risk sigara kullanımı bırakıldıktan 5 yıl sonra azalmaktadır[1].

2. 2. 2. 3. Hipertansiyon

Hipertansiyon ve tedavisinde kullanılan anti-hipertansif ilaçlar renal kanser riskinin artışı ile ilişkili bulunmuştur[19].

2. 2. 2. 4. Kazanılmış Kistik Böbrek Hastalığı

Genellikle son dönem böbrek hastalığına bağlı uzun dönem hemodiyaliz hastalarında gelişen bir durumdur. Renal kanser sıklığı son dönem böbrek hastalığı olan hastalarda belirgin şekilde (%3-7) artmıştır[20]. Papiller renal hücreli karsinomun son dönem böbrek hastalarında en sık görülen renal kanser olduğu düşünülmekteydi. Günümüzdeson dönem böbrek hastalığı sonucu oluşan kazanılmış kistik böbrek hastalığı ilişki renal kanserin özgün bir histolojik subtip olduğu düşünülmekle birlikte diğer renal hücreli karsinom subtipleri de kistik veya kistik olmayan son dönem böbrek yetmezliği zeminde gelişebilmektedir[1].

2. 2. 2. 5. Mesleki Maruziyet

Mesleki trikloroetilen maruziyetinin berrak hücreli renal hücreli karsinom riskini artırdığını gösterilmiştir[21].

PDF Eraser Free

2. 2. 3. Genetik Yatkınlık

Renal karsinomların çoğu sporadik olmasına rağmen %2-4'ü ailesel nedenlidir. Renal karsinom tanısı almış birinci derece akrabası olan kişilerde renal karsinom gelişme riski yaklaşık iki katı fazladır. Cowden sendromu, von Hippel Lindau sendromu, Birt-Hogg-Dube sendromu gibi bazı genetik hastalıklar renal karsinom ile ilişkili bulunmuştur[22]. Herediter renal tümörler tipik olarak bilateral, multifokald olup erken yaşta görülür[9].

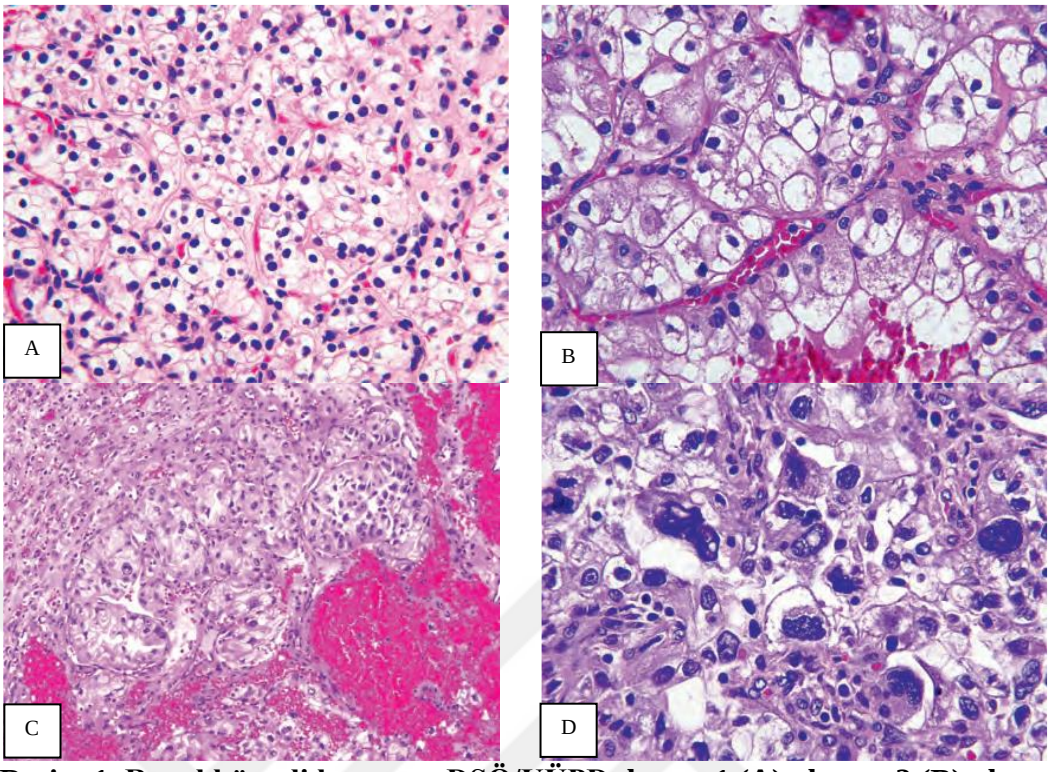
2. 2. 4. Derecelendirme

Nükleer derecelendirme renal hücreli karsinomların biyolojik davranışını değerlendirmek için önemlidir[23]. Derecelendirme için öncesinde en sık kullanılan yöntem Fuhrman sistemi olmakla birlikte son zamanlarda 4 basamaklı, berrak hücreli renal hücreli karsinom ve papiller renal hücreli karsinom için prognozu öngörebilen WHO/International Societyof Urologic Pathology (ISUP) (DSÖ/UÜPD) sistemi önerilmektedir (Tablo 1) (Resim1) [1].

Tablo 1. DSÖ/UÜPD derecelendirme sistemi

Derece	Tanım
1	x400 büyütmede nükleol yokluğu veya belirsiz bazofilik nükleol
2	x400 büyütmede belirgin, eozinofilik nükleol veya x100'lük büyütmede görünür ancak belirgin olmayan nükleol
3	x100'lük büyütmede belirgin ve eozinofilik nükleol
4	Aşırı nükleer pleomorfizm, multinükleer dev hücreler ve/veya rabdoid ya da sarkomatoid farklılaşma

PDF Eraser Free



Resim 1. Renal hücreli karsnom DSÖ/UÜPD derece 1 (A), derece 2 (B), derece 3 (C) ve derece 4 (D) [9]**.**

2. 2. 5. Renal Hücreli Karsinom Evrelemesi

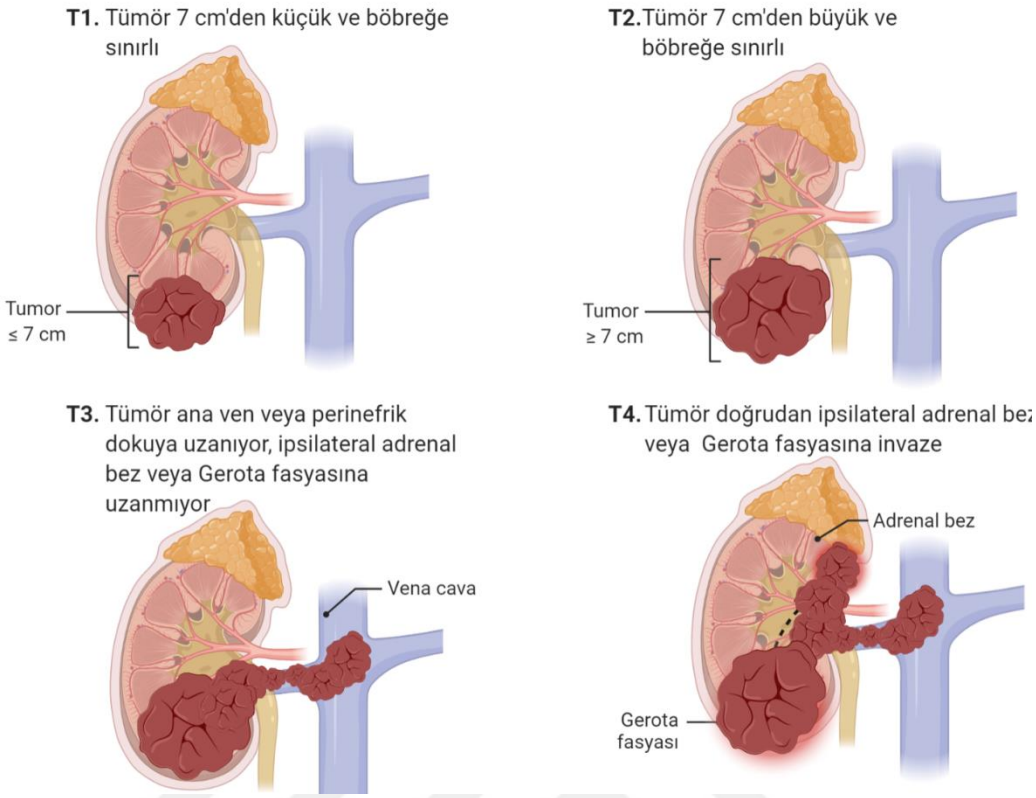
Renal hücreli karsinomların klinik davranışını tahmin etmedeki en önemli faktörün tümörün anatomik yapılara yayılımı ve tümör tutulum alanları olduğu düşünülmektedir[24]. Spesmen, tümör-böbrek sinüs yağ dokusu, tümör- çevre yağdoku ilişkisi ve büyük damar invazyonu açısından incelenmelidir. Renal hücreli karsinomların patolojik TNM evrelemesinde AJCC (American Joint Committee on Cancer) sistemi kullanılmaktadır (Tablo 2) (Şekil 3) [25].

PDF Eraser Free

Tablo 2. AJCC sistemi böbrek tümöreri patolojik TNM evrelemesi ve klinik evreleme

T Evresi	**T Kriteri**
TX	**Primer tümör değerlendirilemedi**
T0	**Primer tümöre ait kanıt yok**
T1	**En büyük tümör boyutu ≤ 7cm ve böbrek dokusuna sınırlı**
T1a	Tümör≤ 4 cm
T1b	Tümör >4cm ancak tümör ≤ 7cm
T2	**En büyük tümör boyutu > 7cm ve böbrek dokusuna sınırlı**
T2a	Tümör > 7cm ancak tümör ≤ 10 cm
T2b	Tümör >10 cm
T3	**Tümör ana ven veya perinefrik dokuya uzanıyor ancak ipsilateral adrenal bez veya Gerota fasyasına uzanmıyor**
T3a	Tümör renal ven veya segmental (kas tabakası içeren) dallarına uzanıyor veya perirenal ve/veya renal sinüs yağ dokusunu invaze ediyor ancak Gerota fasyasını aşmıyor
T3b	Tümör diyafram altında vena kavaya uzanıyor
T3c	Tümör diyafram üstünde vena kavaya uzanıyor ve/veya vena kava duvarını invaze ediyor
T4	**Tümör doğrudan ipsilateral adrenal bez dahil Gerota fasyasını invaze ediyor**
N Evresi	**N Kriteri**
NX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf düğümü metastazı yok
N1	Bölgesel lenf düğümü metastazı var
M Evresi	**M Kriteri**
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
AJCC Prognostik Evre Grupları	
Evre I	T1 N0 M0
Evre II	T2 N0 M0
Evre III	T1-2 N1 M0 T3 N0-1 M0
Evre IV	T4 N0/1 M0 T1-2-3-4 N0-1 M1

PDF Eraser Free



Şekil 3. Renal hücreli karsinom T evrelemesi

2.2. 6. Böbrek Tümörlerinin Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü 2016 yılında yayımladığı "Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırması"kitabında böbrek tümörlerini aşağıdaki gibi sınflandırmıştır (Tablo 3) [1].

PDF Eraser Free

Tablo 3. Dünya sağlık örgütü (2016) böbrek tümörlerinin sınıflandırılması

RENAL HÜCRELİ TÜMÖRLER
- Berrak hücreli renal hücreli karsinom
- Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik neoplazm
- Papiller renal hücreli karsinom
- Herediter leiomyomatozis ve renal hücreli karsinom ilişkili renal hücreli karsinom
- Kromofob renal hücreli karsinom
- Toplayıcı kanal karsinomu
- Renal medüller karsinom
- MiT ailesi translokasyonlu renal hücreli karsinom
- Suksinat dehidrojenaz eksikliği gösteren renal hücreli karsinom
- Müsinöz tübüler ve iğsi hücreli karsinom
- Tübülokistik renal hücreli karsinom
- Edinsel kistik hastalık ilişkili renal hücreli karsinom
- Berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom
- Renal hücreli karsinom, sınıflandırılamayan
- Papiller adenom
- Onkositom
-

METANEFRİK TÜMÖRLER
- Metanefrik adenom
- Metanefrik adenofibrom
- Metanefrik stromal tümör
-

ÇOCUKLARDAGÖRÜLEN NEFROBLASTİK ve KİSTİK TÜMÖRLER
- Nefrojenik kalıntılar
- Nefroblastom
- Kistik parsiyeldiferansiye nöroblastom
- Pediyatrik kistik nefroma

YETİŞKİNLERDE GÖRÜLEN MEZENKİMAL TÜMÖRLER
- Leiomyosakrom
- Anjiosarkom
- Rabdomyosarkom
- Osteosarkom
- Sinoviyal sarkom
- Ewing sarkomu
- Anjiomolipom
- Epiteloid anjiomyolipom
- Leiomyom
- Hemanjiom
- Lenfanjiom
- Hemanjioblastom

MEZENKİMAL TÜMÖRLER
- Berrak hücreli sarkom
- Rabdoid tümör
- Konjenital mezoblastik nefrom
- İnfantil ossifiye renal tümör
- Jukstaglomerüler hücreli tümör
- Renomedüller interstisyel hücreli tümör
- Schwannom
- Soliter fibröz tümör

MİKST EPİTELYAL ve STROMAL TÜMÖR AİLESİ
- Erişkin kistik nefroma
- Mikst eptelyal ve stromal tümör

NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER
- İyi diferansiye nöroendokrin tümör
- Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
- Küçük hücreli nöroendokrin karsinom
- Paragangliom

DİĞER TÜMÖRLER
- Renal hematopoetik neoplazmlar
- Germ hücreli tümörler

PDF Eraser Free

2. 2. 6. 1. Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinom

Berrak hücreli renal hücreli karsinomlar (BHRHK), berrak veya eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşan morfolojik olarak heterojen bir görünüm sergileyen malign neoplazmdır [1]. Proksimal tübülü döşeyen epitelyal hücrelerden köken aldığı bilinmektedir [26], [27].

Berrak hücreli renal hücreli karsinom, renal hücreli karsinomların %60-70'ini oluşturmaktadır [28], [29]. Tüm yaş grupları risk faktörü olmakla birlikte hastaların büyük çoğunluğu 40 yaş üstü hastalarda ve çoğunluğu erkeklerde (1.5:1) görülmektedir[30], [31]. Olguların %60-70'i ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme esnasında rastlantısal olarak bulunur. Klinik belirti gösteren olgularda en sık hematuri ve yan ağrısı izlenmektedir. Kilo kaybı ve ateş ileri evrelerde görülmektedir[1].

Berrak hücreli renal hücreli karsinomlar, en sık hematojen yolla renal sinüs venleri, renal venler, vena cava aracılığı ile akciğer metastazı yapmaktadır[32], [33]. Renal venlerden lumbar venlere giden dolaşım aracılığı ile merkezi sinir sistemi, baş-boyun ve kemik metastazları görülebilir[34]. Hiler, aortik, kaval ve torasik lenfatik yayılım aracılığı ile farklı bölgelere yayılım izlenebilir [35], [36].

Berrak hücreli renal hücreli karsinomlar, her iki böbrekte eşit olarak görülmektedir.

Olguların %5'inden azı multifokal ve/veya bilateral olabilir. Multifokal vebilateral görülme, erken yaşta tanı alma von Hippel-Lindau (VHL) sendromugibi kalıtsal kanser sendromlarında tipik olarak görülmektedir[37].

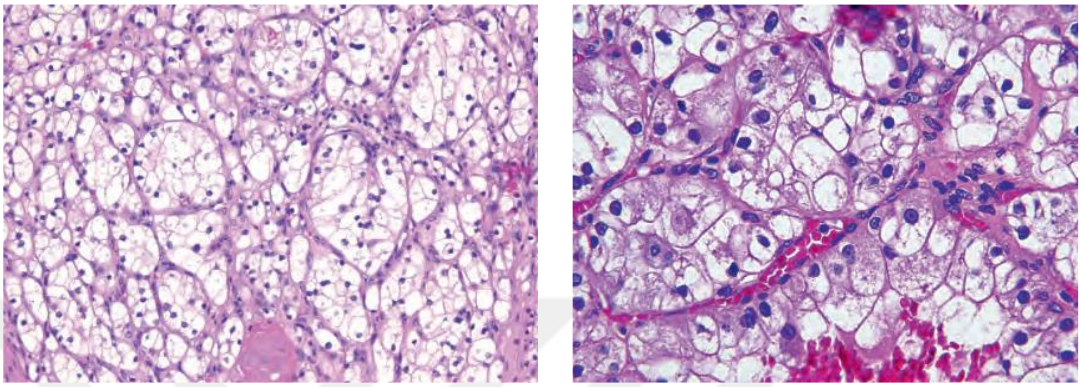
BHRHK, makroskopik olarak milimetrik boyuttan çok büyük boyutlara kadar görülebilmektedir. Genellikle kortikal yüzeyden protrüde görünümdedir. Kesit yüzünde altın sarısı renginde, gri-beyaz fibrozis ve eski kanama alanlarının görüldüğü kitle olarak izlenmektedir. Genellikle iyi sınırlı ve psödokapsüllüdür. Kistik alanlar ve kalsifikasyon özellikle nekrotik alanlarda sıklıkla izlenir[9].

Mikroskopik olarak berrak hücreli renal hücreli karsinomlar farklı histomorfolojik paternler gösterebilmektedir. En sık ince duvarlı damarlar ile ayrılmış tabakalar, kompakt yuvalar, alveolar, asiner ve mikrokistik ve/veya makrokistik yapılar halinde izlenir. En sık solid alveolar ve asiner paternde görülmektedir. Alveolar paternde lumina izlenmezken asiner paternde lümende asidofilik seröz sıvı ve eritrositler görülebilmektedir (Resim 2) [1], [9].

Klasik berrak hücreli renal hücreli karsinom morfolojisinde belirgin hücre membranları ve rutin histolojik takip süreci sırasında tümör hücrelerinde yoğun miktarda bulunan sitoplazmik lipid ve glikojen kaybından dolayı berrak görünüm izlenmektedir. Nekroz ve hemoraji alanlarının kenarlarında ve bazı yüksek dereceli olgularda sıklıkla granüler eozinofilik sitoplazmalı hücreler izlenebilmektedir.

PDF Eraser Free

Tümör hücreleri nükleolleri histolojik dereceye bağlı olarak belirsiz, küçük veya büyük olabilir[1], [9]. Sarkomatiod ve rabdoid değişiklikler tümörlerin %5'inde görülmektedir ve kötü prognoz ile ilişkilidir[38]. Heterotropik kemik formasyonu, intraselüler sitoplazmik inklüzyonlar, multinükleer dev hücreler, sarkoid benzeri granülomlar, myosferülozis ve lenfomatoid özellikler içeren farklı histolojik varyasyonlar tanımlanmıştır [9].



Resim 2. Renal hücreli karsinom [9]

PAX8 daha sensitif belirteç olmakla birlikte, PAX8 ve PAX2teorik olarak tüm BHRHK'larda pozitiftir [39], [40]. Karbonik anhidraz-IX (CA-IX) BHRHK'ların %75-100'ünde diffüz membranöz ekpresyon göstermekle birlikte yüksek dereceli tümörlerde azalmış ekspresyon izlenebilmektedir[41], [42]. CA-IX, BHRHK'larda komplet sitoplazmik boyanma gösterirken berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom olgularında bazolateral boyanma izlenir[43]. BHRHK'lar sitokeratin AE1/AE3, CAM5. 2, epitelyal membran antijen (EMA) gibi epitelyal belirteçleri eksprese eder. CK7 ile nadir olarak yüksek dereceli tümörlerde izole hücrelerde boyanma izlenir [43]–[45]. CD10 ile BHRHK'larda membranöz pozitif boyanma izlenmekle birlikte diğer tümörlerde de fokal immunboyanma izlenebilmektedir. Vimentin özellikle yüksek dereceli alanlarda daha belirgin olmak üzere pozitif immunreaksiyon göstermektedir[46]. 34E1β2, CK20, musin1 (MUC1), parvalbumin, "α-metilaçil–koenzim A rasemeraz" (AMACR), böbrek-spesifik cadherin ve CD117 çoğu olguda negatiftir[9].

BHRHK olgularının %90'ından fazlasında 3. kromozomunkısa kolunda (3p) genetik materyal kaybı veVon Hippel Lindau (VHL) geninde alelik delesyon, mutayon veya hipermetilasyonu izlenir [9], [47], [48]. VHL geni, 3. kromozomun kısa kolunda (3p25-26) lokalize bir tümör süpresör gendir[49].

VHL geni yanı sıra 3. kromozomda yer alan FHIT (3p14. 2) ve 3p12'de yer alan bir diğer tümör süpresör gende meydana gelen delesyonun da BHRHK gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir [50]. Olguların %96'sında VHL ve FHIT genlerini içeren 3p14. 2-p25 arası bölgenin delesyonu izlenmektedir [51]. 3p bölgesi KD-M6A, KDM5C, SETD2 ve PBRM1 isimli en az 4 tumör supresör gen içermektedir. Bu bölgede meydana gelen mutasyonlar tümör progresyonun ve

PDF Eraser Free

metastaz kapasitesini artırmaktadır. Sonuç olarak bu bölgelerdeki genetik anomaliler sıklıkla yüksek patolojik derece, evre ve kötü prognoz ile ilişkilidir[9]. Kromatin yeniden düzenlenmesinde görevli BAP1 geninde fonksiyon kaybı mutasyonları da BHRHK gelişimin rol oynamakta olup BAP1 mutant tümörler yüksek derece ve kötü prognoz ile ilişkilidir [1].

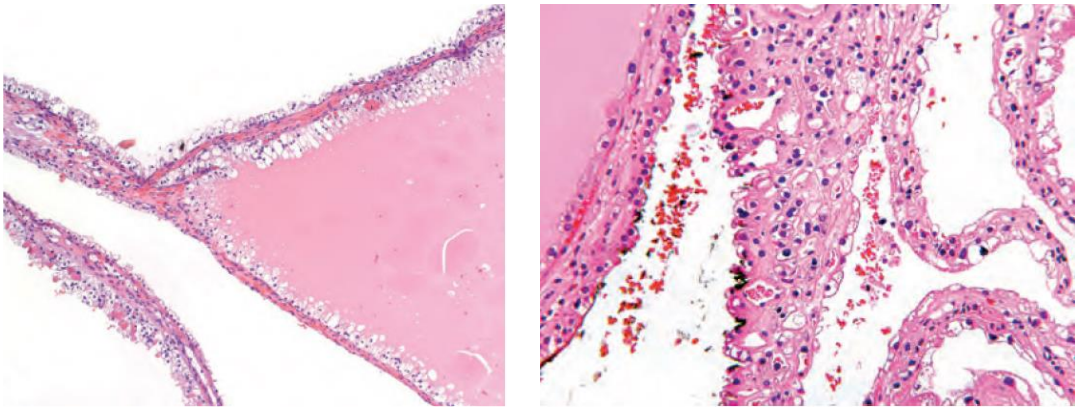
BHRHK tipik olarak vonHippel-Lindau sendromunun tipik tezahülü olarak görülmektedir. BHRHK'lar, Cowden sendromu, Birt-Hodd-Dube sendromu, tuberosklerozis ve süksinat dehidrogenaz eksikliğiilişkili renal hücreli karsinom ile de ilişkilidir [52]–[54].

BHRHK'ların prognozunu gösteren en doğru parametre patolojik evredir[55], [56]. Aynı evre tümörler arasında tümör derecesi, nekroz, sarkomatoid ve rabdoidfarklılaşma alanının olup olmaması prognostik parametrelerdir[57]. Tümör nekrozunun varlığı diğer parametrelerden bağımsız prognostik öneme sahiptir [57], [58].

2. 2. 6. 2. Düşük Malignite Potansiyelli Multiloküler Kistik Renal Neoplazm

Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm, çok sayıda kist ve ekspansif büyüme göstermeyen berrak hücrelerden oluşan septalardan oluşan düşük malignite potansiyelli bir tümördür. Kistler berrak sitoplazmalı, küçük nükleuslu, nükleol içermeyen (DSÖ/UÜPD derece 1 veya 2) tümör hücreleri ile döşelidir (Resim 3). Nekroz, vasküler invazyon ve sarkomatöz değişim görülmez. Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm, kistik dejenerasyon, belirgin hyalinizasyon ve hemosiderin birikimleri gösteren regrese BHRHK ile karıştırılmamalıdır[1].

Düşük Malignite Potansiyelli Multiloküler Kistik Renal Neoplazm, çok iyi prognozlu olup rekürrens veya metastaz bildirilmemiştir[57], [59].



Resim 3. Düşük malignite potansiyelli multiloküler kistik renal neoplazm [9]

PDF Eraser Free

2. 2. 6. 3. Papiller Renal Hücreli Karsinom

Papiller renal hücreli karsinom (PRHK), renal tübül epitelinden köken alan papiller ve tübülopapiller yapı sergileyen sıklıkla iyi sınırlı malign tümördür. En sık ikinci malign böbrek tümörüdür. Her yaşta görülmekle birlikte BHRHK'a benzer şekilde ortalama görülme yaşı 59-63'tür[1].

PRHK, skar içeren son dönem böbek hastalığı ve kazanılmış kistik hastalık ile daha sık görülmekle birlikte spesifik bir etiyoloji bulunmamaktadır[60], [61]. Nadiren genetik sendromlar ve herediter PRHK sendromları ile ilişkidir[62].

PRHK'lar, renal kortekste izlenir, multifokal olabilmektedir. Multipl PRHK'lar renal hasar ile ilişkili olabilir. Multipl ve/veya bilateral tümörlerde PRHK ilişkili sendromlar akla gelmelidir[1].

PRHK, klinik özellikleridiğer RHK subtipleri ile benzerdir. Tipik klinik triad olanabdominal kitle, yan ağrısı ve hematüri olguların yalnızca %5-10'unda görülür. PRHK, BHRHK'tan daha fazla iskemik nekroz ve spontan hemorajiye gitme eğilimindedir[63]. Güncel verilerde olgular görüntüleme ile rastlantısal olarak saptanmakta olup olguların %50'si asemptomatiktir[64], [65].

PRHK'lar, BHRHK'larda olduğu gibi tümör daha çok renal vasküler yol ile akciğere metastatik yayılım gösterir. Tümörün perirenal yağ dokuya infiltrasyonu ile retroperiton yayılımı izlenebilmektedir. Renal hilus bölgesindeki lenf düğümlerine yayılım BHRHK'dan daha sık görülmektedir[1].

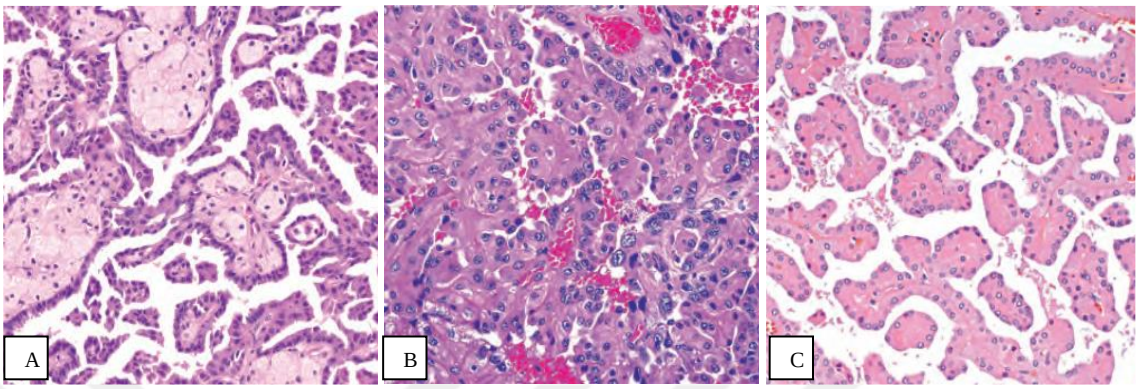
Cerrahi spesmenlerde PRHK sıklıkla psödokapsüllü ve iyi sınırlıdır. Tümör, tümör içi kanama derecesine göre sarı, ten veya kahverenkli olabilir. Tümör genellikle frajil nitelikte olup büyük tümörler fibrozis, nekroz odakları ve/veya kistik dejenerasyon içerebilir[1].

PRHK'lar, mikroskopik olarak ince köpüksü makrofajlar ve Psammom cisimcikleri içeren fibrovasküler kor yapıları izlenen papillalardan oluşmaktadır. Bazen korlar ödem ve hyalinize bağ doku nedeniyle genişleyebilmektedir [66], [67]. Bazı tümörler tübüler morfoloji veya papillaların sıkı paketlenmiş görünümü nedeni ile solid görünümde olabilir [68]. PRHK'ların %5'inde sarkomatoid değişiklik izlenebilmektedir (Resim 4) [66].

PRHK, yeni çalışmalarda her ne kadar önerilmese [69] de, DSÖ 2016 Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri sınıflamasındatip1 ve tip 2 olmak üzere iki alt tipe ayrılır[66], [70]. Tip 1 karsinomlarda dar soluk sitoplazmalı hücrelerden oluşan tek sıralı papilla yapıları izlenmektedir. Tip 2 karsinomlar nükleer psödostratifikasyon ile karakterizedir. Yüksek nükleolar derece ve eozinofilik sitoplazma sıklıkla izlenir [1].

PDF Eraser Free

Onkositik sitoplazmalı, yuvarlak, düşük dereceli nükleuslu, belirsiz nükleollü hücrelerden oluşan PRHK'lar onkositik düşük dereceli varyant olarak tanımlanmıştır[71], [72]. Bu tümörler moleküler olarak PRHK tip 1 ile benzer olup klinik olarak iyi prognozludur[71]–[73].



Resim 4. Papiller renal hücreli karsinom. Tip 1 (A), Tip 2 (B) ve onkositik tip (C) [9]

PRHK'lar sıklıkla sitokeratin AE1/AE3, CAM5. 2, yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinler, epitelyal membran antijen (EMA), AMACR, RCC antijen, vimentin ve CD10 pozitiftir. CK7, PRHK tip1 olgularında tip 2'ye göre daha çok ekspresyon göstermektedir[9].

PRHK tip 1 olgularında kromozom Y kaybı ve kromozom 7, 17, 16 ve 20 kazanımı izlenmektedir[74]. MET yolağı aktivasyonu PRHK tip 1 olgularının %80'inde görülmektedir[75], [76]. PRHK tip 2 tümörlerde kromozom 1, 3, 4, 5, 6, 8q, 9, 14, 15'te kromozomal kazanım veya kayıp izlenmektedir[75]–[79].

Kanser Genom Atlası Araştırma Ağı, yapılan kapsamlı genetik çalışmalarda PRHK tip1 ile tip 2'nin farklı tümörler olduğunu göstermiştir. PRHK tip 1 MET genindeki değişiklikler ile ilişkili iken PRHK tip 2CDKN2A susturma, SETD2 mutasyonu, transkripsiyon faktör E3 (TFE3) füzyonları ve artmış NRF2 ekspresyonu ile karakterizedir [9].

Papiller renal hücreli karsinomlar, berrak hücreli renal hücreli karsinom, toplayıcı kanal karsinomu ve herediter leiomyomatozis ve renal hücreli karsinom ilşikili renal hücreli karsinomlardan daha iyi prognozludur [1]. PRHK tip 1 tümörler de tip 2 tümörlere göre daha iyi prognozludur. Sarkomatoid ve rabdoid farklılaşma ve nükleer derecenin artışı azalmış sağkalım ile ilişkildir [57].

2. 2. 6. 4. Herediter Leiomyomatozis ve Renal Hücreli Karsinom ilişkili Renal Hücreli Karsinom

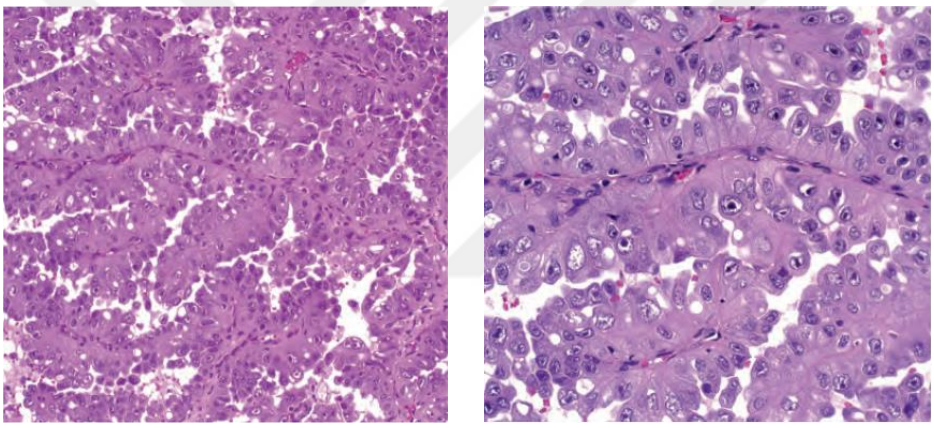
Herediter Leiomyomatozis ve Renal Hücreli Karsinom ilişkili renal hücreli karsinom (HLRHK-RHK), kromozom 1q42'de yerleşmiş FH geninde meydana gelen germline mutasyonlar sonucu kalıtılan otozomal dominant bozuklukolarak

PDF Eraser Free

tanımlanır. FH geninde meydana gelen mutasyon sonrasında fumarat ve 2-suksinositein (2SC) birikimi izlenmektedir. Aile bireylerinin %76'sında kutanöz leiomyom, kadınların da %100'ünde uterin leiomyom görülmektedir [9]. Leiomyoma ek olarak aile üyelerinin %20-30'unda ilk tanıda %50 olguda metastatik olan aresif gidişli bir RHK tipi izlenmektedir [80]–[84].

HLRCC ilişkili RHK (HLRHK-RHK) diğer kalıtsal renal hücreli karsinomların aksine tek taraflı kitle şeklinde görülebilir. Tümör kistik, solid homojen veya solid-kistik olabilir[1].

HLRHK-RHK, geniş eozinofilik sitoplazmalı, büyük nükleuslu, belirgin inklüzyon benzeri eozinofilik nükleollüpapiller morfoloji göstermektedir (Resim 5) [9]. Tübüler, tübülokistik, solid ve karışık olarak farklı morfolojik paternler izlenebilmektedir. Karakteristik nükleer özellikler fokal bir alanda da görülebilmektedir [80]. İmmunohistokimyasal olarak fumarat hidrataz (FH) kaybı ve 2SC overekspresyonu tanısaldır [1].



Resim 5. Herediter leiomymatozis ilişkili renal hücreli karsinom[9].

HLRHK-RHK kötü prognozludur, erken yayılma eğilimindedir. Diğer kalıtsal RHK'ların aksine küçük tümörlerde de metastaz görülebilmektedir [84].

2. 2. 6. 5. Kromofob Renal Hücreli Karsinom

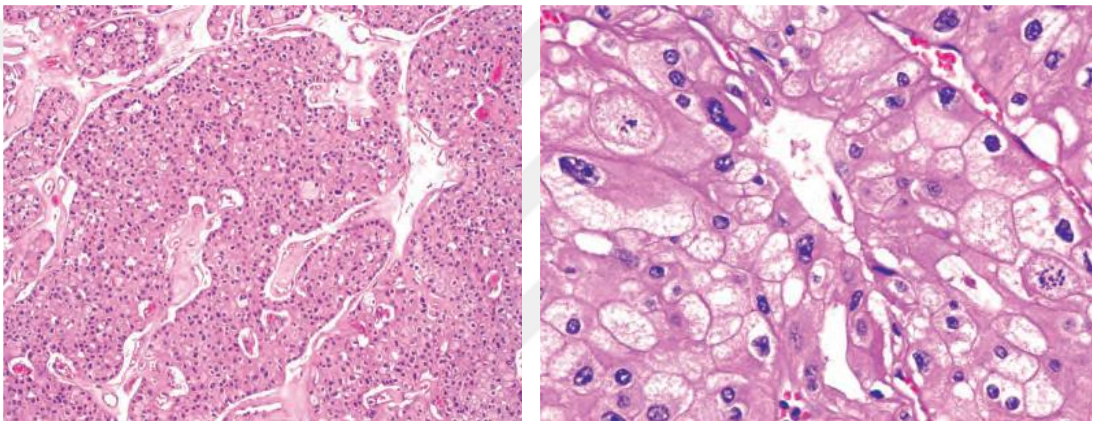
Kromofob renal hücreli karsinomlar (KRHK), RHK'ların %5-7'sini oluşturmaktadır. Sıklıkla sporadik görülmekle birlikte sık olmayarak kalıtsal olarak da görülmektedir. En sık 6. dekatta görülmekte olup kısmen erkek cinsiyet ağırlıklı izlenmekedir[1].

Sıklıkla büyük, ortalama 7 cm çapında, iyi sınırlı kapsülsüz, açık ten-kahverenkli tümörlerdir[85]–[88]. Santral skar bazı olgularda görülebilir. Tümörlerin çoğu böbreğe sınırlıdır [1].

Tümör hücreleri hyalinize vasküler septalar ile ayrılmış solid tabakalar şeklinde düzenlenmiştir[92], [95], [96]. Küçük nestler, tübüler, mikrokistik, trabeküler, nadiren papiller alanlar izlenebilmektedir.

PDF Eraser Free

Klasik kromofob RHK büyük soluk retiküler sitoplazmalı, bitki benzeri belirgin hücre membranlı hücrelerden oluşmaktadır. Kromofob RHK'un eozinofilik varyantında oksifilik granüllü daha küçük hücreler izlenmektedir. Bu iki hücre tipi genellikle mikst tipte görülmekte olup ortada eozinofilik hücreler, periferde soluk hücreler olacak şekilde tabakalar veya yuvalar halinde dizilim göstermektedir. Nükleuslar genellikle düzensiz, buruşuk kaba kromatinli sıklıkla binükleer görünümdedir, perinükleer halo içerir (Resim 6) [1]. Tümörlerin %2-8'inde sarkomatoid değişiklik görülebilmektedir[85]. Onkositom ile kromofob RHK arasında morfoloji sergileyen (hibrit onkositik/ kromofob tümör) küçük bir grup tümör popülasyonu mevcuttur. Bu tümör tipi sıklıkla Birt-Hogg-Dube sendromu ve renal onkositoz ile ilişkilidir[54], [57], [90], [91].



Resim 6. Kromofob renal hücreli karsinom [9]**.**

Kolloidal demir değişken olmakla birlikte genellikle diffüz sitoplazmik boyanma izlenmektedir. Kromofob RHK, immunohistokimyasal olarak CD117, PanCK, EMA, parvalbumin, böbrek spesifik cadherin, CK7 pozitif; vimentin, CK20 ve AMACR negatiftir[1], [9].

Kromofob RHK'larda genetik olarak kromozom Y, 1, 2, 6, 10, 13, 17 ve 21 kayıpları izlenmektedir[1].

Kromofob RHK görece iyi prognozludur. Tümör evresi, sarkomatiod değişiklik, nekroz ve küçük damar invazyonu bağımsız prediktif farktörlerdir[85], [86]. Kromofob RHK sahip olduğu nükleer atipi nedeniyle derecelendirilmemektedir[57].

2. 2. 6. 6. Toplayıcı Kanal Karsinomu

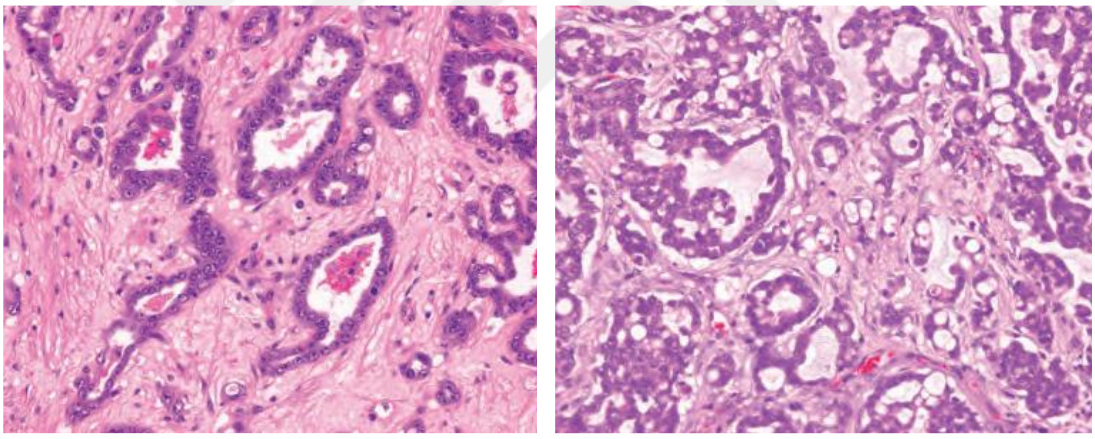
Toplayıcı kanal karsinomu, Bellini renal toplayıcı kanallarında yer alan esas (principal) hücrelerden köken alan malign epitelyal tümördür[1]. Renal tümörlerini %1-2'sini oluşturan nadir neoplazmdır. En sık 43- 63 yaş arasında görülmektedir[1]. Klinik olarak sırt-yan ağrısı, hematuri, yorgunluk ve kilo kaybı

PDF Eraser Free

görülmektedir[92]–[94]. Hastaların %80'inde lenf düğümü tutulumu görülürken akciğer, karaciğer, kemik, adrenal ve beyin metastazı da sıktır[1]. Tümör tipik olarak beyaz ve serttir. Hemoraji ve nekroz alanları içerebilir. Sıklıkla medullada yerleşim göstermektedir. Özellikle subkapsüler alanda satellit nodüller sıktır. Renal sinüs invazyonu sıklıkla görülür [1].

Toplayıcı kanal karsinomu, histolojik olarak desmoplastik stroma içerisinde tübüler, tübülopapiller veya tübülokistik özelliklerde, tipik olarak invaziv duktal patern göstermektedir (Resim 7) [95], [96]. Tümör tek tabakalı epitel ile döşeli düzensiz uzamış, dallanan tübüller içermektedir. Hücreler küboidal, kolumnar ve kabara çivisi görünümünde olabilir. Sitoplazma genellikle soluk, eozinofilik veya berrak, belirgin membranlıdır. İntraselüler veya intraluminal müsin izlenebilir. Nükleuslar büyük, veziküler, belirgin nükeollü ve oldukça pleomorfiktir[1]. Tanı için 6 kriter tanımlanmıştır: Medüller tutulum, tübüler baskın morfoloji, desmoplastik stromal reaksiyon, yüksek sitolojik derece, infiltratif büyüme paterni, diğer RHK ve ürotelyal karsinom subtiplerinin yokluğu [59].

Agresif klinik seyir, tanı anında metastatik sıklıkla olması immunoterapi ve kemoterapiye kötü yanıt nedeniyle kötü prognoz sergilemektedir[92].



Resim 7. Toplayıcı kanal karsinomu [9]

2. 2. 6. 7. Renal Medüller Karsinom

Renal medüller karsinomlar, renal medullada yerleşim gösteren oldukça agresif bir tümördür. Orak hücreli hemoglobulinopatiler ile ilişkildir. Yaklaşık 200 olgu tanımlanmış olup siyahi ve genç hastalar olguların çoğunluğunu oluşturmaktadır[1].

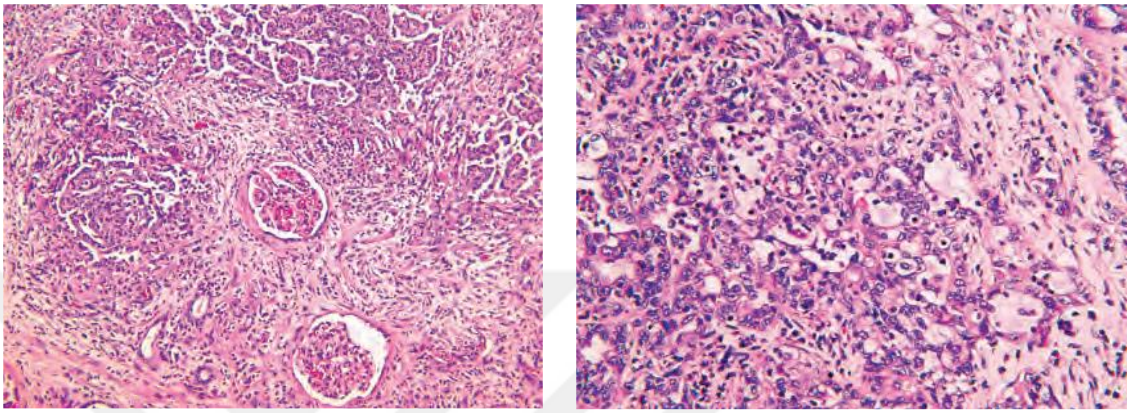
Makroskopik olarak ortalama 7 cm çapta kötü sınırlı kesit yüzü nekrozlu gri-beyaz sklerotik görünümde izlenmektedir [97].

Renal medüller karsinomlarda, tübül, bez ve tübülopapiller yapılardan oluşan, nekroz, desmoplazi ve inflamasyon ile ilişkili yüksek dereceli infiltratif

PDF Eraser Free

adenokarsinom morfolojisi izlenmekte olup toplayıcı kanal karsinomu ile örtüşen özellikler içermektedir. İntrasitoplazmik müsin üretimi sık görülür (Resim 8). Adenoid kistik, retiküler ve mikrokistik görünüm tümörün belirgin özelliğidir [1]. SMARCB 1 kaybı ve OCT3/4 ekspresyonu tanı için yardımcıdır[98], [99].

Olguların çoğu tanı anında metastatik olup sağkalım aylar ile sınırlıdır [100].



Resim 8. Renal medüller karsinom [9]

2. 2. 6. 8. MiT Ailesi Translokasyon ilişkili Renal Hücreli Karsinom

MiT ailesi translokasyon ilişkili RHK, translokasyon faktörü olan TFE3 ve TFEB gen füzyonları ile karakterize tümörlerdir. TFE3 geni Xp11 translokasyonu ileTFEB geni ise t (6;11) translokasyonu ile ilişkilidir[1].

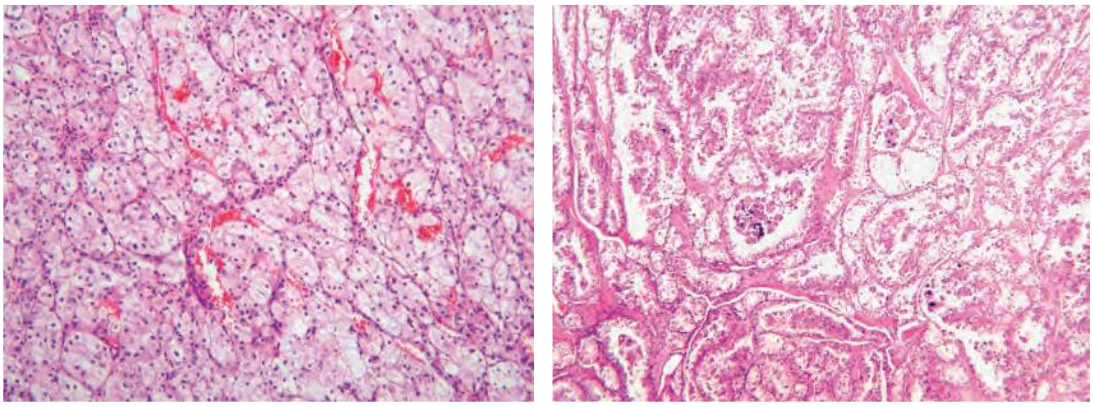
Pediatrik RHK'ların %40'ı, yetişkin RHK'larının ise %1.6-4'ü Xp11 translokasyonu ile ilişkilidir [101].

Çok sayıda psammom cismi ve epiteloid berrak hücrelerden oluşan papiller yapı Xp11 translokasyon RHK'ların ayırt edici özellikleridir[102], [103]. t (6;11) RHK'ların en belirgin özelliği ise iri epiteloid hücrelerden oluşan yuvalar ve bazal membranda kümelenmiş küçük hücrelerin oluşturduğu bifazik paterndir (Resim 9) [104]–[106].

t (6;11) RHK'lar, hemen her zamanMelan A, HMB45 ve sistin proteaz katepsin K gibi melanom belirteçlerini eksprese ederken Xp11 translokasyon RHK'ların bazılarında melanom belirteçlerin ekspresyonu izlenir. Xp11 translokasyon RHK'larda TFE3[107], t (6;11) RHK'larda ise TFEB[105] ile immunreaksiyon izlenmektedir.

Xp11 translokasyon RHK'lar, BHRHK'lar ile benzer sağkalım göstermektedir. t (6;11) RHK olguları ise Xp11 translokasyon RHK'lardan daha az agresif seyir göstermektedir[1].

PDF Eraser Free



Resim 9. Mit ailesi translokasyon ilişkili renal hücreli karsinom [9]

2. 2. 6. 9. Süksinat Dehidrojenaz Eksikliği ilişkili Renal Hücreli Karsinom

Süksinat dehidrogenaz ilişkili RHK, SDH genlerinde (SDHA, SDHB, SDHC, SDHD ve SDHAF2) germline mutasyonlar ile karakterize daha çok genç yaşlarda izlenen nadir bir renal karsinomdur[1], [9].

Renal parankimden köken alır, nadiren renal yağdoku, renal ven ve renal sinüs invazyonu izlenmektedir. Genellikle iyi sınırlı ten, kırmızı, kahverenkli, genellikle solid, nadir olmayarak kistik görünümdedir [108], [109].

Sitoplazmik vakuoller veya tiftikli eozinofilik soluk materyalin bulunması tümörün en belirgin özelliğidir. Tümör içerisinde arada kalmış benign tübüller görülebilir. Yüksek dereceli alanlar ve sarkomatoid değişiklikler izlenebilir[109]. İmmunohistokimyasal olarak SDHB boyamada kayıp izlenmesi tanı için gereklidir[110].

Olguların %75'i düşük dereceli, nekroz içermeyen, iyi prognozlu tümörlerdir[108], [109]. Sarkomatoid değişiklik, yüksek nükleer derece veya nekroz varlığı kötü prognozile ilişkilidir [109].

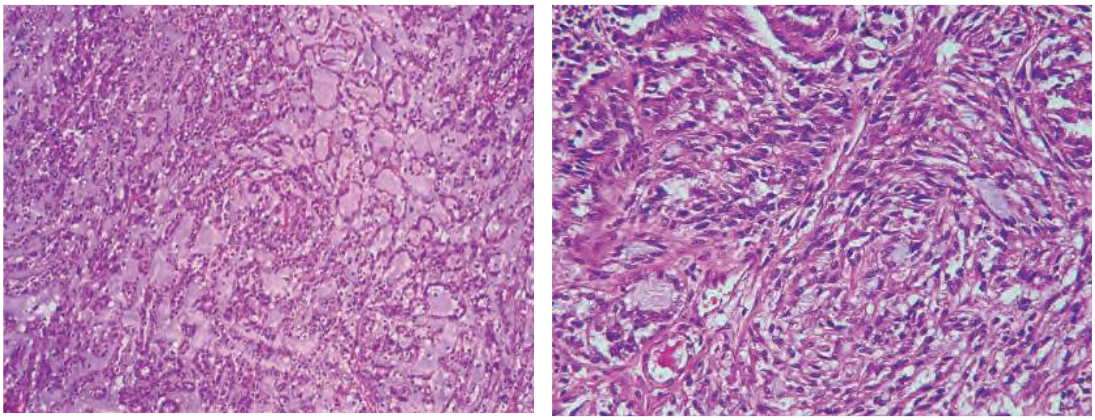
2. 2. 6. 10. Müsinöz Tübüler ve İğsi Hücreli Karsinom

Renal neoplazmların %1'inden azını oluşturur. Miksoid stroma içerisinde atipi içermeyen iğsi hücrelerden oluşan tübül yapıları ile karakterize renal neoplazmdır. [1] (Resim 10).

Tümör nükleusları genellike düşük dereceli[111], [112] olmakla birlikte yüksek dereceli ve sarkomatoid değişiklikler de tanımlanmıştır[113], [114].

Klasik histoloji sergileyen tümörler genellikle düşük patolojik evrelidir. İzole olgularda izlenen yüksek nükleer derece ve sarkomatoid değişiklik ölümcül, kötü prognoz ile ilişkilidir[115]–[117].

PDF Eraser Free



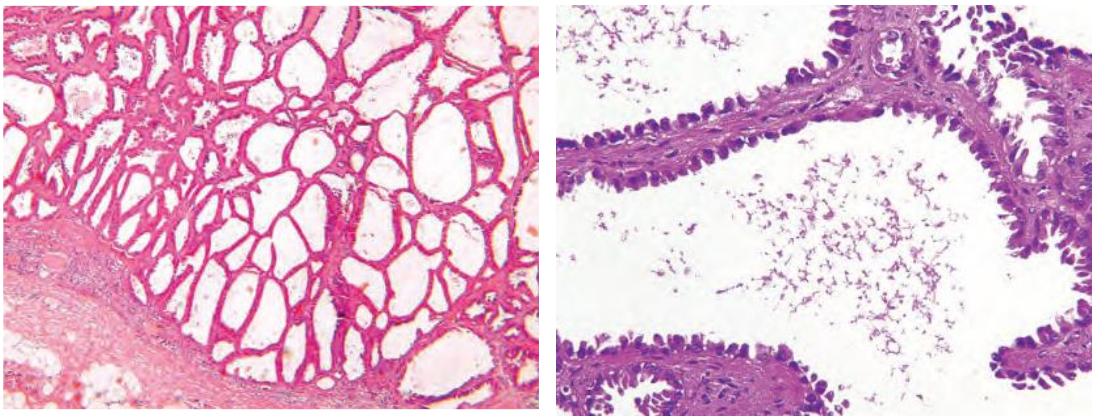
Resim 10. Müsinöz tübüler ve iğsi hücreli karsinom [9]

2. 2. 6. 11. Tübülokistik Renal Hücreli Karsinom

Tübülokistik RHK, Nadir görülen kistik renal epitelyal malignitedir[118]. Tümör 0, 7-17 cm arasında değişen iyi sınırlı, multikistik görünümde kitle şeklinde prezente olur [119], [120].

Tümör küçük-orta boyutta tübüller, tek sıralı yassı, küboidal/kolumnar vekabara kabara çivisi görünümde bol eozinofilik sitoplazmalı hücreler ile döşelibüyük kistlerden oluşmaktadır. Nükleuslar iri, düzensiz orta-büyük boyutta nükleollüdür (DSÖ/UÜPD, Derece 3) (Resim 11). Stroma fibrotik görünümdedir. Kötü diferansiye veya sarkomatoid alanlar içerir [119], [121].

Tübülokistik RHK'ların çoğunluğu iyi gidişatlı olmakla birlikte birkaçolguda metastaz bildirilmiştir [1].



Resim 11. Tübülokistik karsinom[9]

2. 2. 6. 12. Edinsel Kistik Hastalık ilişkili Renal Hücreli Karsinom

Edinsel kistik hastalık ilişkili RHK, daha çok son dönem böbrek hastalığı ve kazanılmış kistik böbrek hastalığı, özellikle uzun dönem diyaliz hastası, olan bireylerde izlenen en sık böbrek tümörüdür [60], [122], [123].

PDF Eraser Free

%50'den fazla olguda multifokal, %20'den fazla olguda ise bilateral izlenmektedir[59], [60]. Aynı tümör içerisinde asiner, alveolar, tübüler, multikistik, papiller ve solid patern gibi farklı paternler izlenebilmektedir [59], [60], [124]. İntra ve inter stoplazmik lümen veya boşlukların oluşturduğu mikrokistik, kribriform ve elek benzeri yapılar görülmektedir. Tümör hücreleri geniş eozinofilik sitoplazmalı ve belirgin nükeollüdür. Stromada kalsiyum okzalat kristalleri izlenebilir [59], [60], [124], [125].

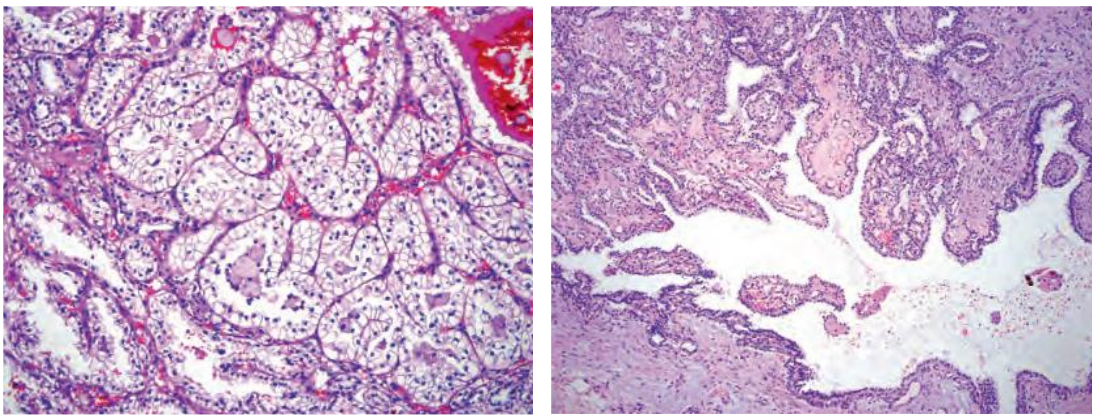
Peryodik takipler nedeniyle erken tanı alan tümörlerdir. Bu nedenle iyi seyirlidir. Sarkomatoid veya rabdoid özellikteki tümörlerde metastaz görülebilmektedir[59], [60], [126].

2. 2. 6. 13. Berrak Hücreli Papiller Renal Hücreli Karsinom

Berrak hücreli papiller RHK (BHPRHK), sakin görünümlü berrak epitelyal hücrelerden oluşan tübül ve papiller yapılarla düzenlenmiş iyi seyirli renal neoplazmdır[60], [127].

BHPRHK'da tübüler, papiller, asiner, kistik, kurdele benzeri ve solid paternler değişken oranlarda izlenebilmektedir. Tümör hücreleri küboidal-alçak kolumnar, yuvarlak, uniform, bazal membrandan uzakta yerleşmiş nükleuslu, belirsiz nükleollüdür[128], [129]. Tümörlerin çoğu DSÖ/UÜPD nükleer derece 1 veya 2'dir[130]. Değişen miktarda fibröz stroma ve/veya düz kastan oluşan stroma izlenebilmektedir. Tümör nekrozu, perinöral invazyon ve lenfovasküler invazyon görülmez. Tümör hücreleri CK7 ile diffüz, CA-IX ile kupa şeklinde boyanma gösterirler [1].

Bildirilen mevcut olgularda lokal rekürrens ve metastaz izlenmemiştir [59], [131].



Resim 12. Berrak hücreli papiller renal hücreli karsinom [9]

PDF Eraser Free

2. 2. 6. 14. Renal Hücreli Karsinon, Sınıflandırılamayan

Sınıflandırlamayan RHK, iyi tanımlanmış renal hücreli karsinom subtiplerinin herhangi birine uymayan tümörler için tanısal bir kategoridir. RHK'ların %0,7-5, 7'sini oluşturur [1]. Bu kategoriye, bilinen subtiplerin komposit halleri, tanımlanmamış hücre tipi içeren tümörler, musin üreten tümörler, tamamıyla sarkomatoid karakterde tümörler ve düşük veya yüksek dereceli sınıflandırılamamış onkositik neoplazmlar dahil edilmektedir. Vasküler lenfatik invazyon ve nekroz sıktır [132]. Tanı öncesinde invaziv ürotelyal karsinom ve metastatik karsinom dışlanmalıdır. Renal orijin immunohistokimyasal olarakPAX8, PAX2, RCC ve CD10 gibi immunbelirteçler ile desteklenmelidir [43].

Veri azlığına rağmen prognoz sıklıkla nükleerderece ve evre ile ilişkilidir [1].

2. 3.ANAPLASTİK LENFOMA KİNAZ (ALK)

2. 3.1. Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK) Proteini

ALK proteini, 1620 aminoasitten oluşan 2. kromozomun 2p23 bölgesinden kodlanan bir membran ilişkili tirozin kinazdır[8]. 2p23'te yer alan ALK geninin 3' ile5q35'te lokalize NPM1 geninin 5' kısmının füzyonun sonucu meydana gelen füzyon onkogeninin fark edilmesi ile ALK geninde meydana gelen ilk kromozomal rearanjman1994 yılında anaplastik büyük hücreli lenfomada saptanmıştır[133]. ALK geni ile değişik genler arasında füzyon yanı sıra ALK geninde nokta mutasyonlar da görülmektedir [134], [135]. Anaplastik lenfoma, diffüz büyük B hücreli lenfoma, inflamatuar myofibroblastik tümör, epiteloid inflamatuar myofibroblastik sarkom, küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, meme karsinomu, kolon karsinomu, seröz ovaryan karsinom, skuamöz özefageal karsinom, nöroblastom ve anaplastik tiroid karsinomunda ALK mutasyonu izlenmektedir[134]–[136].

ALK rearanjmanından kaynaklanan çeşitli füzyon/kimerik proteinlerin ekspresyon modeli, primer olarak spesifik füzyon partnerleri tarafından yönlendirilir ve bu da değişken onkojenik potansiyele sahip protein ürünleri ile sonuçlanır[135]. ALK immunohistokimyası, füzyon tipine göre sitoplazmik, sitoplazmik/nükleer, perinükleer/sitoplazmik veya nükleer membran boyanması gösterebilmektedir [134]–[136].

2. 3.2. ALKGeni Fonksiyonu

Tek ALK lokusü fare ve insanlarda klasik reseptör tirozin kinazı (RTK) kodlar. RTK ekstraselüler ligand bağlanma bölgesi, transmembran bölgesi ve intraselüler tirozin kinaz bölgelerinden oluşur[135].

ALK'ın memelilerde kesin fizyolojik rolü bilinmemektedir. Genel olarak tavuk, fare ve insanlarda ALK ekspresyon paternlerine bakıldığında sinir sistemi

PDF Eraser Free

gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir[135]. Doğumdan sonra ALK mRNA ve proteinleri tüm dokuda yok olmaktadır [137]. Tek gen ve çift gen inaktive farelerde yaşam fonksiyonlarının devam ettiğini gösteren çalışmalar vardır. Bu durumun ALK inhibitörlerinin klinik açıdan tolere edilebilir olduğunu gösterebileceği düşünülmektedir[135].

PDF Eraser Free

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. OLGU GRUBUNUN TANIMLANMASI

Çalışmaya T. C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Patoloji Kliniğinde 2010-2020 yılları arasında yapılan 276 adet "renal hücreli karsinom" tanısı almış nefrektomi materyali dahil edilmiştir. Olgulara ait klinik bilgilere erişimde Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (Alp Data-Bilfo®) ve Çözüm®) hastane bilgi yönetim sistemleri kullanılmıştır.

3. 2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

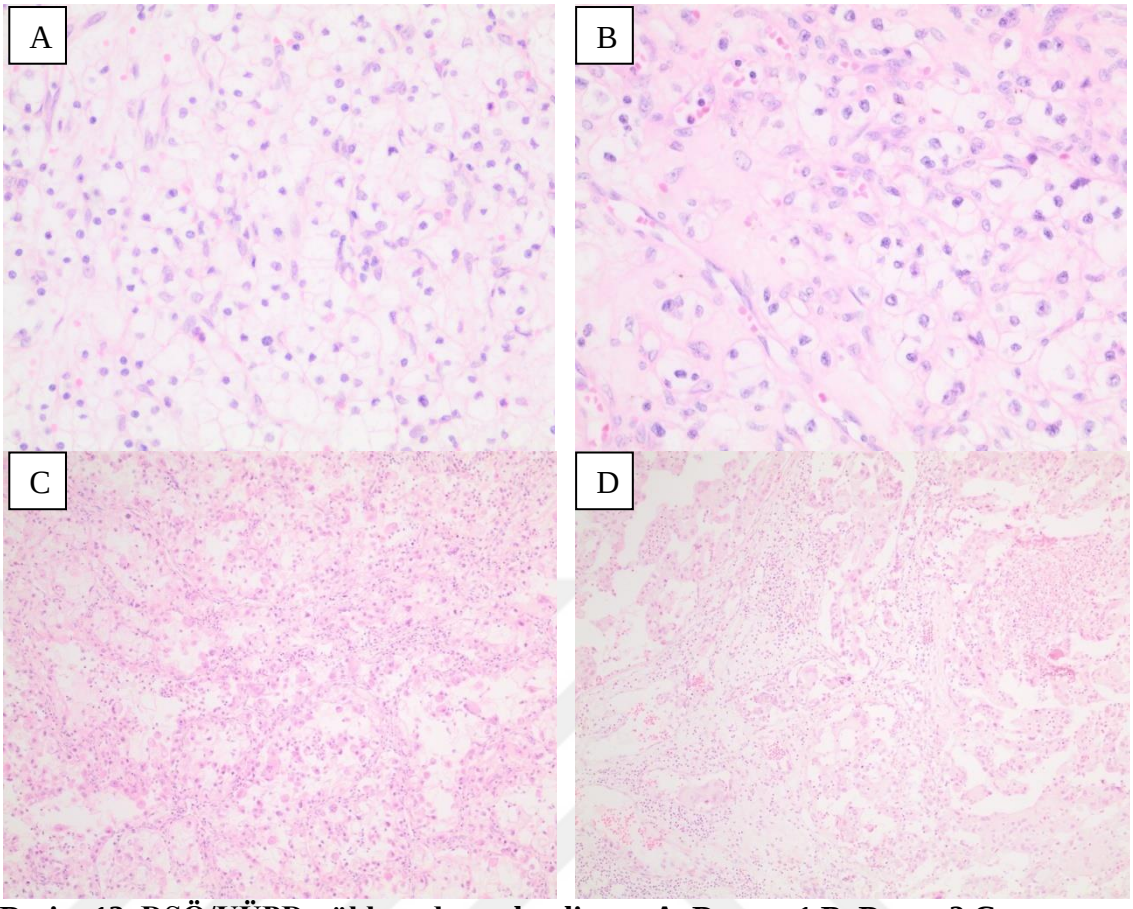
%10'luk tamponlu formalin solüsyonu ile fiksasyonu sonrası standart örnekleme ve rutin takip protokolleri ile hazırlanmış Hematoksilen&Eozin (H&E) boyalı arşiv preparatları ışık mikroskobu ile yeniden incelenmiştir. İnceleme biri uzman, biri asistaniki gözlemci tarafından yapılmış olup inceleme yapılırken *Olympus CX31®* ve *Nicon Eclipse®* olmak üzere iki ışık mikroskopu kullanılmıştır.

Olgular, tümör subtipi ve DSÖ/UÜPD nükleer derecesi, 2016 DSÖ Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırmasına [1] uygun olarak yeniden düzenlendi(Resim 13). Olgular nekroz, lenfovasküler invazyon, perirenal yağ doku invazyonu varlığı, rabdoid/sarkomatöz transformasyon açısından yenidendeğerlendirilmiştir (Tablo 4, Resim 14,15,16).

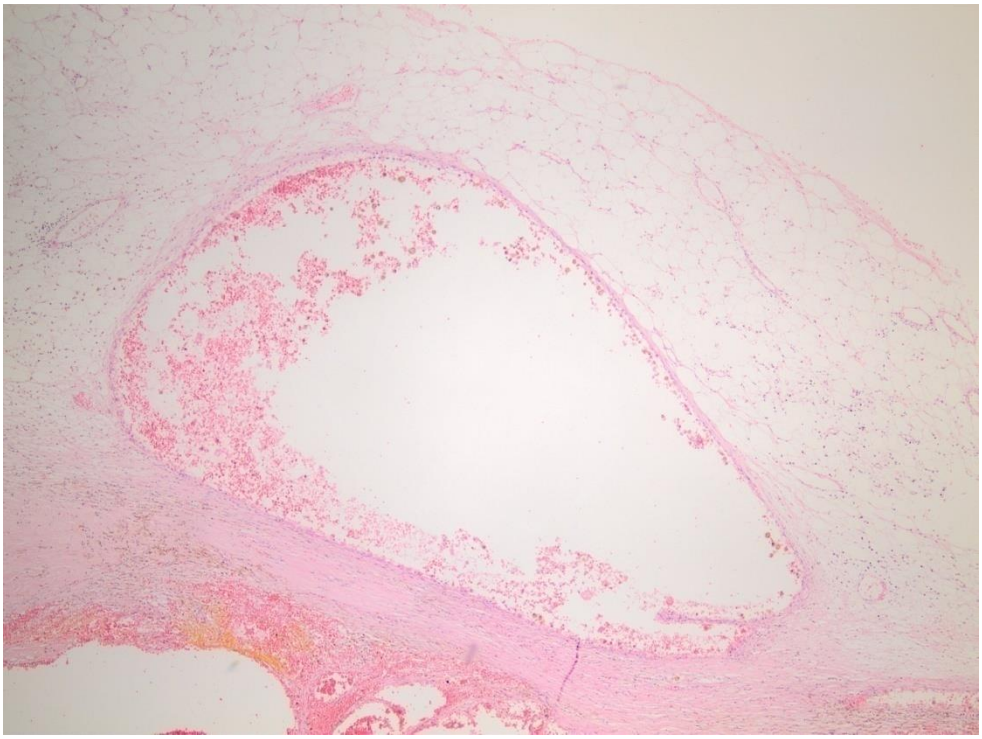
Tablo 4. Değerlendirilen Histopatolojik Özellikler

Tümör Çapı:	..... cm
Tümör subtipi:	
Nükleer Derecesi (DSÖ/UÜPD) :	1/2/3/4
Nekroz Varlığı:	Var/Yok
Perirenal Yağ Doku Tutulumu:	Var/Yok
Lenfovasküler İnvazyon Varlığı:	Var/Yok

PDF Eraser Free

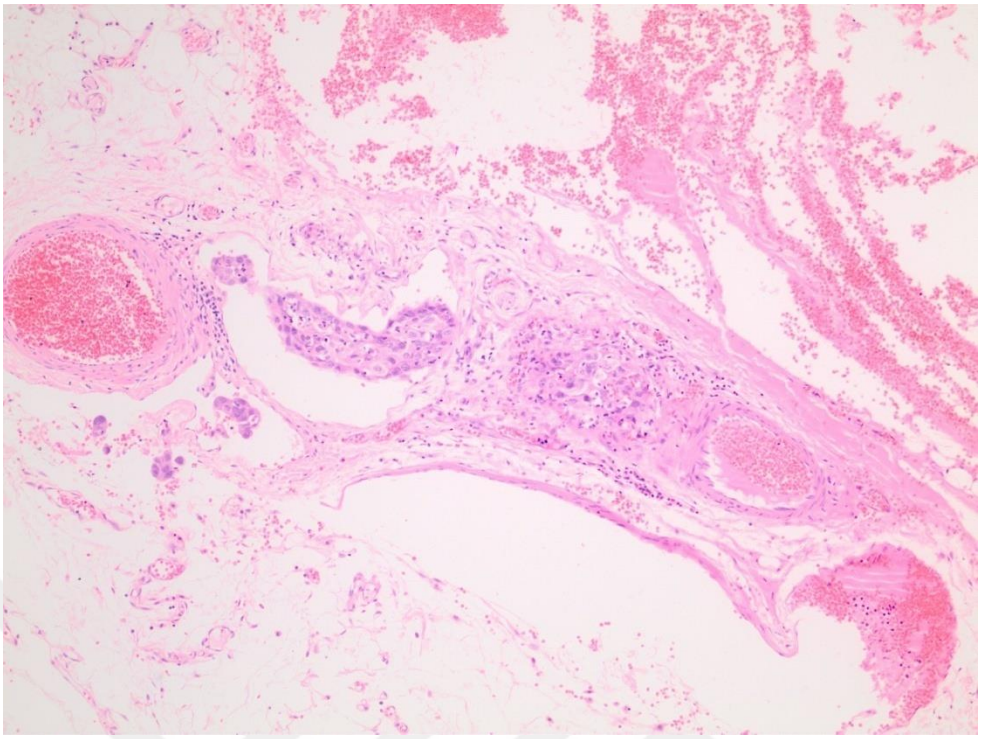


Resim 13. DSÖ/UÜPD nükleer derecelendirme. A. Derece-1 B. Derce-2 C. Derece-3 D. Derece-4

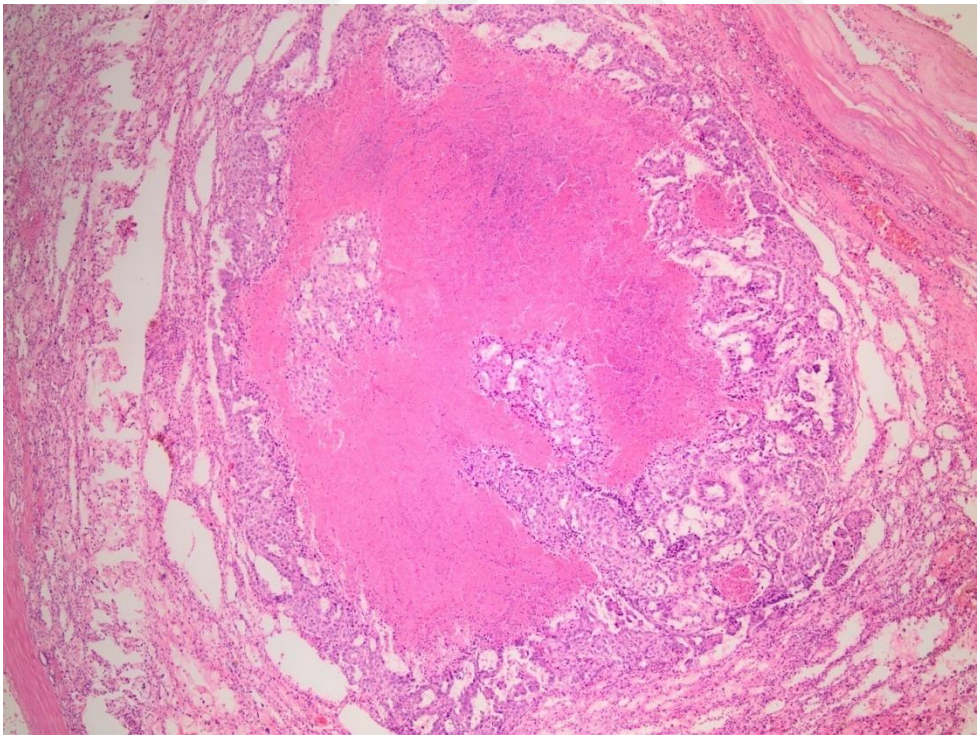


Resim 14. Perirenal yağ doku invazyonu

PDF Eraser Free



Resim 15. Lenfovasküler invazyon



Resim 16. Tümör nekrozu

3. 3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Her olgu için kanama ve nekroz alanların az olduğu tümör doğasını en iyi yansıtan, farklı tümör paternlerinin de izlendiği blok seçilerek alınan 4 mikrometre

PDF Eraser Free

kalınlıktaki kesitlere ALK1 (FLEX Monoclonak Mouse Anti-Human CD246, ALK Protein, Clone ALK1, Ready to Use, DAKO) immunohistokimyası uygulandı(Tablo 5).

Alınan kesitler 60 derecede 60 dakika etüvde deparafinize edildikten sonra immünohistokimyasal boyama ALK1FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD246, ALK Protein, Clone ALK1, Ready to Use, DAKO) ile Ventana Benchmark XT cihazında otomatize olarak yapılmıştır.

Tablo 5. Kullanılan immunohistokimya antikoru

	ALK
Antikor özellikleri	*FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Anaplastic Lymphoma Kinase Clone ALK1 Ready-to-Use(Link) DAKO Denmark Code IR641*

3. 4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

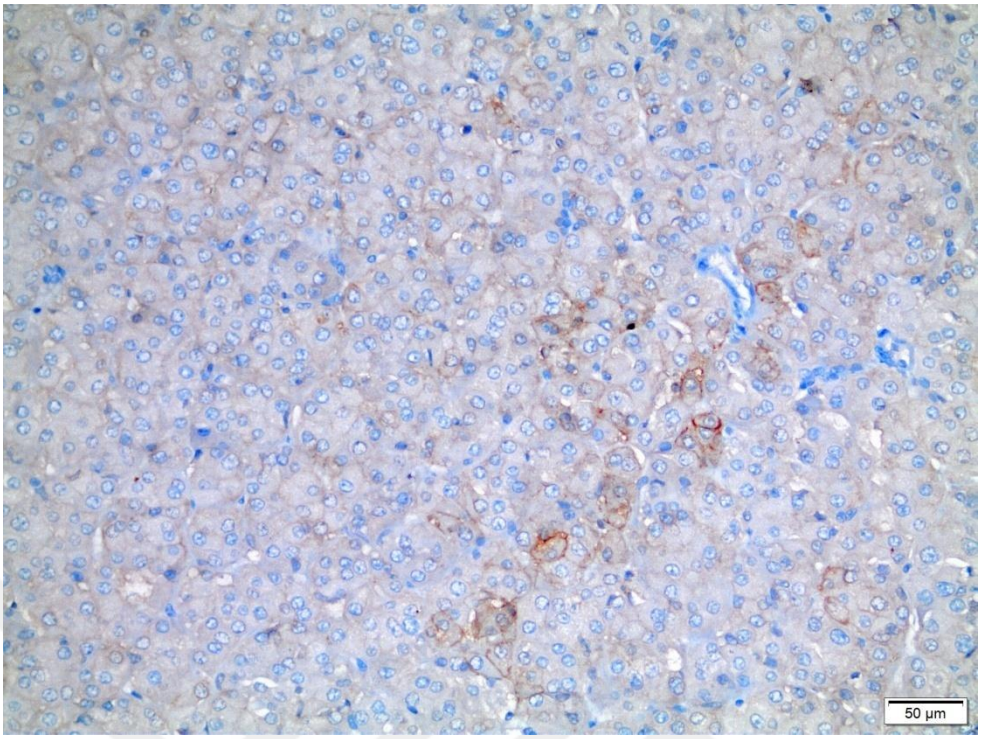
İnceleme biri uzman biri asistan, iki gözlemci tarafından yapılmış olup inceleme yapılırken Olympus CX31 ve Nicon Eclipse olmak üzere iki ışık mikroskopu kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal değerlendirme seçilen bloğun tamamında yapılmıştır. ALK ile boyanma görülen olgularda boyanma şekli (sitoplazmik, membranöz, perinükleer boyanma) kaydedilmiştir (Tablo 6, Resim 17, 18, 19). Pozitif kontrol olarak inflamatuar myofibroblastik tümör kullanılmıştır.

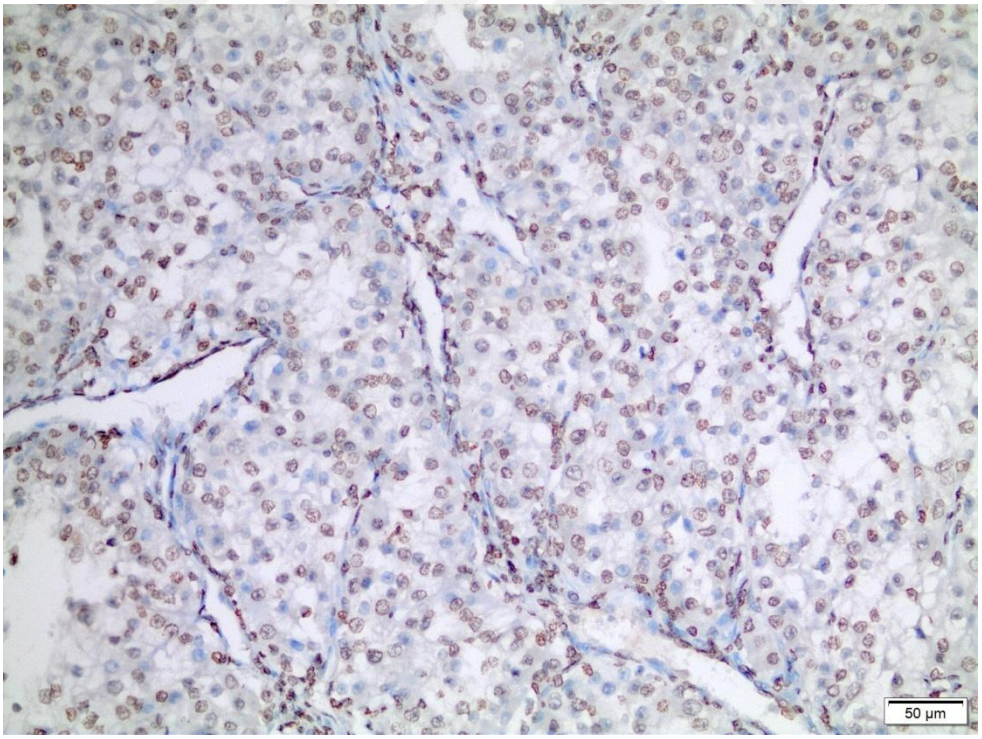
Tablo 6. ALK boyanma paternleri

ALK	**Negatif**	**Pozitif**
Hiç boyanma yok	x	
Perinükleer		x
Membranöz		x
Sitoplazmik		x

PDF Eraser Free

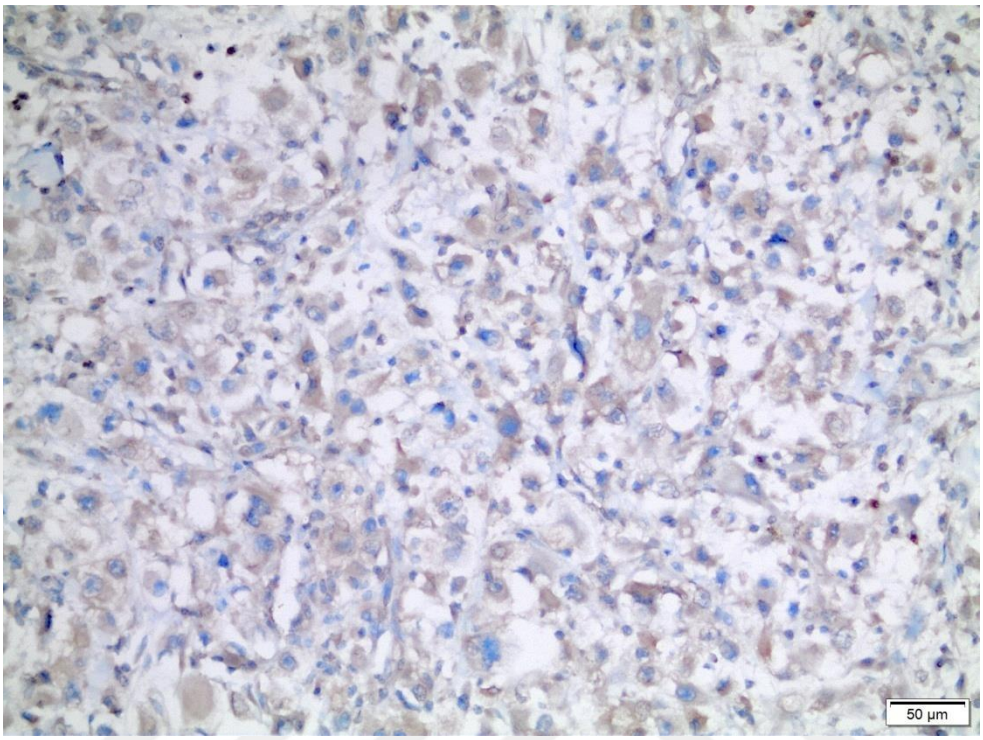


Resim 17. Membranöz ALK boyanması



Resim 18. Perinükleer ALK boyanması

PDF Eraser Free

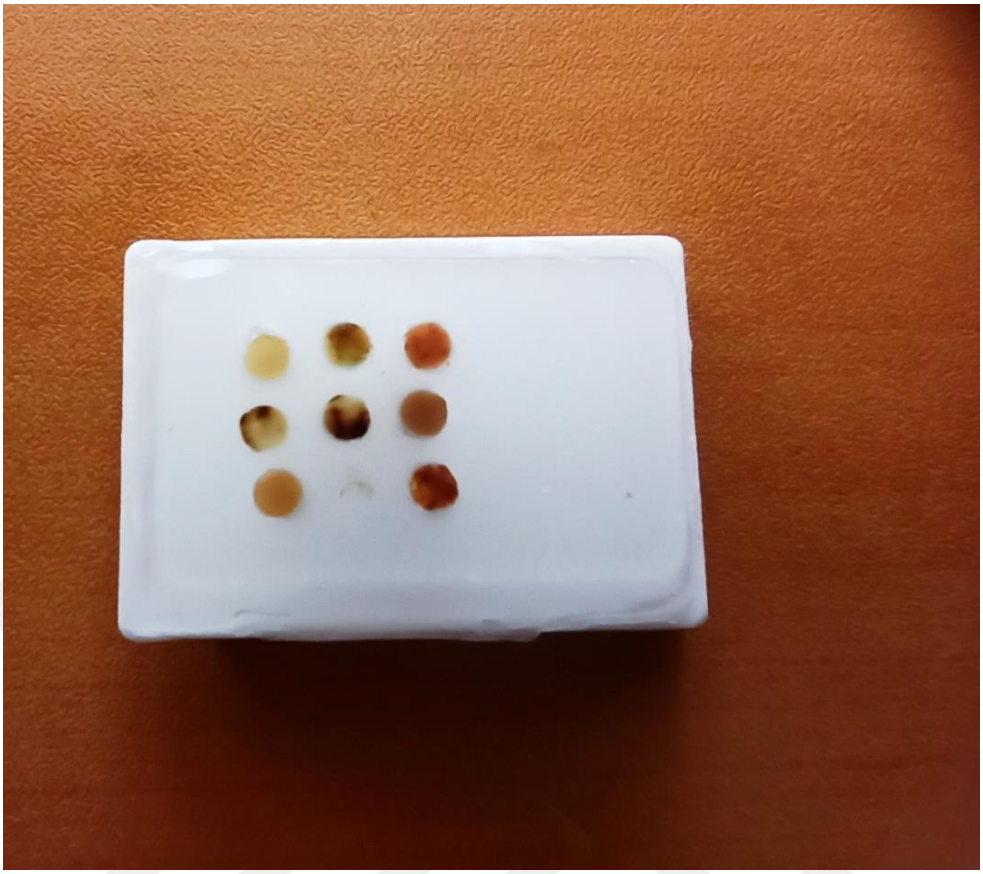


Resim 19. Sitoplazmik ALK boyanması

3. 5. DOKU MİKRODİZİLERİNİN OLUŞTURULMASI

İmmunohistokimyasal olarak ALK ile boyanma gösteren sekiz olgu ve bir kontrol dokusundan tümörü temsil eden parafin bloklar seçilmiş ve kesitleriyle karşılaştırıldıktan sonra bunlar üzerinde uygun alanlar işaretlenmiştir. İşaretli olan alanlardan 4 mm'lik deri punch biyopsi setleri kullanılarak tümör örnekleri elde edilmiş ve bunlarla manuel olarak doku mikrodizi ("tissue microarray", TMA) blokları hazırlanmıştır (Resim- 20).

PDF Eraser Free



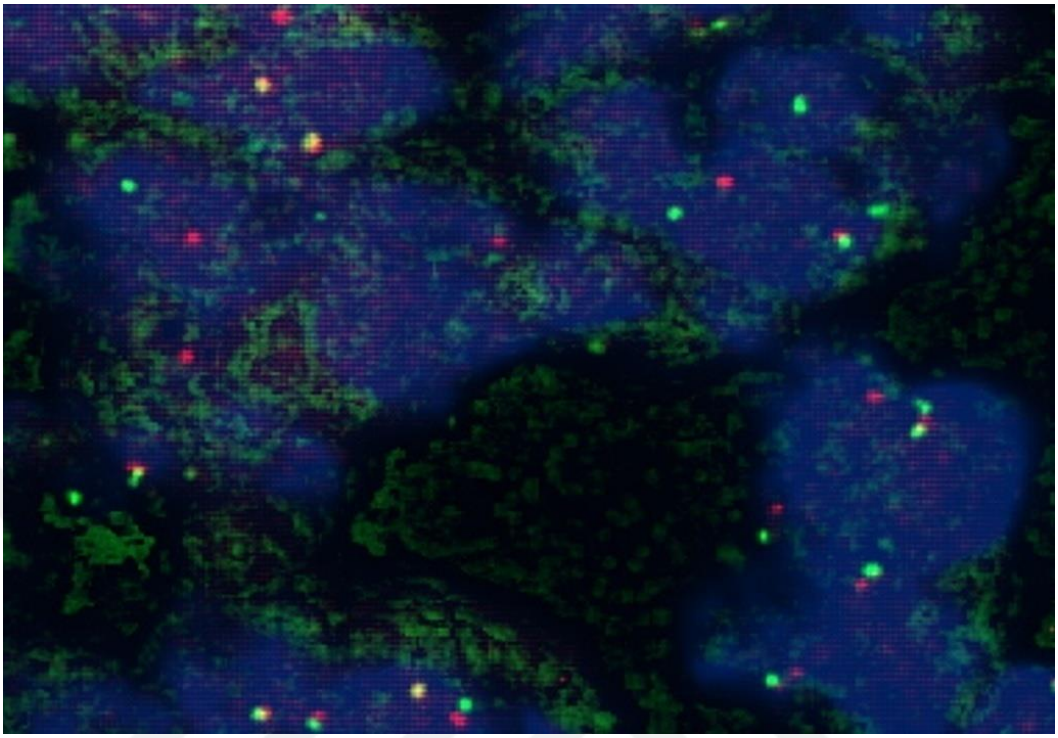
Resim 20. Hazırlanan TMA bloğu (Kesit sonrası)

3. 6. FLORESAN IN SİTU HİBRİDİZASYON (FISH)

FISH analizi için yukarıda tariflendiği gibi oluşturulan TMA bloklarından elde edilen 4 mikrometre kalınlıkta kesitler kullanılmıştır. Kesitler etüvde 75° C'de 2 saat bekletildikten sonra deparafinizasyon için ksilolde 2x15dk, alkolde 2x5 dk tutulmuştur. Preparat 20 dakika süreyle 37° C'de pepsin solüsyonunda tutulmuş, takiben 2x5 dk süreyle PBS (fosfat tampon solüsyonu) ile yıkanıp havada kurutulmuştur. Tamponlu formalinde 10 dakika fikse edildikten sonra tekrar 2x5 dk süreyle PBS (fosfat tampon solüsyonu) ile yıkanıp havada kurutulmuştur. Sonra uygun prob damlatılarak üzeri lamel ve "rubber cement" isimli yapıştırıcıyla kapatılmıştır. Bu aşamada a CytoCell® ALK Breakapart probe (Cambridge, UK) kullanılmıştır. Preparat Thermo Brite cihazında 84°C'de 13 dk, ardından 38°C'de 18 saat süreli programda bekletilmiştir. Program sonunda rubber cement ve lamel kaldırılmış, preparat 72°C 2 dakika süreyle SSC (Saline Sodium Chloride) +%0, 3 NP40 (Non-idet P40) solüsyonunda yıkanmıştır. Preparat kuruduktan sonra DAPI (diamidino-2-fenilindol) damlatılmış, lamelle kapatıldıktan sonra değerlendirmeye kadar geçen sürede +4°C'de karanlık ortamda saklanmıştır.

PDF Eraser Free

Değerlendirmede belirgin ayrılma (break apart) gösteren sinyaller pozitif kabul edilmiş olup eşik değer olarak %15 kullanılmıştır (Resim 21) [4].



Resim 21. ALK geninde ayrılma (break apart)

3. 7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi Jamovi 2 (The jamovi project (2021). *jamovi* (Version 2. 0) https://www. jamovi. org) paket programında yapılmıştır. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testiyle varyansların homojenliği varsayımının sağlanıp sağlanmadığı ise Levene testiyle değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli sayısal değişkenler için ortalama ± standart sapma veya medyan (minimum - maksimum) biçiminde gösterilirken kategorik değişkenler olgu sayısı ve (%) olarak ifade edildi. Gruplar arasında parametrik test istatistiği varsayımlarının sağlandığı sürekli sayısal değişkenler yönünden farkın önemliliği bağımsız grup sayısı iki olduğunda Student's t testi ile ikiden fazla bağımsız grup arasındaki farkın önemliliği ise tek yönlü varyans analizi ile incelendi. Kategorik değişkenler Süreklilik düzeltmeli Ki-Kare ya da Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında sıralanabilir değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı ise Mann Whitney U testiyle incelendi. Hasta sağ kalım analizleri için Kaplan-Meier Analizi ve Cox Regresyon Analizi kullanılmıştır. $p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

PDF Eraser Free

3. 8. ETİK KURUL ONAYI

Çalışma, 31. 08. 2020 tarihinde T. C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı'nca uygun görünmüştür (Bkz. EK 1).

Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 19. 10. 2020tarihinde yapılan toplantısında ETİK KURUL: 1555 sayılı raporu ile çalışma için onay alınmıştır (Bkz. EK 2).

Bu tez çalışması Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma HastanesiBilimsel Çalışmaları Destekleme Kurulu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. (KARAR NO:79/01) (Bkz. EK 3).

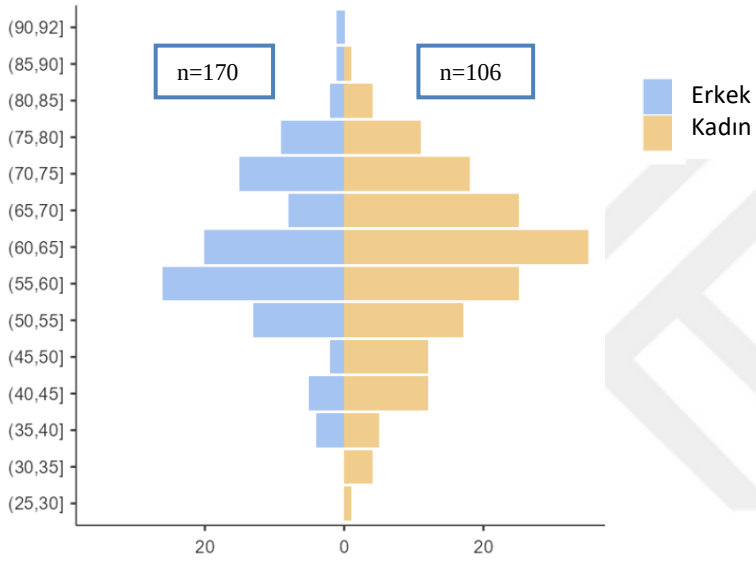
PDF Eraser Free

4. BULGULAR

4. 1. KLİNİK ve MORFOLOJİK BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 276 olgunun 170'i (%62) erkek, 106'sı (%38) kadındır (E:K=1,6:1). Erkeklerin yaş ortalaması 60.7 (29-87 yaş), kadınların yaş ortalaması 62.4 (37-92 yaş)'tür (Grafik1 ve Tablo 7).

Grafik 1. Yaş dağılımı



Popülasyon	Kadın	Erkek
(90, 92]	1	.
;, 90]	1	1
), 85]	2	4
(75, 80]	9	11
(70, 75]	15	18
(65, 70]	8	25
(60, 65]	20	35
(55, 60]	26	25
(50, 55]	13	17
(45, 50]	2	12
(40, 45]	5	12
(35, 40]	4	5
(30, 35]	.	4
(25, 30]	.	1

Tablo 7. Yaş ve cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı	Ortalama Yaş	Minimum	Maksimum
Erkek	170 (%62)	60. 7	29	87
Kadın	106 (%38)	62. 4	37	92

Olguların 195'iBHRHK, 21'i KRHK, 1'i PBHRHK, 34'ü PRHK-1, 9' u PRHK-2, 3'ü OPRHK ve 12'si sınıflandırılamayan RHK'dan oluşmaktadır (Tablo 8). Tümör subtiplerine göre yaş dağılımı Tablo 9 ve Grafik 2'de yer almaktadır.

PDF Eraser Free

Tablo 8. Tümör subtiplerinin dağılımı

Tümör Subtipi	Sayı	%
BHRHK	195	70. 7 %
KRHK	21	7. 6 %
PBHRHK	1	0. 4 %
PRHK-1	34	12. 3 %
PRHK-2	9	3. 3 %
OPRHK	3	1. 1 %
Sınıflandırılamayan RHK	12	4. 7 %

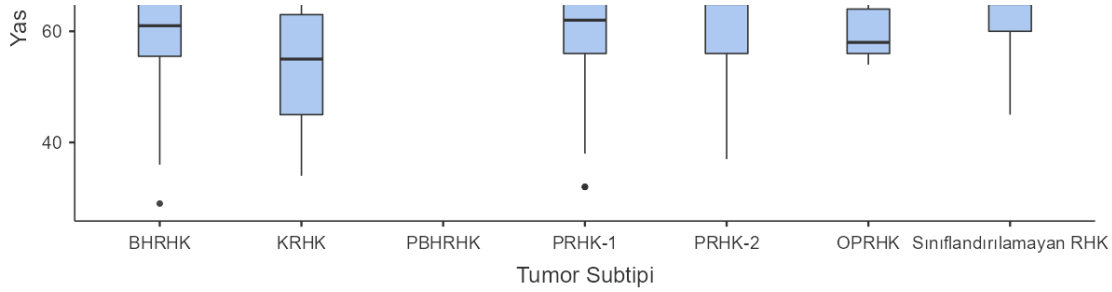
BHRHK:Berrak hücreli RHK, KRHK:Kromofob RHK, PBHRHK:Papiller Berrak hücreli RHK, PRHK-1:Papiller RHK tip-1, PRHK-2: Papiller RHK tip-2, OPRHK: Onkositik Papiller RHK

Tablo 9. Tümör subtiplerininde yaş dağılımı

Tumor Subtipi	Sayı	Ortalama	Minimum	Maksimum
BHRHK	195	62. 0	29	92
KRHK	21	54. 3	34	76
PBHRHK	1	67. 0	67	67
PRHK-1	34	60. 2	32	82
PRHK-2	9	63. 3	37	81
OPRHK	3	60. 7	54	70
Sınıflandırılamayan RHK	13	64. 1	45	79

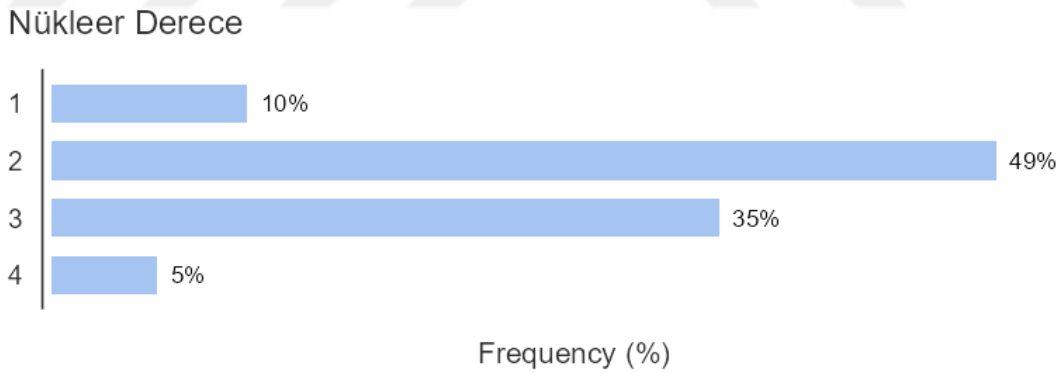
PDF Eraser Free

Grafik 2. Tümör alttiplerine göre yaş dağılım grafiği



DSÖ/UÜPD derecelendirme sistemine göreolguların %10'u derece 1, %49'u derece 2, %35'i derece 3 ve %5'i derece 4'tür (Grafik 3). Tümör subtiplerine göre nükleer derece dağılımı Tablo10'da yer almaktadır.

Grafik 3. Nükleer derece dağılımı



PDF Eraser Free

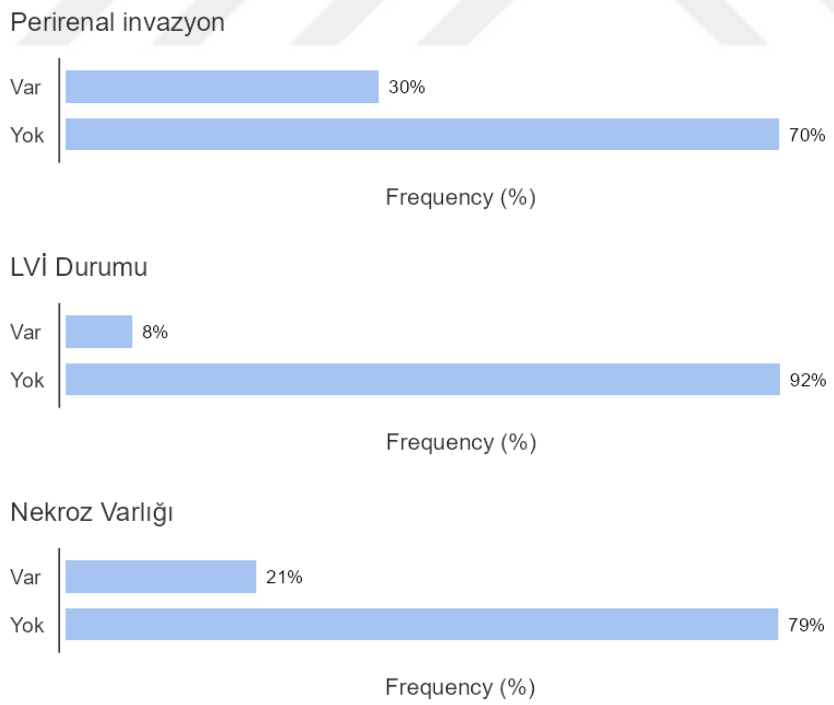
Tablo 10. Tümör subtiplerinin nükleer dereceye göre dağılımı

	Nükleer Derece			
Tümor Subtipi	**1**	**2**	**3**	**4**
BHRHK	24	98	61	12
KRHK	-	-	-	-
PBHRHK	0	1	0	0
PRHK-1	1	22	11	0
PRHK-2	0	1	8	0
OPRHK	0	1	2	0
Sınıflandırılamayan RHK	1	3	7	2

Toplam261268914

Olguların %30unda perirenal invazyon, %8'inde lenfovasküler invazyon mevcuttur. Olguların %21'inde tümör nekrozu izlenmiştir (Grafik 4).

Grafik 4. Perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı



PDF Eraser Free

Olgulardan sağ olan 218 kişinin 127'si erkek, 91 kadın; ölen 58 kişinin 43'ü erkek, 15'i kadındır (Tablo 11). Sağkalım durumunun tümör subtiplerine göre dağılımı Tablo 12 ve Grafik 5'te yer almaktadır.

Tablo 11. Sağkalımın cinsiyete göre dağılımı

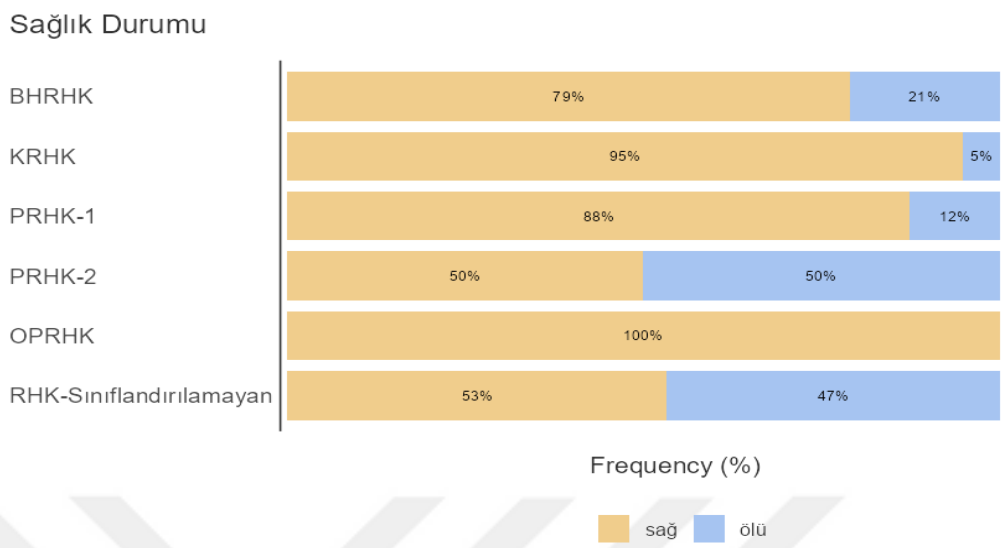
	Sağlık Durumu	
Cinsiyet	**sağ**	**ölü**
Erkek	127	43
Kadın	91	15
Toplam21858		

Tablo 12. Sağkalım durumunun tümör subtiplerine göre dağılımı

	Sağlık Durumu	
Tümör Subtipi	**sağ**	**ölü**
BHRHK	155	41
KRHK	19	1
PRHK-1	28	4
PRHK-2	5	5
OPRHK	3	0
RHK-Sınıflandırılamayan	8	7

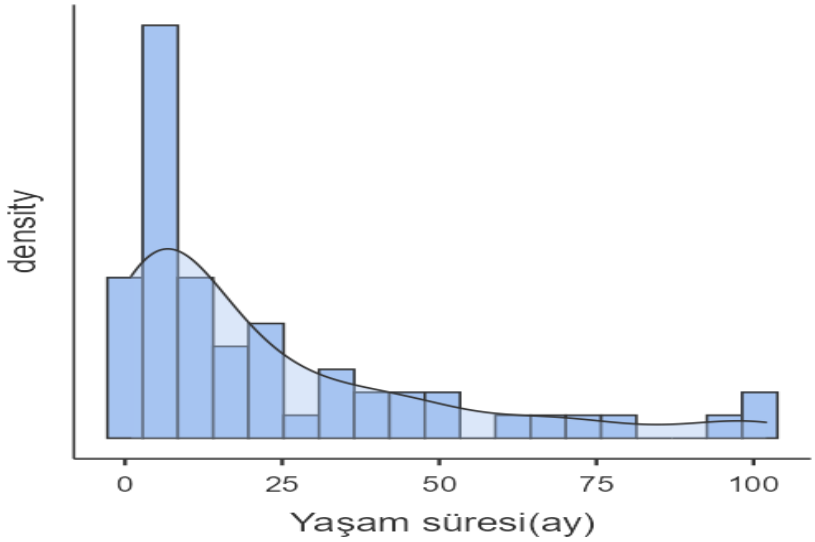
PDF Eraser Free

Grafik 5. Sağkalım durumunun tümör subtiplerine göre dağılımı



Ölen hastaların ortalama yaşam süresi 22 aydır (1-102ay) (Grafik 6). Ölen hastaların 43 (%74) 'ü erkek, 15 (%26) 'i kadındır. Ölen hastalara ait tümörler 41 (%71) iBHRHK, 1 (%2) 'i KRHK, 4 (%7) 'ü PRHK-1, 5 (%9) 'i PRHK-2, 7 (%12) 'si RHK, sınıflandırılamayan morfolojisindedir. Tümörlerin 4 (%7) 'ü derece 1, 14 (%26) 'ü derece 2, 26 (%48) 'si derece 3, 10 (%19) 'u derece 4'tür (Grafik 7).

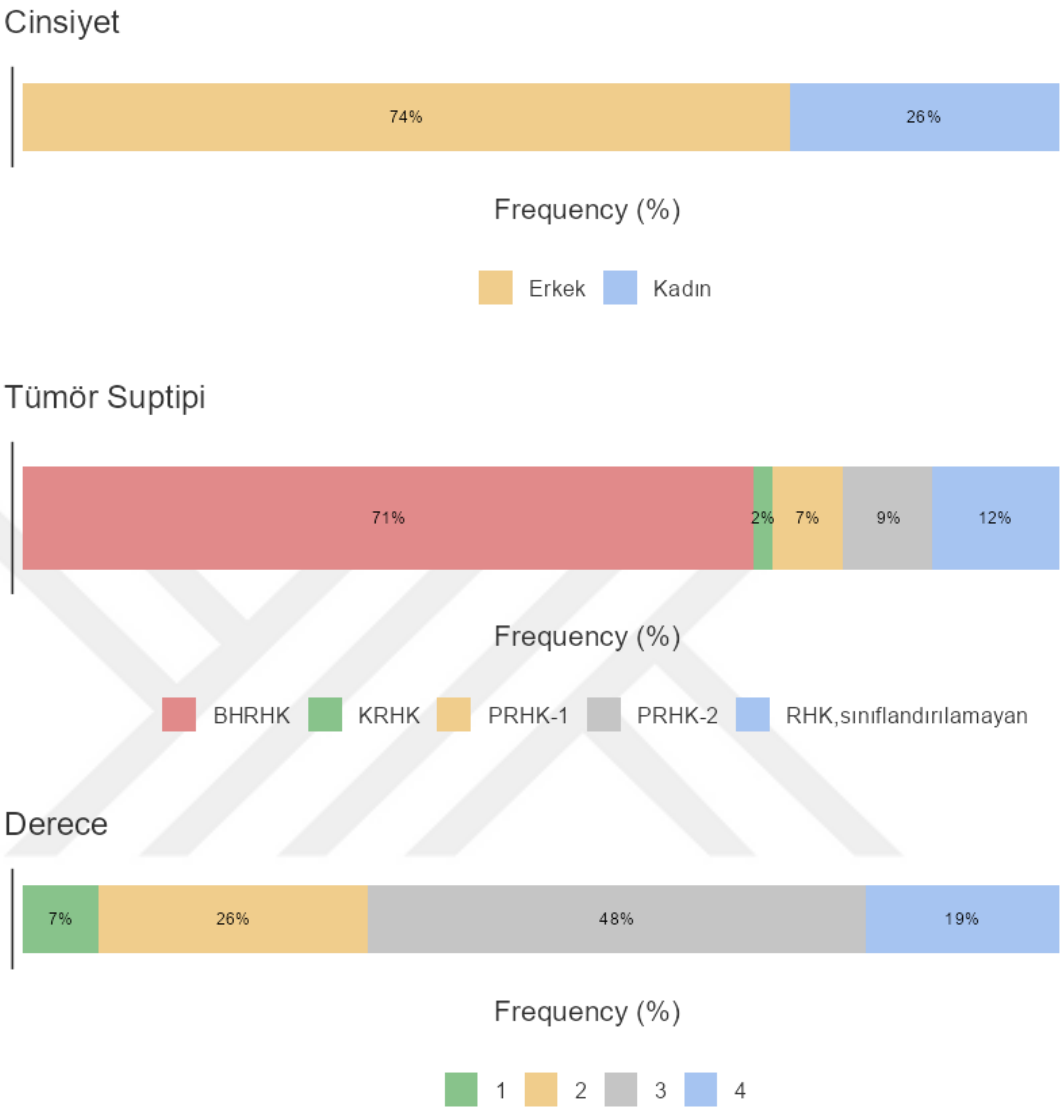
Grafik 6. Ölen hastaların ortalama yaşam süresi



	S	Ortalama	Mod	Minimum	Maksimum
Yaşam süresi (ay)	58	23. 22	4	1	102

PDF Eraser Free

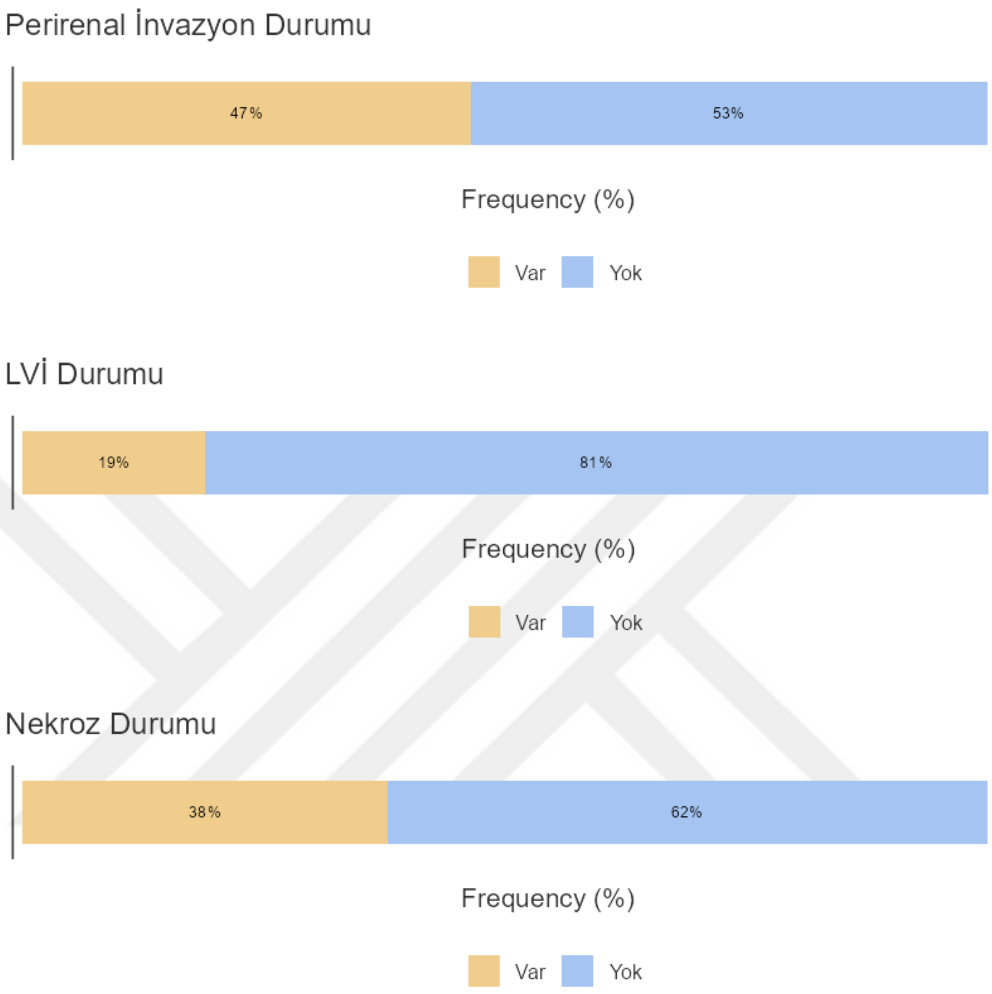
Grafik 7. Ölen hastaların cinsiyet, tümör subtipi ve nükleer derece dağılımı



Ölen hastalara ait tümörlerin 27 (%47) 'sinde perirenal invazyon, 11 (%19)'inde lenfovaskülerinvazyon izlenmiştir. 22 (%38) olguda nekroz mevcuttur (Grafik 8).

PDF Eraser Free

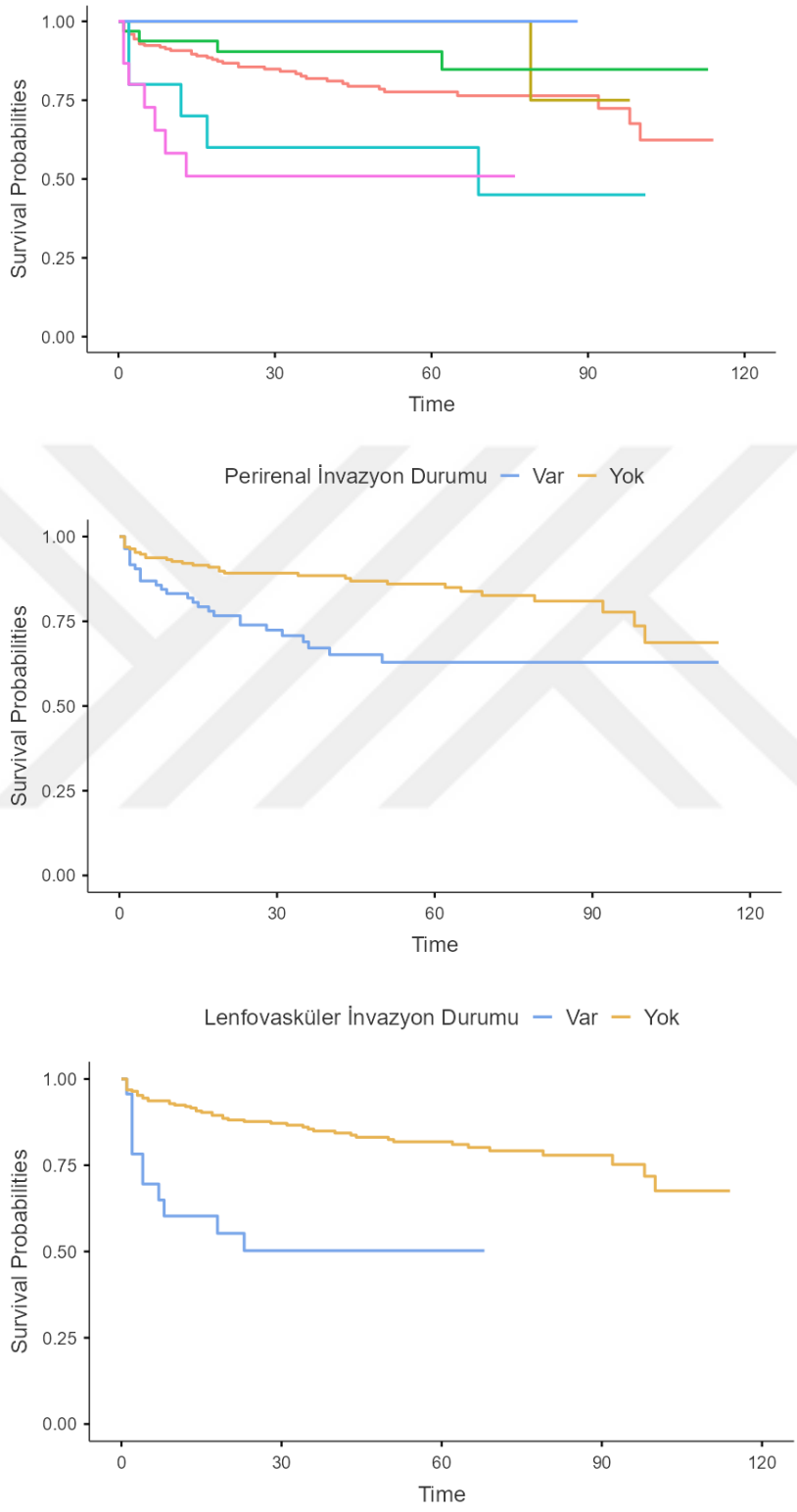
Grafik 8. Ölen hastalarda perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz durumu



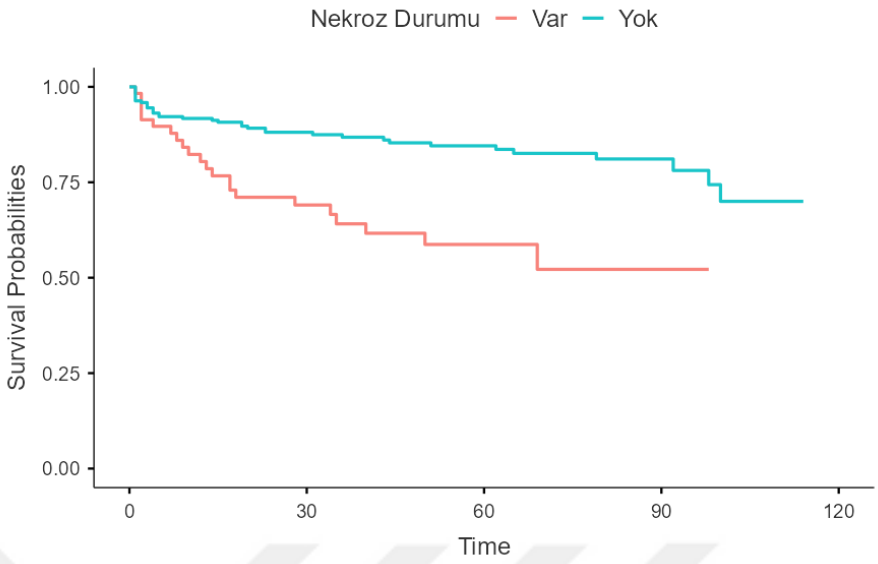
Sağkalım açısından tümör subtipleri, nükleer derece, perirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$ (Log-rank)) (Grafik9).

PDF Eraser Free

Grafik 9. Tümör subtipi, nükleer derece, perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığının sağkalıma Etkisi



PDF Eraser Free



p<0. 01 (Log-rank)

4. 2. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Olguların 8 (%2.9) 'i ALK immunohistokimyası ile pozitif, 268 (%97.1) 'i negatif boyanmıştır. ALK ile boyanan tümörlerin 4 (%50) 'ü erkek, 4 (%50) 'ü kadındır. Boyanan olguların 4 (%50) 'ü perinükleer, 3 (%37.5) 'ü sitoplazmik, 1 (%12.5) 'i membranöz paternde boyanmıştır (Tablo 13).

Tablo 13. ALK boyanma sıklığı ve boyanma paterni

ALK Boyanma Sıklığı

Boyanma	**Sayı**	**%**
Pozitif	8	2.9 %
Negatif	268	97.1 %

Boyanma Paterni

Patern	**Sayı**	**%**
perinükleer	4	50.0 %
sitoplazmik	3	37.5 %
membranöz	1	12.5 %

ALK ile boyanma gösteren olguların ortalama yaşı59.3 (38-78) olup negatif olguların ortalama yaşı 61.4 (29-92) 'dir. ALK ile boyanma gösteren olgulardan 2 (%25) 'i ölü iken 6 (%75) 'sı sağdır. ALK pozitif olgularda ortalama sağ-kalım 34 (4-69) ay iken negatif olgularda ortalama sağ-kalım 48. 7 (1-114) aydır (Tablo 14 ve 15). ALK pozitif olgular ile negatif olgularda sağ-kalım süresi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.593 (Log-rank)).

PDF Eraser Free

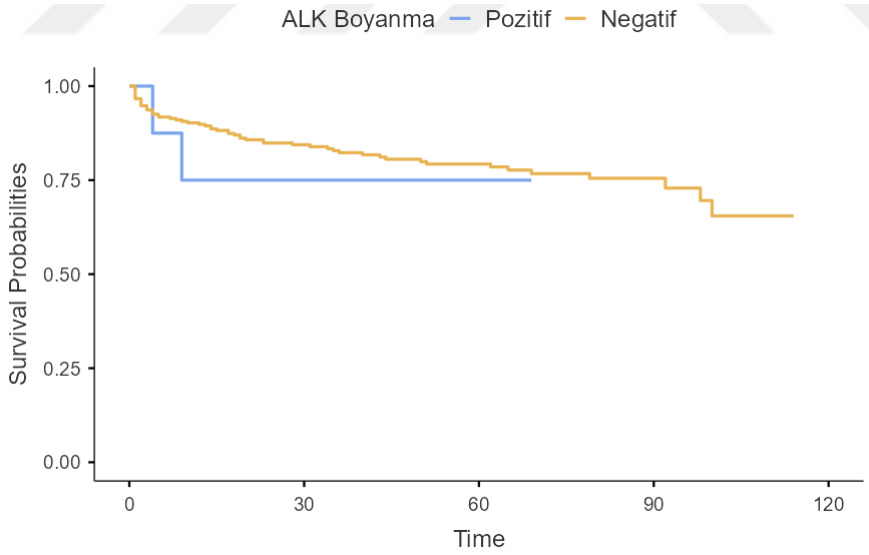
Tablo 14. ALK pozitif ve negatif hastaların yaş ve sağkalım süreleri

	ALK Boyanma	Sayı	Ortalama	Minimum	Maksimum
Yaş	Pozitif	8	59. 38	38	78
	Negatif	268	61. 41	29	92
Sağkalım (ay)	Pozitif	8	34. 13	4	69
	Negatif	268	48. 70	1	114

Tablo 15. ALK boyanan hastalarda sağkalım

Sağkalım	Sayı	%
Ölü	2	25. 0 %
Sağ	6	75. 0 %

Grafik 10. ALK pozitif olgularda sağkalım



ALK ile boyanan olguların 2 (%25) 'i BHRHK, 3 (%37. 5) 'i KRHK, 1 (%12. 5) 'i PRHK-1 ve 2 (%50) 'si RHK, sınıflandırılamayan morfolojisindedir. KHRK morfolojisi dışındaki RHK'lardan 1'i nükleer derece 2, 3'ü nükleer derece 3, 1'i derece 4'tür (Tablo 16).

PDF Eraser Free

Tablo 16. ALK pozitif olgularda nükleer derece ve tümör subtipi

Tümör subtipi	Sayı	%
BHRHK	2	25. 0 %
KRHK	3	37. 5 %
PRHK-2	1	12. 5 %
RHK, Sınıfland.	2	25. 0 %

Nükleer Derece	Sayı	%
1	0	0
2	1	20. 0 %
3	3	60. 0 %
4	1	20. 0 %

ALK pozitif olguların 3'ünde perirenal invazyon, 2'sinde lenfovasküler invazyon izlenmiş olup 3olguda nekroz mevcuttur. Olgulardan 1'i perirenal invazyon ve nekroz göstermektedir. 2 olgu da perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz mevcuttur (Tablo17).

Tablo 17. ALK boyanan olgularda perirenal, lenfovasküler invazyon ve nekroz varlığı

	ALK Boyanma	
Perirenal İnvazyon Durumu	**Pozitif**	**Negatif**
Var	3(%37.5)	81 (%30)
Yok	5(%67.5)	187(%70)

	ALK Boyanma	
Lenfovasküler İnvazyon Durumu	**Pozitif**	**Negatif**
Var	2(%25)	21 (%8)
Yok	6(%75)	247(%92)

	ALK Boyanma	
Nekroz Durumu	**Pozitif**	**Negatif**
Var	3 (%37.5)	55 (%20)
Yok	5 (%67.5)	211 (%80)

PDF Eraser Free

ALK pozitif olguların morfolojik ve klinik özellikleri Tablo 18'deyer almaktadır.

Tablo 18. ALK pozitif olgular

	Cinsiyet	Yaş	Tanı	Nükleer Derece	Çap (cm)	Perirenal İnvazyon	Nekroz	LVİ	Boyanma Şekli
1	Kadın	63	BHRHK	2	4, 5	Yok	Yok	Yok	perinükleer
2	Kadın	74	BHRHK	3	11	Var	Yok	Var	perinükleer
3	Kadın	64	KRHK	-	4, 5	Yok	Yok	Yok	membranöz
4	Erkek	40	KRHK	-	3, 5	Yok	Yok	Yok	perinükleer
5	Kadın	38	KRHK	-	5, 5	Yok	Yok	Yok	sitoplazmik
6	Erkek	78	PRHK-2	3	3, 2	Yok	Yok	Yok	sitoplazmik
7	Erkek	66	Sınıflandırılamayan RHK	3	12	Var	Var	Yok	perinükleer
8	Erkek	52	Sınıflandırılamayan RHK	4	6, 5	Var	Var	Var	sitoplazmik

4. 3. FISH BULGULARI

İmmunohistokimyasal olarak ALK ile pozitif boyanan olgulardan hazırlanan TMA bloğuna uygulanan FISH çalışmada 3 olguda %15'in üzerinde (%21, %20 ve %18 oranlarında) ayrılma (break apart) izlenmiştir. Olgulardan 2'i kadın 1'i erkektir. Olgular 74, 78 ve 64 (ortalama 72) yaşındadır. Hastalardan 1'i ölü, 2'si sağdır. Olgular BHRHK (Olgu 1), KRHK (Olgu 2) PRHK-2 (Olgu 3) morfolojisindedir. Tümörlerden KRHK olgusu dışındaki diğer iki olgu nükleer derece 3'tür. Ortalama tümör çapı 6,2 (3,2-11) cm'dir. Tümörlerin 1'inde (Olgu 1) nekroz, perirenal ve lenfovasküler invazyon izlenmiştir (Tablo 19). Olgulara ait klinik ve histomorfolojik değerlendirme ayrı başlıklar halinde aşağıda yer almaktadır.

Tablo 19. ALK-RHK olgularının morfolojik ve klinik özellikleri

	Cinsiyet	Yaş	Tümör Subtipi	Nükleer Derece	Çap (cm)	Perirenal İnvazyon	Nekroz	LVİ	Boyanma Şekli
1	Kadın	74	BHRHK	3	11	Var	Yok	Var	perinükleer
2	Erkek	78	PRHK-2	3	3, 2	Yok	Yok	Yok	sitoplazmik
3	Kadın	64	KRHK	-	4, 5	Yok	Yok	Yok	membranöz

FISH'te ayrılma ve immunokimyasal olarak olarak ALK pozitiflik gösteren olgular ile göstermeyen olgular arasında perirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 20).

PDF Eraser Free

Tablo 20. FISH pozitif ve IHK pozitif olgularınperirenal invazyon, lenfovasküler invazyon ve nekroz yönündenkarşılatırılması

Perirenal İnvazyon	Var (N=84)	Yok (N=192)	Total (N=276)	p değeri
FISH				0. 913[1]
Pozitif	1. 0 (1.2%)	2. 0 (1.0%)	3.0 (1.1%)	
Negatif	83. 0 (98.8%)	190. 0 (99.0%)	273. 0 (98.9%)	
ALK Boyanma				0. 659[1]
Pozitif	3. 0 (3.6%)	5. 0 (2.6%)	8.0 (2.9%)	
Negatif	81. 0 (96.4%)	187. 0 (97.4%)	268. 0 (97.1%)	

1. Pearson's Chi-squared test

Lenfovasküler İnvazyon	Var (N=23)	Yok (N=253)	Total (N=276)	p değeri
FISH				0. 115[1]
Pozitif	1.0 (4.3%)	2. 0 (0.8%)	3. 0 (1.1%)	
Negatif	22. 0 (95.7%)	251. 0 (992%)	273. 0 (98.9%)	
ALK Boyanma				0. 083[1]
Pozitif	2. 0 (8.7%)	6. 0 (2.4%)	8. 0 (2.9%)	
Negatif	21. 0 (91.3%)	247. 0 (97.6%)	268. 0 (97.1%)	

1. Pearson's Chi-squared test

	Var (N=59)	Yok (N=217)	Total (N=276)	p değeri
ALK Boyanma				0. 259[1]
Pozitif	3.0 (5.1%)	5. 0 (2.3%)	8.0 (2.9%)	
Negatif	56. 0 (94.9%)	212. 0 (97.7%)	268. 0 (97.1%)	
FISH				0. 612[1]
Pozitif	10 (1.7%)	2.0 (0.9%)	3.0 (1.1%)	
Negatif	58.0 (98. 3%)	215.0 (99.1%)	273.0 (98.9%)	

PDF Eraser Free

4. 3. 1. Olgu 1

4.3.1.1. Hasta Bilgileri

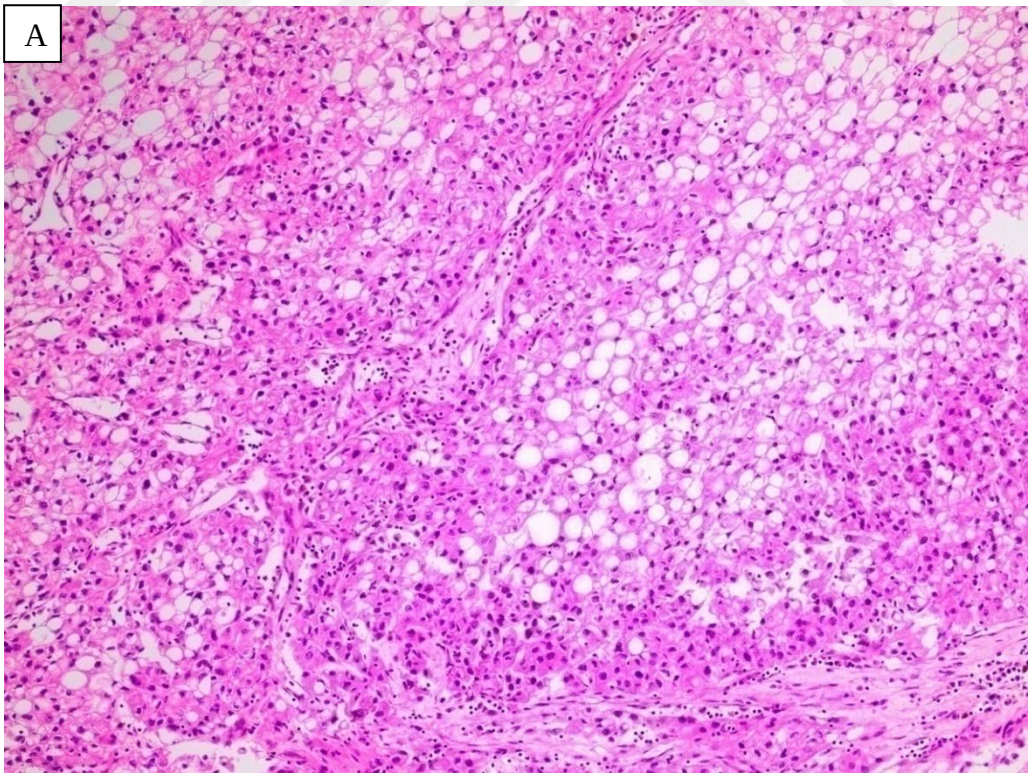
74 yaşında kadın hasta hematüri şikayeti ile hastaneye başvurmuş. Böbrekte kitle saptanan hastaya nefrektomi ve bölgesel lenf nodu diseksiyonu yapılmış. Makroskopik olarak tümör, kanamalı turuncu-sarı renkli olup 11x7x2 cm boyutlarında orta-alt polde yerleşim göstermektedir. Tümör yer yer perirenal yağ dokuya invaze görünümdedir.

Hasta ameliyattan 6 ay sonra hastalıktan ölmüştür.

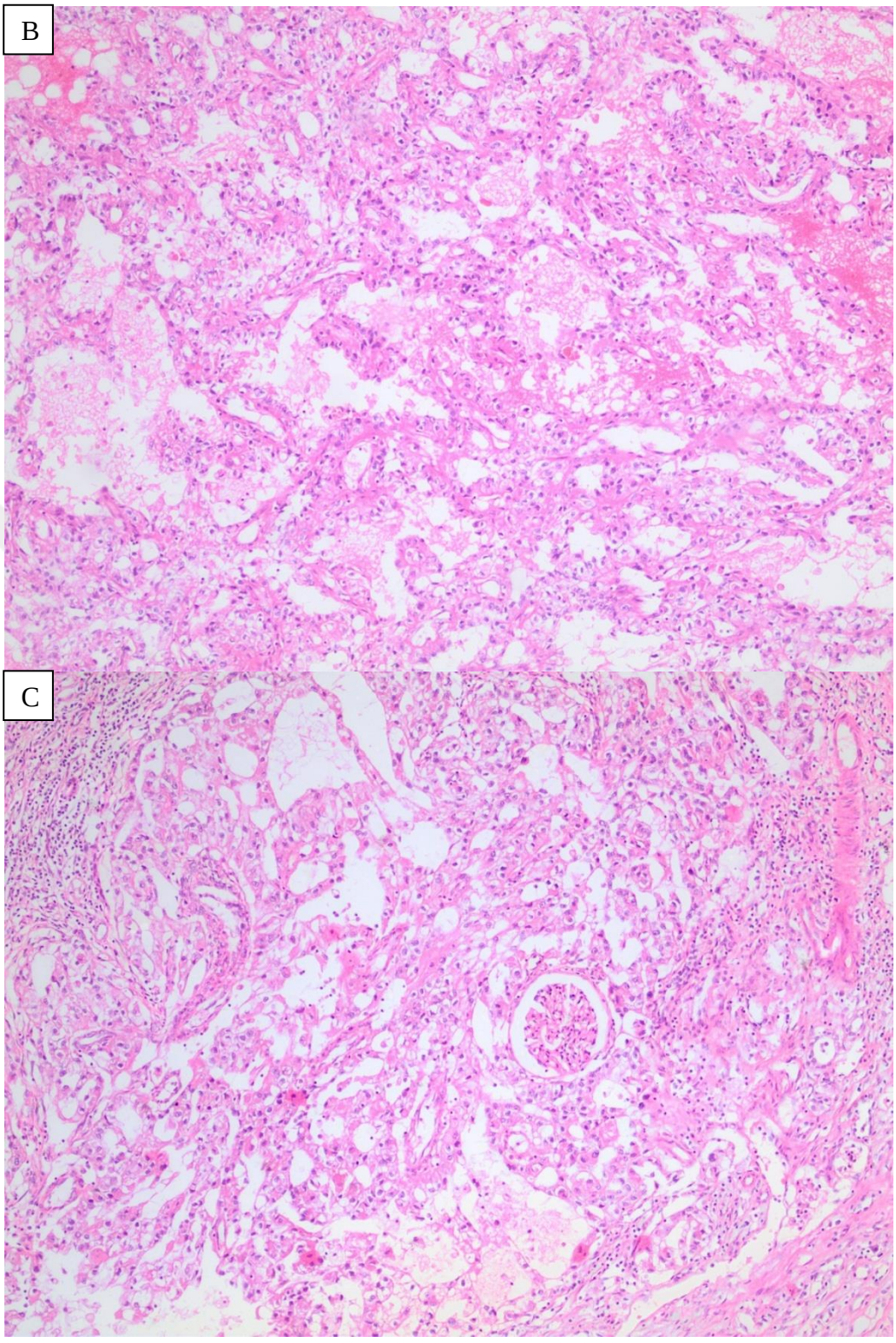
4.3.1.2. Histomorfolojik Bulgular

Mikroskopik olarak tümör yaygın nekroz ve hemoraji alanları içermektedir. Perirenal yağ doku invazyonu ve lenfovasküler invazyon mevcuttur. Tümör sürrenal beze invazedir. Vena cava inferiorda tümör trombüsü görülmüştür. Tümöral alanlar geniş fibröz bantlar ile ayrılmıştır. Tümörde yaygın olarak trabeküler ve tübüler patern izlenmekle birlikte, yer yer tabakalaşma ve papiller yapılar gözlenmektedir. Bazı tümör adaları içinde nonneoplastik glomerül yapıları vardır. Tümör hücreleri daha çok eozinofilik sitoplazmalı, pleomorfik ve nükleolleri belirgin görünümde olup yer yer daha berrak sitoplazmalı alanlar görülmektedir. Psammom cisimleri izlenmemiş olmakla birlikte aralarda eozinofilik globüller görülmüştür (Resim 22).

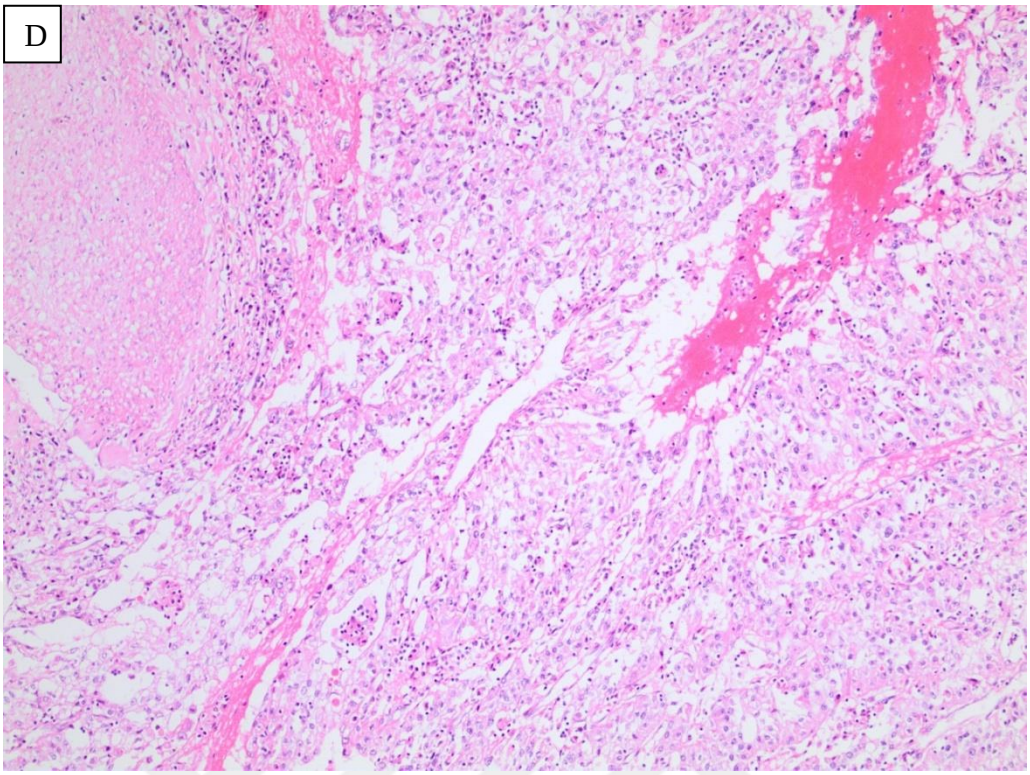
A



PDF Eraser Free



PDF Eraser Free

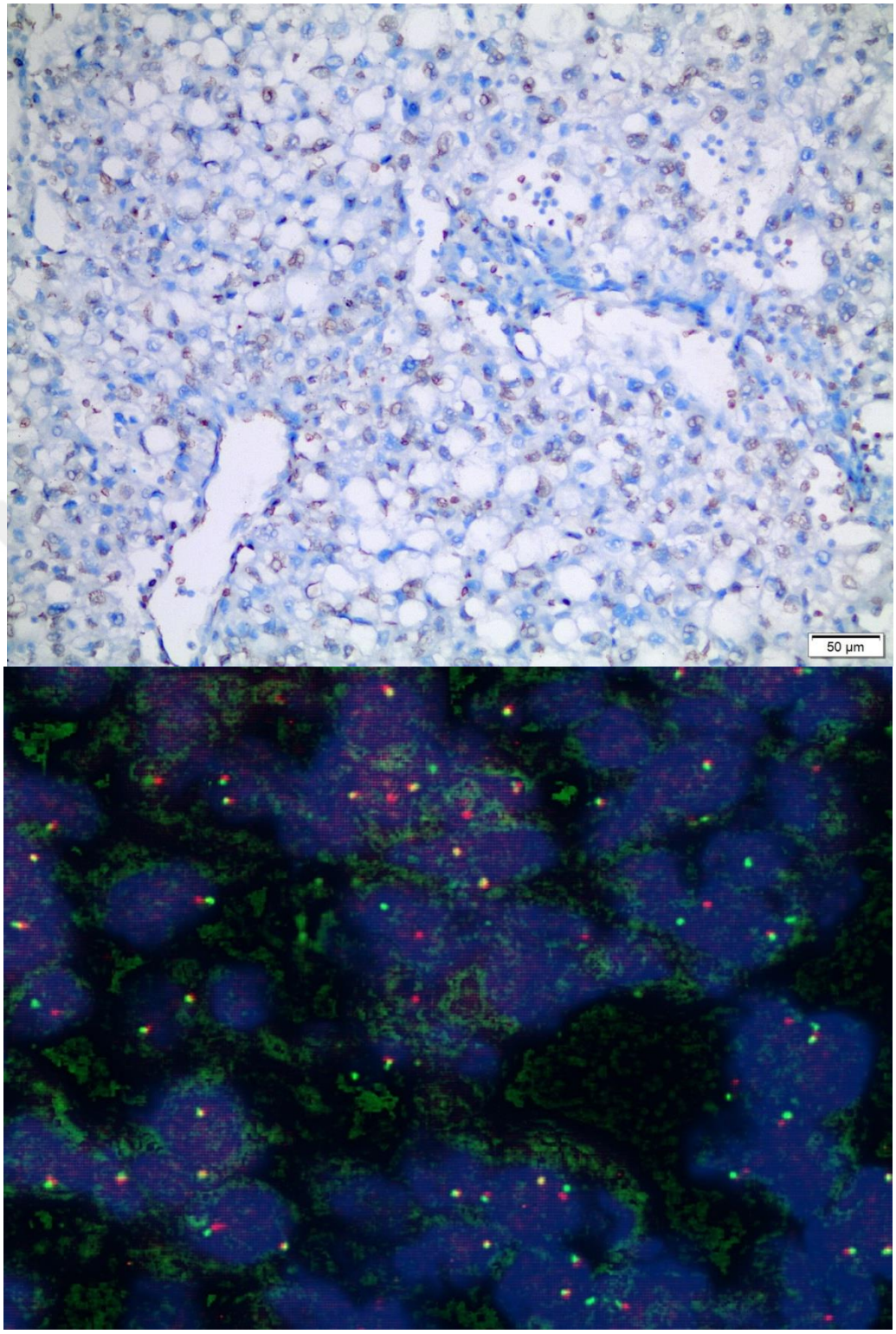


Resim 22. A ve B. Eozinofilik ve berrak sitoplazmalı alanlar içeren diffüz tabakalar ve alveoler ve nadir papiller yapı sergileyen tümör görülmektedir. C. Tümör içinde yer yer glomerüler yapı gözlenmektedir. D. Tümör içinde yaygın nekroz alanları mevcuttur.

4. 3. 1. 3. İmmunohistokimyasalve FISH Bulgular

Uygulanan ALK immunohistokimyasal boyaması ile yaygın orta şiddette yaygın olarak perinükleer boyanma izlenmiştir. Yapılan FISH çalışmada olguda %15'in üzerinde ayrılma (break apart) izlenmiştir (Resim23).

PDF Eraser Free



Resim 23. Tümör hücrelerinde ALK immunohistokimyasal boyaması ile perinükleer boyanma izlenmiştir. FISH ile hücrelerde ayrılma (break apart) gözlenmektedir.

PDF Eraser Free

4. 3. 2. Olgu 2

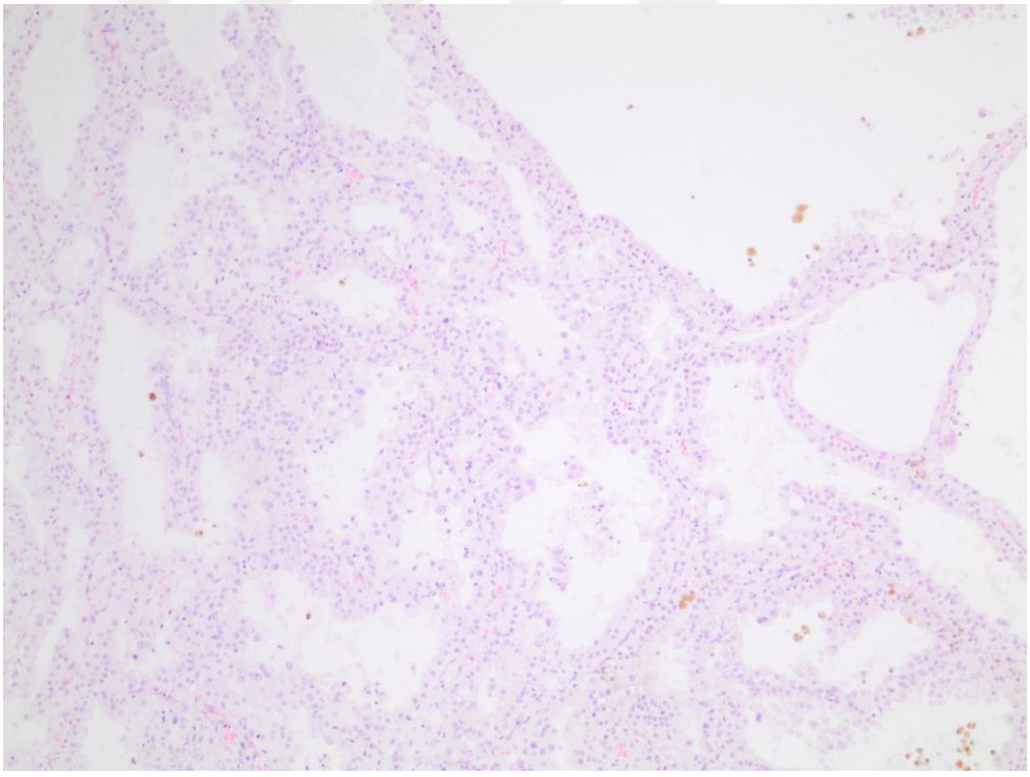
4. 3. 2. 1. Hasta Bilgileri

78 yaşında erkek hasta idrar yolu enfeksiyonuşikayeti ile hastaneyebaşvurmuş. Böbrekte kitle saptanan hastaya nefrektomiyapılmış. Makroskopik olarak kanamalı turuncu-sarı renkli, 3,2x3x2,6 cm boyutlarında yaygın kistik alanlar içeren süngerimsi yapıda düzgün sınırlı tümör izlenmiştir.

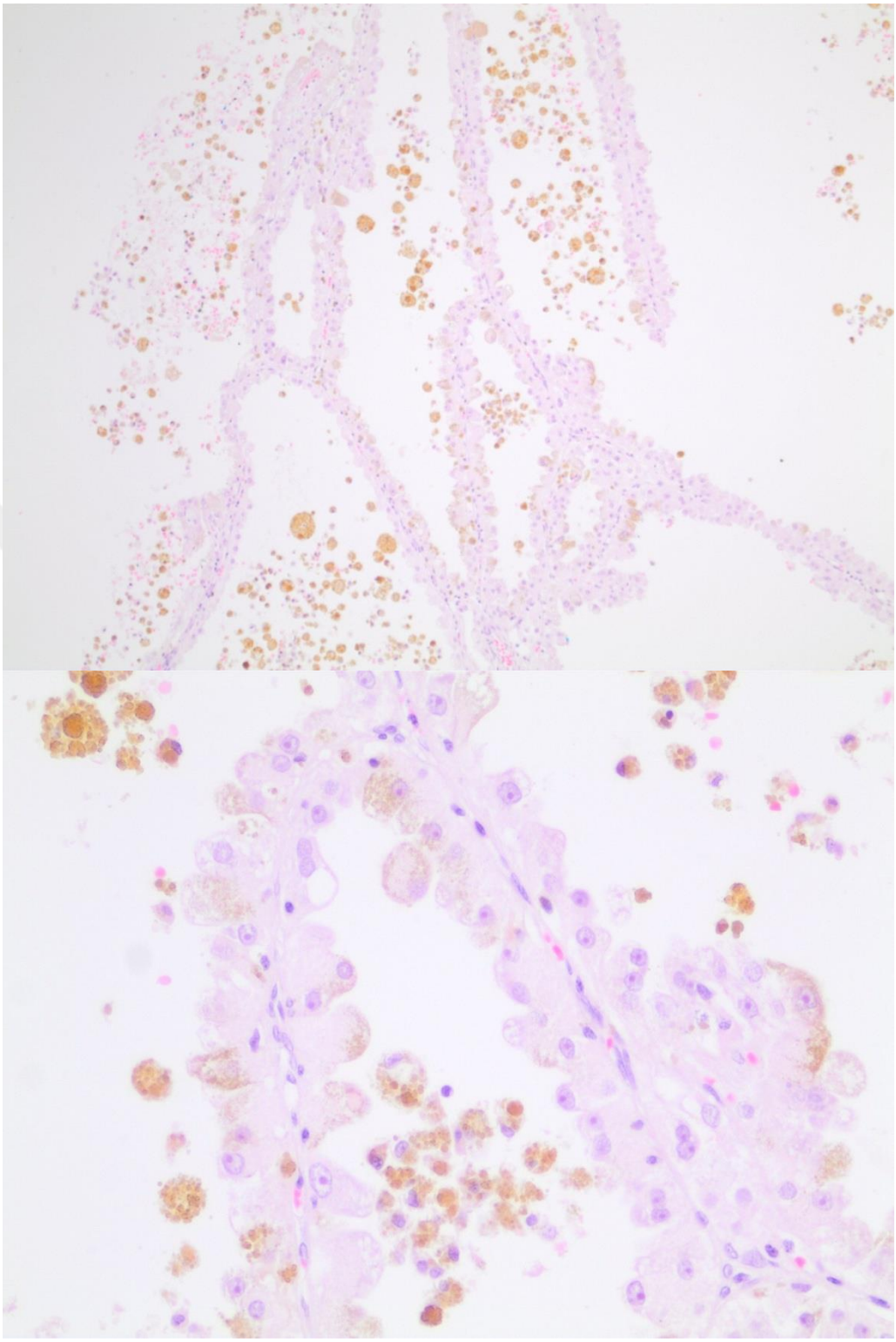
Hasta 24 aydır sağdır, tümöre ait bulgu izlenmemiştir.

4. 3. 2. 2. Morfolojik Bulgular

Mikroskopik olarak tümörde içerisinde makrofajların izlendiği yaygın kistik alanlar mevcuttur. Tümörde ortasında fibrovasküler korların yer aldığıpapiller morfoloji izlenmektedir. Papiller yapılarda geniş eozinofilik sitoplazmalı, yer yer "hobnail" morfolojinin izlendiği, yer yer pigment içeren nükleolleri belirgin hücreler gözlenmiştir (Resim 24). İmmunohistokimyasal olarak tümörde AMACR, vimentin, CD10 pozitif olup TFE-3 yamasal boyanma göstermektedir. CK7, MelanA, EMA, HMB45 negatiftir.



PDF Eraser Free

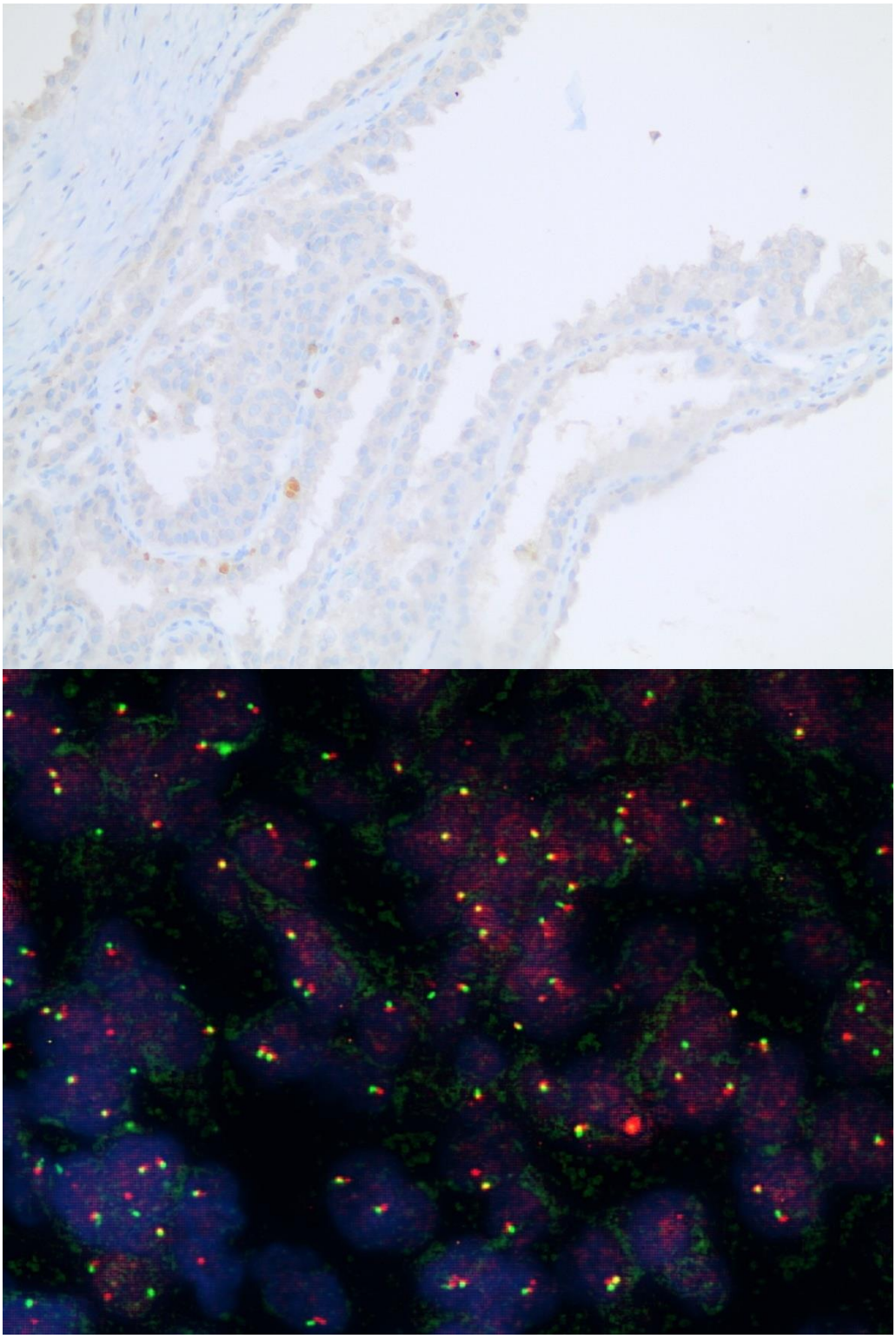


Resim 24. Yaygın kistik değişiklerin izlendiği tümörde eozinofilik sitoplazmalı, yer yer "hobnail" morfolojili papiller yapı gösteren tümör izlenmektedir.

4. 3. 2. 3. İmmunohistokimyasal ve FISHBulguları

Tümör hücrelerindeALK ile zayıf sitoplazmik boyanma gözlenirken FISH ile %15'in üzerinde ayrılma (break apart) izlenmektedir (Resim 25).

PDF Eraser Free



Resim 25. Tümör hücrelerinde ALK immunohistokimyasal boyaması ile zayıf sitoplazmik boyanma izlenmiştir. FISH ile hücrelerde ayrılma (break apart) gözlenmektedir.

PDF Eraser Free

4. 3. 3. Olgu 3

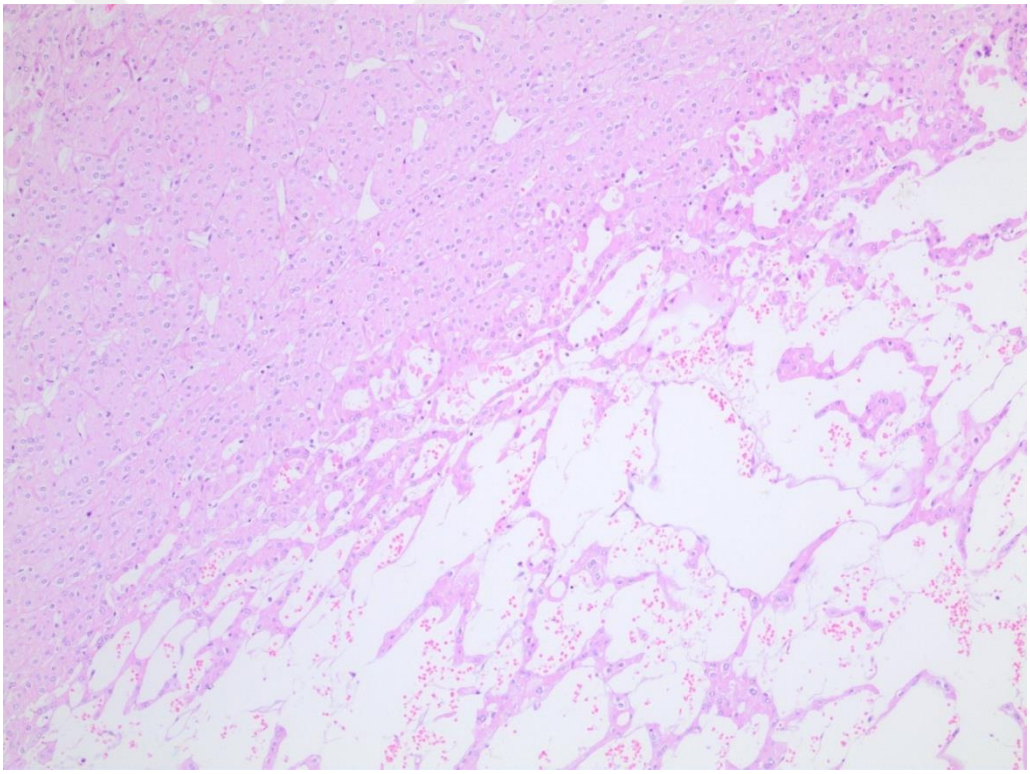
4. 3. 3. 1. Hasta Bilgileri

64 yaşında kadın hasta böbrek kisti nedeniyle takipleri sırasında ultrasonda kitle saptanan hastaya nefrektomi yapılmış. Makroskopide 4,5x3x2,5 cm boyutlarında kahverenkli yer yer kanamalı düzgün sınırlı tümöral lezyon izlenmiştir.

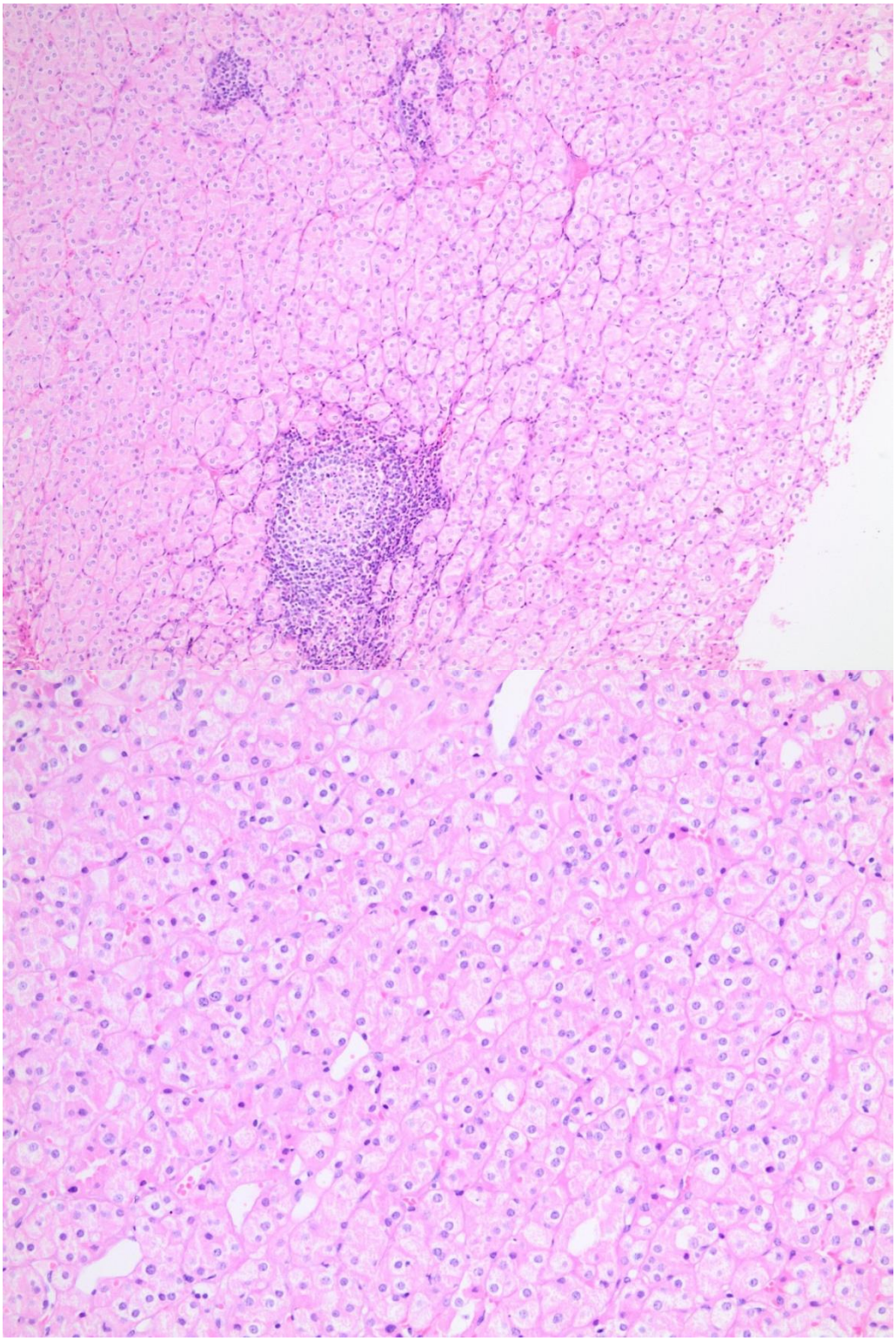
Hasta 16 aydır sağdır, tümöre ait bulgu izlenmemiştir.

4. 3. 3. 2. Mikroskopik Bulgular

Tümör trabeküler ve tübüler paternde gelişim gösterekte olup yer yer ödemli alanlar izlenmektedir. Arada lenfoid topluluklar ve lenfoid follikül formasyonu görülmektedir. Tümörü geniş berrak sitoplazmalı, perinükleer halo içeren, nükleolleri belirgin hücrelerden oluşmaktadır (Resim 26). Tümöre uygulanan immunohistokimyasal çalışmalarda tümördeCK7 pozitif olup CD117, CD10, RCC negatif boyanmıştır.



PDF Eraser Free

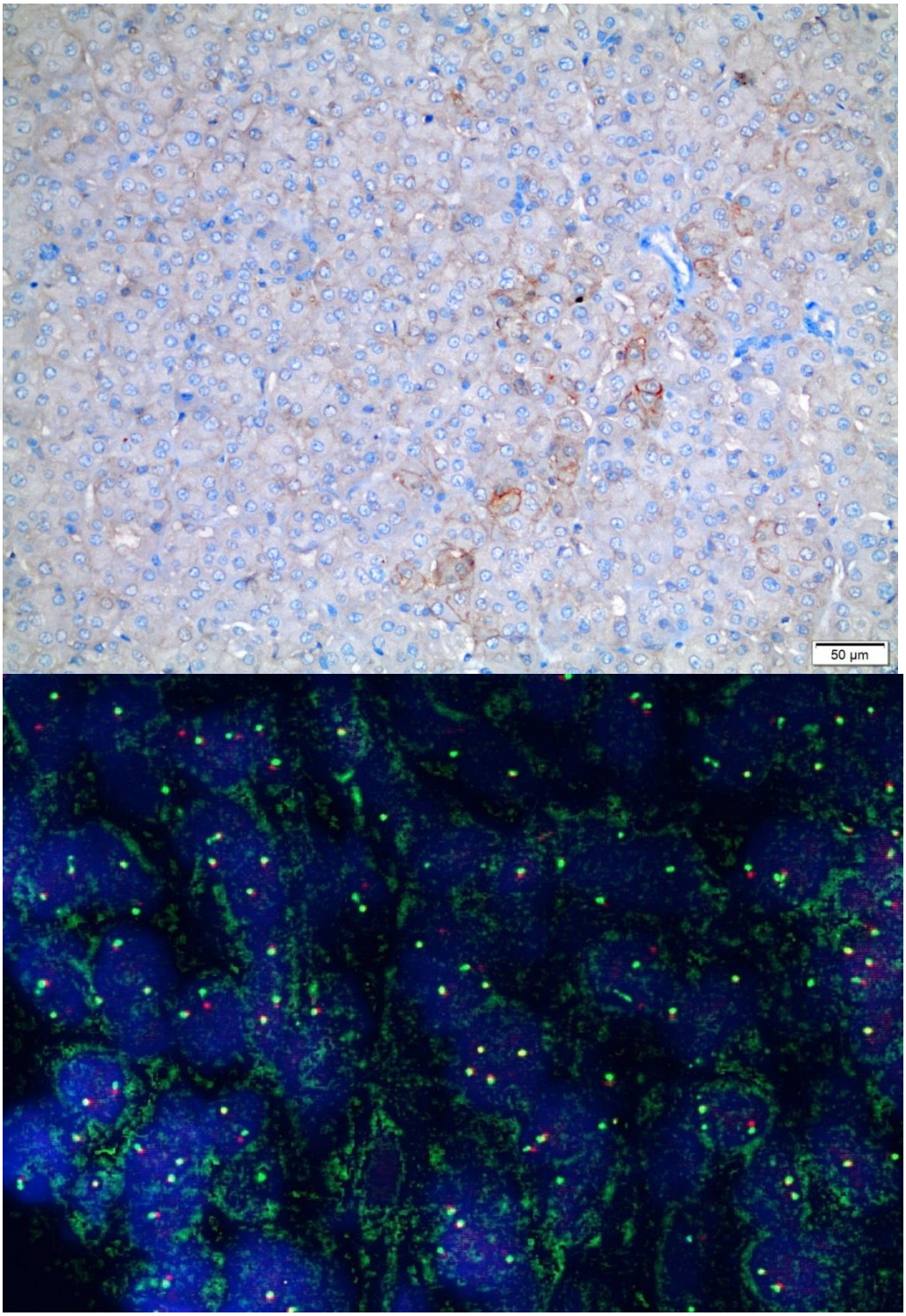


Resim 26. Alveolar patern gösteren tümör yanısıra yer yer ödemli alanlar izlenmektedir. Tümörü geniş eozinofilik sitoplazmalı nükleolleri hafif belirgin hücreler oluşturmaktadır. Arada lenfoid topluluklar mevcuttur.

PDF Eraser Free

4. 3. 3. 3. İmmunohistokimyasal ve FISH bulguları

Olguda fokal membranöz ALK poztifliği izlenmis olup FISH ile %15'in üzerinde ayrılma (break apart) saptanmıştır (Resim 27).



Resim 27. Tümör hücrelerinde ALK immunohistokimyasal boyaması ile membranöz boyanma izlenmiştir. FISH ile hücrelerde ayrılma (break apart) gözlenmektedir.

PDF Eraser Free

5. TARTIŞMA

ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinom (ALK-RHK) Dünya Sağlık Örgütünün 2016 yılında yayımladığı "Üriner Sistem ve Erkek Genital Organları Tümörleri Sınıflandırması"kitabındaprovizyonel antite olarak yer alan bir terminolojidir [1]. Bu antite, ALK geninin farklı genlerle füzyonlarını içeren translokasyonlarını gösteren renal hücreli karsinomları kapsamaktadır. ALK geni son zamanlarda geliştirilen hedefe yönelik tedavi yöntemleri için seçilengenlerden biridir. ALK inhibitörlerine klinik yanıt veren ALK rearanjmanı gösteren renal hücreli karsinomların bildirilmesi bu olgulara yönelik hedeflenebilir terapötik seçenek sunmaktadır [138].

ALK-RHK tanımlandığından bu yana 38 olgu bildirilmiştir. Çalışmalarda ALK-RHK %0 ile %3.57 arasında değişen insidanslar bildirilmiştir[4], [5], [8], [139]–[142]. Olgu sayısı sınırlı olmakla birlikte yetişkin olguların hiçbirinde klinik sendrom veya başka bir tümör ile ilişki bildirilmemiştir [143]. Bazı çalışmalarda pediatrik Afrikalı-Amerikalı hastalarda, tipik olarak meduller yerleşimli tümörlerde, orak hücreli özellikleri izlendiği bildirilmiştir [144]–[146]. Önceki çalışmalarda ALK-RHK, Afrikalı-Amerikalı, beyaz ve Asya kökenli insanlarda tanımlanmış olup geniş ırksal dağılım göstermekte olduğu bildirilmiştir[143]. Polonya'da yapılan bir çalışmada ise 1019 böbrek tümörünün hiçbirinde ALK-RHK tespit edilmemiştir[139]. Bu açıdan sadece farklı coğrafik bölgeler dahilinde yapılan çalışmaların ortaya koyacağı veriler de önemlidir. Türkiye'de yapılan çalışmamızda 276 olguda immunohistokimyasal olarak 8 (%2.9) olguda pozitiflik, 3 (%1) olguda FISH ile ayrılma (break apart) izlenmiştir. Olguların hiçbirinde renal tümörebilinen bir sendromveya başka bir tümör eşlik etmemektedir.

Önceki çalışmalarda ALK-RHK'ların erkeklerde kısmen daha fazla (E:K=1.5:1) olduğu bildirilmiştir [3]. ALK-RHK, pediatrik (3-19 yaş) ve erişkin dönemde (30-49 ve 52-85 yaş) tanımlanmış olupgeniş bir yaş dağılımı göstermektedir[3]. Bizim çalışmamızda immunohistokimyasal olarak ALK ile pozitif hastaların ortalama yaşı 59 (38-78yaş) olup FISH ile ayrılma gösteren olguların yaş ortalaması 72 (64-74 yaş)'dir. İmmunohistokimyasal olarak boyanan olguların 4'ü kadın, 4'ü erkek; FISH ile ayrılma gösteren olguların2'si kadın, 1'i erkektir.

ALK-RHK'ların klinik davranışı tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte olguların %30'unda metastatik hastalık veya ölüm belirtilmiştir. Olguların takipleri sonucunda kötü seyir gösterilebileceği düşünülmektedir[3]. Hastalıktan ölümün 5 yıldan az olduğunu gösteren çalışma mevcuttur[5]. Çalışmamızla ALK immunohistokimyasal olarak ALK pozitifliği gösteren olgulardan 2'si ölümle sonuçlanmış olup 6'sı hayattadır. FISH ile ayrılma gösteren olgulardan 2'si hayatta olup olguların biri hastalığa bağlı ölümle sonuçlanmıştır. Yaşayan hastalardan biri 24 aydır, diğeri ise 16 aydır sağdır. Olguların takip süreleri HBYS'den elde

PDF Eraser Free

edilmiştir. Olgularda nüks olup olmadığı, netedavi aldıkları bilinmemekte, gerçek takip süreleri sağlıklı eldeedilememiştir.

Önceki çalışmalarda ALK-RHK'lar genel olarak iyi sınırlı, solid solid-kistik görünümde tanımlanmış olup çapları 3-7 cm arasında değişmektedir[143]. Kuroda ve ark. 'larının yapıtığı çalışmada tanımladıkları 12 ALK-RHK olgusının 11'i iyi sınırlı, periferal kapsüllü olduğu, tümör çapının ortalama <5 cm olduğu ve tümörlerin kortekste yerleştiği belirtilmiştir[4]. Bizim çalışmamızda immunohistokimyasal olarak ALK pozitif olgulardan 3'ünde perirenal yağ dokuya invazyon izlenmiş olup 5 olgurenal parankime sınırlıdır. FISH ile ayrılma gösteren 2 olguda tümörün iyi sınırlı olduğu, tümör çapının 5 cm'den küçük olduğu, 1 olguda ise makroskopik olarak perirenal yağ dokuya invazyon izlendiği ve tümör çapının 11 cm olduğugörülmüştür. Her üç tümör de korteks yerleşimlidir.

ALK-RHK'lar papiller, solid, tübüler, tübülokistik, kribriform, trabeküler, iğsi hücreli, ve taşlı yüzük hücreli gibi farklı morfolojik özellikler gösterebilmektedir. İnterstisyel veya intrasitoplazmik müsin varlığının tanı için önemli bir ipucu olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur [6]–[8]. Hücreler eozinofilik sitoplazmalı, rabdoid, vakuolize hücreler, küçük hücre, pleomorfik dev hücre şeklinde görülebilmektedir [2], [8], [143]. Bir çalışmada, farklı morfolojik özellikler göstermesi nedeniyle özellikle sınıflandırlamayan RHK tanısı vermeden önce ALK-RHK'ın ayrıcı tanıda düşünülmesi gerektiği belirtilmektedir[4]. Önceden tanımlanan VCL-ALK ve TPM3-ALK füzyonu gösteren pediatrik olgularda erişkin renal medüller karsinom ve toplayıcı kanal karsinomuna benzer morfolojik özellikler izlenmiştir [5], [6]. Bizim çalışmamızda bir olguda (Olgu-1'de) trabeküler, solid ve papiller morfoloji izlenmiş olup tümör içinde glomerül yapıları mevcuttur. Olgu-2'de papiller morfoloji hakim olup tümör hücreleri geniş eozinofilik sitoplazmalı, "hobnail" morfolojilidir. Olgu-3'te ise geniş eozinoflik sitoplazmalı hürelerin oluşturduğu, yer yer trabeküler, yer yer tübüler morfolojide tümör izlenmiştir. Tümör içinde yer yer lenfoid topluluklar mevcuttur. Literatürde yer alan olgular ile birlikte olgularımızdaki paternlere baktığımızda ALK RHK'a özgü bir patern olmadığı görülmektedir. Ancak olgu 1'de izlenen tümör içinde nonneoplastik glomerüllerin yer aldığı görülmüştür. Literatürde böyle bir morfolojik bulguya rastlanmadı. ALK-RHK'ların sayıları arttıkça morfolojinin bu açından değerlendirilmesinin anlamı olabileceği düşüncesindeyiz.

Önceki çalışmalarda ALK rearanjmanı gösteren olguların 13'üsınıflandırılamayan RHK, 7'si PRHK, 2'si mit translokasyonu gösteren RHK, 1'i renal medüller karsinom, 1'inde müsinöz tübüler ve iğsi hücreli renal hücreli karsinom tanısı almış olup 8 olgu primer ALK-RHK olarak saptanmıştır [4], [6], [148]–[151], [8], [138], [141], [142], [144]–[147]. Bizim çalışmamızda immunohistokimyasal olarak ALK pozitifliği izlenen olgulardan 2'si BHRHK, 3'ü

PDF Eraser Free

KRHK, 1'i PRHK-2 ve 2'si RHK, sınıflandırılamayan morfolojisinde iken FISH ile ayrılma gösteren 3 olgu BHRHK, PRHK-2 ve KRHK morfolojisindedir.

ALK immunohistokimyası füzyon tipine göre sitoplazmik, sitoplazmik-nükleer, perinükleer-sitoplazmik veya nükleer membran boyanması gösterebilmektedir[134]–[136]. ALK-RHK'ların taramasında immunohistokimyanın kullanılması, doğrulamada FISH veya sekanslama metodlarının kullanılması önerilmektedir[2]. Çoğu ALK-RHK olgusu diffüz sitoplazmik ve membranöz ekspresyon göstermektedir [4]. Diğer immunohistokimyasal bulgular spesifik olmamakla birlikte ALK-RHK'larPAX8, CK7, 34βE12, AMACR ve vimentin ile pozitif olup MelanA, HMB45, S100, Katepsin K, CK20 ve GATA-3 negatiftir[3], [4], [146], [152]. Bazı olgularda TFE-3 immunreaksiyonu saptanmış olup bu olgular FISH ile TFE-3 rearanjmanı göstermemektedir[4], [142], [146], [148]. Bizim çalışmamızda ALK immunohistokimyasal boyaması ile pozitif bulunan olguların 4 (%50) 'ü perinükleer, 3 (%37.5) 'ü sitoplazmik, 1 (%12.5) 'i membranöz paternde boyanmıştır. FISH ile pozitiflik gösteren olgulardan BHRHK morfolojisindeki Olgu-1'de perinükleer, PRHK-2 morfolojisi izlenen kistik gelişim gösteren Olgu-2'de zayıf sitoplazmik, KRHK morfolojisine sahip Olgu-3'te ise membranöz boyanma izlenmiştir. Çalışmamızda ek immunohistokimyasal çalışma yapılmamış olup tanı sürecinde yapılan immunboyamalar kullanılmıştır. Olgu-1'de immunhistokimya kullanılmamıştır. Olgu-2'de tümörAMACR, vimentin, CD10 pozitif olup TFE-3 yamasal boyanma göstermektedir. Tümör hücreleri CK7, MelanA, EMA, HMB45 negatiftir. Olgu-3'te ise tümörde CK7 pozitif olup CD117, CD10, RCC negatif boyanmıştır. İmmunohistokimyasal olarak ALK pozitif boyanan olgular haricindeki olgulara FISH çalışılmamıştır. İmmunohistokimyasal olarak ALK negatif olan olgularda FISH pozitifliği olup olmadığı bilinmemektedir.

Önceki çalışmalarda ALK-RHK'larda VCL, TPM-3, EML4, STRN ve HOOK genlerinin ALK ile füzyonu gösterilmiştir[6], [8], [149]–[151], [138], [141], [142], [144]–[148]. Bir çalışmada PLEKHA7 geni ile füzyon gösterilmiştir [153]. Yakın zamanda çoklu merkezli bir çalışmada mevcut gen partnerlerine ek olarak ALK geninin CLIP1, KIF5B ve KIAA1217 genleri ile füzyonu ortaya konmuştur [4]. Bizim çalışmamızda sekanslama metodu kullanılmadığından gen füzyon partnerleri saptanamamıştır.

Berrak hücreli RHK'lar, berrak hücreli dışı RHK'lara göre daha kötü seyirlidir. Berrak hücreli dışı RHK'lar, berrak hücreli RHK'lardan genomik olarak farklı ve heterojen bir grup olsa da tedavi stratejisi benzerdir [154]. Alectinib ve crizotinib gibi ALK inhibitörleri ALK rearanjmanı gösteren böbrek dışı tümörlerde, özellikle küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, standart olarak kullanılmaktadır. Bu durum ALK-RHK'larda da ALK inhibitörlerinin etkin olma

PDF Eraser Free

ihtimalini doğurmaktadır. Pal ve ark. ALK rearanjmanı (EML4-ALK füzyonu) gösteren metastatik papiller RHK tanısı almış, alectinib ile tedavi edilmiş 3 hastada kısa dönemde klinik ve radyolojik olarak tedaviye yanıt verdiğini göstermiştir[138]. Bir diğer çalışmada VCL-ALK füzyonu gösteren evre 3, yüksek nükleer dereceli ALK-RHK olgusunda Entrectinib ile tedavi sonrası 19 aylık takipte olumlu yanıt alındığı belirtilmiştir [154]. Standart tedavi alan ileri derece berrak hücreli dışı RHK'larda progresyonsuz sağ-kalım 6. 4 ile 10. 6 ay arasında değişmektedir[155]–[158]. ALK-RHK'larda olumlu sonuçların elde edilmesi histolojik subtipten bağımsız olarak ALK rearanjmanı gösteren olgularda potansiyel hedef yönelik tedavi seçeneği ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda 3 ALK-RHK olgusu tanımlanmıştır. ALK-RHK'ların farklıtümör subtiplerine görülebildiği ve değişken histomorfoloji sergilediği görülmektedir. ALK-RHK tanı sürecinde immunohistokimya ile taramanın yanında tanının FISH ve dizileme yöntemleri ile doğrulanması gerekmektedir. Çalışmamız ALK-RHK üzerine Türkiye'de yapılan ilk çalışmadır. Çalışmamızın tümörünTürkiye'deki sıklığı hakkında fikir verebileceği düşüncesindeyiz.

PDF Eraser Free

6. SONUÇ

- Çalışmamıza 276 olgu dahil edilmiştir. Olguların 170 (%62) 'i erkek, 106'sı (%38) kadındır. Tüm hastaların yaş ortalaması 61. 3 (29-92) 'tür.
- Olguların 8 (%2.9) 'i ALK immunohistokimyası ile pozitif, 268 (%97.1) 'i negatif boyanmıştır. ALK ile boyanan tümörlerin 4'ü erkek, 4'ü kadındır. ALK ile boyanma gösteren olguların ortalama yaşı59. 3 (38-78) 'tür. ALK ile boyanma gösteren olgulardan 2 (%25) 'i ölü, 6 (%75) 'sı sağdır. ALK pozitif olgularda ortalama sağ kalım 34 (4-69) ay iken negatif olgularda ortalama sağ kalım 48. 7 (1-114) aydır.
- ALK ile pozitif boyanan olguların 4 (%50) 'ü perinükleer, 3 (%37. 5) 'ü sitoplazmik, 1 (%12.5) 'i membranöz paternde boyanmıştır. ALK ile boyanan olguların 2 (%25) 'i BHRHK, 3 (%37.5) 'i KRHK, 1 (%12.5) 'i PRHK-2 ve 2 (%25) 'si RHK, sınıflandırılamayan morfolojisindedir. KRHK morfolojisi dışındaki RHK'lardan 1'i nükleer derece 2, 3'ü nükleer derece 3, 1'i derece 4'tür. ALK pozitif olguların 3'ünde perirenal invazyon, 2'sinde lenfovasküler invazyon izlenmiş olup 3 olguda nekroz mevcuttur.
- İmmunohistokimyasal olarak ALK ile pozitif boyanan olgulara uygulanan FISH çalışmada 3 olguda %15'in üzerinde (%21, %20 ve %18 oranlarında) ayırlma (break apart) izlenmiştir. Olgular BHRHK (Olgu 1), KRHK (Olgu 2) ve kistik PRHK (Olgu 3) morfolojisindedir. Tümörlerden KRHK olgusu dışındaki diğer iki olgu nükleer derece 3'tür. Ortalama tümör çapı 6.2 (3.2-11) cm'dir. Sadece bir tümörde perirenal invazyon, lenfovasküler invazyonve nekroz izlenmiştir.
- ALK-RHK, farklıtümör subtiplerine görülmekle birlikte belirgin bir histomorfolojik patern sergilememektedir. Bu bulgu literatür ile uyumludur. Ancak çalışmamızda literatürden farklı olaraktümör içinde korunmuş glomerülasyon gösteren olgu mevcuttur.
- ALK-RHK tanı sürecinde immunohistokimya ile taramanın yanında tanının FISH ve dizileme yöntemleri ile doğrulanması gerekmektedir.
- Çalışmamız ALK-RHK üzerine Türkiye'de yapılan ilk çalışmadır. Çalışmamızın tümörünTürkiye'deki sıklığı hakkında fikir verebileceği düşünülmektedir. Benzer geniş örneklemli çalışmalarla bulguların tekrarlanması faydalı olacaktır.
- Tüm olgularda FISH uygulanmamış olması bu çalışmanın kısıtlı yönlerinden birisidir. İmmünohistokimya ile uyumunun denetlenmesi de gerekmektedir.
- ALK-RHK'ların önceki çalışmalarda kötü seyir gösterebildiği düşünülmektedir. Bunun yanında ALK inhibitörleri ile tedavi edilen ALK-RHK'larda tedaviye olumlu yanıt aldındığını gösteren çalışmaların olması, ALK inhibitörlerinin ALK-RHK'larda da hedefe yönelik tedavi seçeneği olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. ALK pozitifliğinin tüm RHK

PDF Eraser Free

alt türlerinde görülmesi nedeni ile adjuvan tedavi gereken olgularda morfolojisi ne olursa olsun ALK translokasyonuna bakılması, bu olguların hedefe yönelik tedavi şansına sahip olmasını sağlayacaktır.

PDF Eraser Free

KAYNAKLAR

[1] H. Moch, P. A. Humprey, T. M. Ulbright, and V. E. Reuter, *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*, 4th ed. 2016.

[2] S. R. Williamson *et al.*, "Report From the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference on Molecular Pathology of Urogenital Cancers: III: Molecular Pathology of Kidney Cancer.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 44, no. 7, pp. e47–e65, Jul. 2020, doi: 10.1097/PAS.0000000000001476.

[3] F. Siadat and K. Trpkov, "ESC, ALK, HOT and LOT: Three Letter Acronyms of Emerging Renal Entities Knocking on the Door of the WHO Classification.," *Cancers (Basel).*, vol. 12, no. 1, Jan. 2020, doi: 10.3390/cancers12010168.

[4] N. Kuroda *et al.*, "ALK rearranged renal cell carcinoma (ALK-RCC): a multi-institutional study of twelve cases with identification of novel partner genes CLIP1, KIF5B and KIAA1217," *Mod. Pathol.*, vol. 33, no. 12, pp. 2564–2579, 2020, doi: 10.1038/s41379-020-0578-0.

[5] W. R. Sukov *et al.*, "ALK alterations in adult renal cell carcinoma: frequency, clinicopathologic features and outcome in a large series of consecutively treated patients.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 25, no. 11, pp. 1516–1525, Nov. 2012, doi: 10.1038/modpathol.2012.107.

[6] H. Kusano *et al.*, "Two Cases of Renal Cell Carcinoma Harboring a Novel STRN-ALK Fusion Gene.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 40, no. 6, pp. 761–769, Jun. 2016, doi: 10.1097/PAS.0000000000000610.

[7] E. Sugawara *et al.*, "Identification of anaplastic lymphoma kinase fusions in renal cancer: large-scale immunohistochemical screening by the intercalated antibody-enhanced polymer method.," *Cancer*, vol. 118, no. 18, pp. 4427–4436, Sep. 2012, doi: 10.1002/cncr.27391.

[8] W. Yu, Y. Wang, Y. Jiang, W. Zhang, and Y. Li, "Genetic analysis and clinicopathological features of ALK-rearranged renal cell carcinoma in a large series of resected Chinese renal cell carcinoma patients and literature review.," *Histopathology*, vol. 71, no. 1, pp. 53–62, Jul. 2017, doi: 10.1111/his.13185.

[9] L. Cheng, G. T. Maclennan, and D. G. Bostwick, *UROLOGIC SURGICAL PATHOLOGY*, 4th ed. 2020.

[10] R. L. Drake, A. wayne Vogl, and A. W. M. Mitchell, *Gray's Anatomy*, 4th ed. 2020.

[11] K. Yörükoğlu and B. Tuna, *Üropatoloji*. 2016.

[12] "Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization.," 2021.

[13] F. Kara and B. Keskinkılıç, "TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ 2016," p. 35, 2019.

[14] B. Ljungberg *et al.*, "The epidemiology of renal cell carcinoma.," *Eur. Urol.*, vol.

PDF Eraser Free

60, no. 4, pp. 615–621, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.eururo.2011.06.049.

[15] A. G. Renehan, M. Tyson, M. Egger, R. F. Heller, and M. Zwahlen, “Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies.,” *Lancet (London, England)*, vol. 371, no. 9612, pp. 569–578, Feb. 2008, doi: 10.1016/S0140-6736(08)60269-X.

[16] A. G. Renehan *et al.*, “Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries.,” *Int. J. cancer*, vol. 126, no. 3, pp. 692–702, Feb. 2010, doi: 10.1002/ijc.24803.

[17] E. Cho, H.-O. Adami, and P. Lindblad, “Epidemiology of renal cell cancer.,” *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, vol. 25, no. 4, pp. 651–665, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.hoc.2011.04.002.

[18] J. D. Hunt, O. L. van der Hel, G. P. McMillan, P. Boffetta, and P. Brennan, “Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies.,” *Int. J. cancer*, vol. 114, no. 1, pp. 101–108, Mar. 2005, doi: 10.1002/ijc.20618.

[19] S. Weikert *et al.*, “Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European prospective investigation into cancer and nutrition.,” *Am. J. Epidemiol.*, vol. 167, no. 4, pp. 438–446, Feb. 2008, doi: 10.1093/aje/kwm321.

[20] M. D. Denton *et al.*, “Prevalence of renal cell carcinoma in patients with ESRD pre-transplantation: a pathologic analysis.,” *Kidney Int.*, vol. 61, no. 6, pp. 2201–2209, Jun. 2002, doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00374.x.

[21] C. S. Scott and J. Jinot, “Trichloroethylene and cancer: systematic and quantitative review of epidemiologic evidence for identifying hazards.,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 8, no. 11, pp. 4238–4272, Nov. 2011, doi: 10.3390/ijerph8114238.

[22] E. JN, S. G, E. JI, and S. IA, *World Health Organization Classification fo Tumour. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*, vol. 1. 2004.

[23] D. G. Skinner, R. B. Colvin, C. D. Vermillion, R. C. Pfister, and W. F. Leadbetter, “Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study of 309 cases.,” *Cancer*, vol. 28, no. 5, pp. 1165–1177, Nov. 1971, doi: 10.1002/1097-0142(1971)28:5<1165::aid-cncr2820280513>3.0.co;2-g.

[24] J. B. Thrasher and D. F. Paulson, “Prognostic factors in renal cancer.,” *Urol. Clin. North Am.*, vol. 20, no. 2, pp. 247–262, May 1993.

[25] M. B. Amin, Ed., *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed. 2017.

[26] A. C. Wallace and R. C. Nairn, “Renal tubular antigens in kidney tumors.,” *Cancer*, vol. 29, no. 4, pp. 977–981, Apr. 1972, doi: 10.1002/1097-0142(197204)29:4<977::aid-cncr2820290444>3.0.co;2-p.

[27] S. O. Yoshida, A. Imam, C. A. Olson, and C. R. Taylor, “Proximal renal tubular surface membrane antigens identified in primary and metastatic renal cell

PDF Eraser Free

carcinomas.," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 110, no. 9, pp. 825–832, Sep. 1986.

[28] V. E. Reuter and J. C. J. Presti, "Contemporary approach to the classification of renal epithelial tumors.," *Semin. Oncol.*, vol. 27, no. 2, pp. 124–137, Apr. 2000.

[29] W. Thoenes, S. Störkel, and H. J. Rumpelt, "Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics.," *Pathol. Res. Pract.*, vol. 181, no. 2, pp. 125–143, May 1986, doi: 10.1016/S0344-0338(86)80001-2.

[30] E. Bruder *et al.*, "Morphologic and molecular characterization of renal cell carcinoma in children and young adults," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 28, no. 9, p. 1117—1132, 2004, doi: 10.1097/01.pas.0000131558.32412.40.

[31] A. Jemal, R. Siegel, E. Ward, T. Murray, J. Xu, and M. J. Thun, "Cancer Statistics, 2007," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 57, no. 1, pp. 43–66, 2007, doi: https://doi.org/10.3322/canjclin.57.1.43.

[32] S. M. Bonsib, "Renal veins and venous extension in clear cell renal cell carcinoma.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 20, no. 1, pp. 44–53, Jan. 2007, doi: 10.1038/modpathol.3800726.

[33] S. M. Bonsib, "The renal sinus is the principal invasive pathway: a prospective study of 100 renal cell carcinomas.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 28, no. 12, pp. 1594–1600, Dec. 2004, doi: 10.1097/00000478-200412000-00007.

[34] A. E. Parker, "Studies on the main posterior lymph channels of the abdomen and their connections with the lymphatics of the genito-urinary system," *Am. J. Anat.*, vol. 56, no. 3, pp. 409–443, 1935, doi: https://doi.org/10.1002/aja.1000560305.

[35] L. Wyler *et al.*, "Brain metastasis in renal cancer patients: metastatic pattern, tumour-associated macrophages and chemokine/chemoreceptor expression.," *Br. J. Cancer*, vol. 110, no. 3, pp. 686–694, Feb. 2014, doi: 10.1038/bjc.2013.755.

[36] L. Weiss *et al.*, "Metastatic patterns of renal carcinoma: an analysis of 687 necropsies.," *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, vol. 114, no. 6, pp. 605–612, 1988, doi: 10.1007/BF00398185.

[37] H. P. Neumann *et al.*, "Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma.," *J. Urol.*, vol. 160, no. 4, pp. 1248–1254, Oct. 1998.

[38] M. de Peralta-Venturina *et al.*, "Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 25, no. 3, pp. 275–284, Mar. 2001, doi: 10.1097/00000478-200103000-00001.

[39] A. R. Sangoi, J. Karamchandani, J. Kim, R. K. Pai, and J. K. McKenney, "The use of immunohistochemistry in the diagnosis of metastatic clear cell renal cell carcinoma: a review of PAX-8, PAX-2, hKIM-1, RCCma, and CD10.," *Adv. Anat. Pathol.*, vol. 17, no. 6, pp. 377–393, Nov. 2010, doi: 10.1097/PAP.0b013e3181f89400.

PDF Eraser Free

[40] A. R. Sangoi *et al.*, “Immunohistochemical distinction of primary adrenal cortical lesions from metastatic clear cell renal cell carcinoma: a study of 248 cases.,” *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 35, no. 5, pp. 678–686, May 2011, doi: 10.1097/PAS.0b013e3182152629.

[41] R. Gupta *et al.*, “Diagnostic implications of transcription factor Pax 2 protein and transmembrane enzyme complex carbonic anhydrase IX immunoreactivity in adult renal epithelial neoplasms.,” *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 33, no. 2, pp. 241–247, Feb. 2009, doi: 10.1097/PAS.0b013e318181b828.

[42] A. B. Stillebroer, P. F. A. Mulders, O. C. Boerman, W. J. G. Oyen, and E. Oosterwijk, “Carbonic anhydrase IX in renal cell carcinoma: implications for prognosis, diagnosis, and therapy.,” *Eur. Urol.*, vol. 58, no. 1, pp. 75–83, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.eururo.2010.03.015.

[43] P. H. Tan *et al.*, “Renal tumors: diagnostic and prognostic biomarkers.,” *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 37, no. 10, pp. 1518–1531, Oct. 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f12e.

[44] S. S. Shen, L. D. Truong, M. Scarpelli, and A. Lopez-Beltran, “Role of immunohistochemistry in diagnosing renal neoplasms: when is it really useful?,” *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 136, no. 4, pp. 410–417, Apr. 2012, doi: 10.5858/arpa.2011-0472-RA.

[45] V. E. Reuter and S. K. Tickoo, “Differential diagnosis of renal tumours with clear cell histology.,” *Pathology*, vol. 42, no. 4, pp. 374–383, Jun. 2010, doi: 10.3109/00313021003785746.

[46] H. Moch *et al.*, “Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization are associated with clinical outcome in renal cell carcinoma.,” *Cancer Res.*, vol. 56, no. 1, pp. 27–30, Jan. 1996.

[47] J. G. Herman *et al.*, “Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 91, no. 21, pp. 9700–9704, Oct. 1994, doi: 10.1073/pnas.91.21.9700.

[48] J. R. Gnarra *et al.*, “Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma.,” *Nat. Genet.*, vol. 7, no. 1, pp. 85–90, May 1994, doi: 10.1038/ng0594-85.

[49] P. Anglard *et al.*, “Molecular analysis of genetic changes in the origin and development of renal cell carcinoma.,” *Cancer Res.*, vol. 51, no. 4, pp. 1071–1077, Feb. 1991.

[50] M. Velickovic, B. Delahunt, S. Störkel, and S. K. Grebem, “VHL and FHIT locus loss of heterozygosity is common in all renal cancer morphotypes but differs in pattern and prognostic significance.,” *Cancer Res.*, vol. 61, no. 12, pp. 4815–4819, Jun. 2001.

[51] F. Sükösd, N. Kuroda, T. Beothe, A. P. Kaur, and G. Kovacs, “Deletion of chromosome 3p14.2-p25 involving the VHL and FHIT genes in conventional renal

PDF Eraser Free

cell carcinoma.," *Cancer Res.*, vol. 63, no. 2, pp. 455–457, Jan. 2003.

[52] C. J. Ricketts *et al.*, "Succinate dehydrogenase kidney cancer: an aggressive example of the Warburg effect in cancer.," *J. Urol.*, vol. 188, no. 6, pp. 2063–2071, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.juro.2012.08.030.

[53] P. B. Crino, K. L. Nathanson, and E. P. Henske, "The tuberous sclerosis complex," *N. Engl. J. Med.*, vol. 355, no. 13, p. 1345—1356, 2006, doi: 10.1056/nejmra055323.

[54] C. P. Pavlovich *et al.*, "Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 26, no. 12, pp. 1542–1552, Dec. 2002, doi: 10.1097/00000478-200212000-00002.

[55] B. Delahunt, "Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 22 Suppl 2, pp. S24-36, Jun. 2009, doi: 10.1038/modpathol.2008.183.

[56] K. Trpkov *et al.*, "Handling and staging of renal cell carcinoma: the International Society of Urological Pathology Consensus (ISUP) conference recommendations.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 37, no. 10, pp. 1505–1517, Oct. 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e31829a85d0.

[57] B. Delahunt *et al.*, "The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 37, no. 10, pp. 1490–1504, Oct. 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f0fb.

[58] H. Moch, T. Gasser, M. B. Amin, J. Torhorst, G. Sauter, and M. J. Mihatsch, "Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors.," *Cancer*, vol. 89, no. 3, pp. 604–614, Aug. 2000.

[59] J. R. Srigley *et al.*, "The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 37, no. 10, pp. 1469–1489, Oct. 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e318299f2d1.

[60] S. K. Tickoo *et al.*, "Spectrum of epithelial neoplasms in end-stage renal disease: an experience from 66 tumor-bearing kidneys with emphasis on histologic patterns distinct from those in sporadic adult renal neoplasia.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 30, no. 2, pp. 141–153, Feb. 2006, doi: 10.1097/01.pas.0000185382.80844.b1.

[61] D. J. Grignon and J. N. Eble, "Papillary and metanephric adenomas of the kidney.," *Semin. Diagn. Pathol.*, vol. 15, no. 1, pp. 41–53, Feb. 1998.

[62] B. Zbar *et al.*, "Hereditary papillary renal cell carcinoma.," *J. Urol.*, vol. 151, no. 3, pp. 561–566, Mar. 1994, doi: 10.1016/s0022-5347(17)35015-2.

[63] M. Hora *et al.*, "Rupture of papillary renal cell carcinoma.," *Scand. J. Urol. Nephrol.*, vol. 38, no. 6, pp. 481–484, 2004, doi: 10.1080/00365590410018648.

[64] T. Gudbjartsson, S. Hardarson, V. Petursdottir, A. Thoroddsen, J. Magnusson, and

PDF Eraser Free

G. V Einarsson, “Histological subtyping and nuclear grading of renal cell carcinoma and their implications for survival: a retrospective nation-wide study of 629 patients.,” *Eur. Urol.*, vol. 48, no. 4, pp. 593–600, Oct. 2005, doi: 10.1016/j.eururo.2005.04.016.

[65] M. B. Amin *et al.*, “Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases.,” *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 26, no. 3, pp. 281–291, Mar. 2002, doi: 10.1097/00000478-200203000-00001.

[66] B. Delahunt and J. N. Eble, “Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors.,” *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 10, no. 6, pp. 537–544, Jun. 1997.

[67] M. T. del Vecchio, S. Lazzi, A. Bruni, P. Mangiavacchi, G. Cevenini, and P. Luzi, “DNA ploidy pattern in papillary renal cell carcinoma. Correlation with clinicopathological parameters and survival.,” *Pathol. Res. Pract.*, vol. 194, no. 5, pp. 325–333, 1998, doi: 10.1016/S0344-0338(98)80056-3.

[68] A. A. Renshaw, H. Zhang, C. L. Corless, J. A. Fletcher, and M. R. Pins, “Solid variants of papillary (chromophil) renal cell carcinoma: clinicopathologic and genetic features.,” *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 21, no. 10, pp. 1203–1209, Oct. 1997, doi: 10.1097/00000478-199710000-00011.

[69] K. Trpkov *et al.*, “New developments in existing WHO entities and evolving molecular concepts: The Genitourinary Pathology Society (GUPS) update on renal neoplasia.,” *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 34, no. 7, pp. 1392–1424, Jul. 2021, doi: 10.1038/s41379-021-00779-w.

[70] B. Delahunt, J. N. Eble, M. R. McCredie, P. B. Bethwaite, J. H. Stewart, and A. M. Bilous, “Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases.,” *Hum. Pathol.*, vol. 32, no. 6, pp. 590–595, Jun. 2001, doi: 10.1053/hupa.2001.24984.

[71] L. P. Kunju, K. Wojno, J. S. J. Wolf, L. Cheng, and R. B. Shah, “Papillary renal cell carcinoma with oncocytic cells and nonoverlapping low grade nuclei: expanding the morphologic spectrum with emphasis on clinicopathologic, immunohistochemical and molecular features.,” *Hum. Pathol.*, vol. 39, no. 1, pp. 96–101, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.humpath.2007.05.016.

[72] B.-H. Park *et al.*, “Oncocytic papillary renal cell carcinoma with inverted nuclear pattern: distinct subtype with an indolent clinical course.,” *Pathol. Int.*, vol. 59, no. 3, pp. 137–146, Mar. 2009, doi: 10.1111/j.1440-1827.2009.02341.x.

[73] R. M. Saleeb *et al.*, “Integrated Phenotypic/Genotypic Analysis of Papillary Renal Cell Carcinoma Subtypes: Identification of Prognostic Markers, Cancer-related Pathways, and Implications for Therapy.,” *Eur. Urol. Focus*, vol. 4, no. 5, pp. 740–748, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.euf.2016.09.002.

[74] M. Brunelli, J. N. Eble, S. Zhang, G. Martignoni, and L. Cheng, “Gains of chromosomes 7, 17, 12, 16, and 20 and loss of Y occur early in the evolution of papillary renal cell neoplasia: a fluorescent in situ hybridization study.,” *Mod.*

PDF Eraser Free

Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc, vol. 16, no. 10, pp. 1053–1059, Oct. 2003, doi: 10.1097/01.MP.0000090924.90762.94.

[75] W. M. Linehan *et al.*, "Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 374, no. 2, pp. 135–145, Jan. 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1505917.

[76] M. Chevarie-Davis *et al.*, "The morphologic and immunohistochemical spectrum of papillary renal cell carcinoma: study including 132 cases with pure type 1 and type 2 morphology as well as tumors with overlapping features.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 38, no. 7, pp. 887–894, Jul. 2014, doi: 10.1097/PAS.0000000000000247.

[77] T. Klatte *et al.*, "Cytogenetic and molecular tumor profiling for type 1 and type 2 papillary renal cell carcinoma.," *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, vol. 15, no. 4, pp. 1162–1169, Feb. 2009, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1229.

[78] A. Marsaud *et al.*, "Dismantling papillary renal cell carcinoma classification: The heterogeneity of genetic profiles suggests several independent diseases.," *Genes. Chromosomes Cancer*, vol. 54, no. 6, pp. 369–382, Jun. 2015, doi: 10.1002/gcc.22248.

[79] X. J. Yang *et al.*, "A molecular classification of papillary renal cell carcinoma.," *Cancer Res.*, vol. 65, no. 13, pp. 5628–5637, Jul. 2005, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0533.

[80] M. J. Merino, C. Torres-Cabala, P. Pinto, and W. M. Linehan, "The morphologic spectrum of kidney tumors in hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma (HLRCC) syndrome.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 31, no. 10, pp. 1578–1585, Oct. 2007, doi: 10.1097/PAS.0b013e31804375b8.

[81] V. Launonen *et al.*, "Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, no. 6, pp. 3387–3392, Mar. 2001, doi: 10.1073/pnas.051633798.

[82] M. Kiuru *et al.*, "Familial cutaneous leiomyomatosis is a two-hit condition associated with renal cell cancer of characteristic histopathology.," *Am. J. Pathol.*, vol. 159, no. 3, pp. 825–829, Sep. 2001, doi: 10.1016/S0002-9440(10)61757-9.

[83] I. P. M. Tomlinson *et al.*, "Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer.," *Nat. Genet.*, vol. 30, no. 4, pp. 406–410, Apr. 2002, doi: 10.1038/ng849.

[84] R. L. 3rd Grubb *et al.*, "Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: a syndrome associated with an aggressive form of inherited renal cancer.," *J. Urol.*, vol. 177, no. 6, pp. 2074–2080, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.juro.2007.01.155.

[85] M. B. Amin *et al.*, "Chromophobe renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 145 cases.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 32, no. 12, pp. 1822–1834, Dec. 2008, doi: 10.1097/PAS.0b013e3181831e68.

PDF Eraser Free

[86] J. C. Cheville, C. M. Lohse, W. R. Sukov, R. H. Thompson, and B. C. Leibovich, "Chromophobe renal cell carcinoma: the impact of tumor grade on outcome.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 36, no. 6, pp. 851–856, Jun. 2012, doi: 10.1097/PAS.0b013e3182496895.

[87] D. S. Finley *et al.*, "The chromophobe tumor grading system is the preferred grading scheme for chromophobe renal cell carcinoma.," *J. Urol.*, vol. 186, no. 6, pp. 2168–2174, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.juro.2011.07.068.

[88] C. G. Przybycin *et al.*, "Chromophobe renal cell carcinoma: a clinicopathologic study of 203 tumors in 200 patients with primary resection at a single institution.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 35, no. 7, pp. 962–970, Jul. 2011, doi: 10.1097/PAS.0b013e31821a455d.

[89] W. Thoenes, S. Störkel, H. J. Rumpelt, R. Moll, H. P. Baum, and S. Werner, "Chromophobe cell renal carcinoma and its variants--a report on 32 cases.," *J. Pathol.*, vol. 155, no. 4, pp. 277–287, Aug. 1988, doi: 10.1002/path.1711550402.

[90] C. P. Pavlovich *et al.*, "Evaluation and management of renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome.," *J. Urol.*, vol. 173, no. 5, pp. 1482–1486, May 2005, doi: 10.1097/01.ju.0000154629.45832.30.

[91] S. K. Tickoo *et al.*, "Renal oncocytosis: a morphologic study of fourteen cases.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 23, no. 9, pp. 1094–1101, Sep. 1999, doi: 10.1097/00000478-199909000-00013.

[92] J. L. Wright, M. C. Risk, J. Hotaling, and D. W. Lin, "Effect of collecting duct histology on renal cell cancer outcome.," *J. Urol.*, vol. 182, no. 6, pp. 2595–2599, Dec. 2009, doi: 10.1016/j.juro.2009.08.049.

[93] N. Tokuda, S. Naito, O. Matsuzaki, Y. Nagashima, S. Ozono, and T. Igarashi, "Collecting duct (Bellini duct) renal cell carcinoma: a nationwide survey in Japan.," *J. Urol.*, vol. 176, no. 1, pp. 40–3; discussion 43, Jul. 2006, doi: 10.1016/S0022-5347(06)00502-7.

[94] M. May *et al.*, "Impact of clinical and histopathological parameters on disease specific survival in patients with collecting duct renal cell carcinoma: development of a disease specific risk model.," *J. Urol.*, vol. 190, no. 2, pp. 458–463, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.juro.2013.02.035.

[95] S. Fleming and H. J. Lewi, "Collecting duct carcinoma of the kidney.," *Histopathology*, vol. 10, no. 11, pp. 1131–1141, Nov. 1986, doi: 10.1111/j.1365-2559.1986.tb02553.x.

[96] S. M. Kennedy, M. J. Merino, W. M. Linehan, J. R. Roberts, C. N. Robertson, and R. D. Neumann, "Collecting duct carcinoma of the kidney.," *Hum. Pathol.*, vol. 21, no. 4, pp. 449–456, Apr. 1990, doi: 10.1016/0046-8177(90)90209-n.

[97] J. Amin, Mahul B.; Eble, John; Grignon, David; Srigley, *Urological Pathology*, 1st Ed. Lippincott Williams & Wilkins (LWW), 2013.

PDF Eraser Free

[98] Q. Liu, S. Galli, R. Srinivasan, W. M. Linehan, M. Tsokos, and M. J. Merino, "Renal medullary carcinoma: molecular, immunohistochemistry, and morphologic correlation.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 37, no. 3, pp. 368–374, Mar. 2013, doi: 10.1097/PAS.0b013e3182770406.

[99] P. Rao, N. M. Tannir, and P. Tamboli, "Expression of OCT3/4 in renal medullary carcinoma represents a potential diagnostic pitfall.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 36, no. 4, pp. 583–588, Apr. 2012, doi: 10.1097/PAS.0b013e3182417d78.

[100] M. C. Maroja Silvino, C. M. Venchiarutti Moniz, G. H. Munhoz Piotto, S. Siqueira, A. Galapo Kann, and C. Dzik, "Renal medullary carcinoma response to chemotherapy: a referral center experience in Brazil.," *Rare tumors*, vol. 5, no. 3. p. e44, 2013. doi: 10.4081/rt.2013.e44.

[101] Y. Komai *et al.*, "Adult Xp11 translocation renal cell carcinoma diagnosed by cytogenetics and immunohistochemistry.," *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, vol. 15, no. 4, pp. 1170–1176, Feb. 2009, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1183.

[102] P. Argani *et al.*, "Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents.," *Am. J. Pathol.*, vol. 159, no. 1, pp. 179–192, Jul. 2001, doi: 10.1016/S0002-9440(10)61684-7.

[103] P. Argani *et al.*, "PRCC-TFE3 renal carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with the t(X;1)(p11.2;q21).," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 26, no. 12, pp. 1553–1566, Dec. 2002, doi: 10.1097/00000478-200212000-00003.

[104] P. Argani *et al.*, "Molecular confirmation of t(6;11)(p21;q12) renal cell carcinoma in archival paraffin-embedded material using a break-apart TFEB FISH assay expands its clinicopathologic spectrum.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 36, no. 10, pp. 1516–1526, Oct. 2012, doi: 10.1097/PAS.0b013e3182613d8f.

[105] P. Argani *et al.*, "Renal carcinomas with the t(6;11)(p21;q12): clinicopathologic features and demonstration of the specific alpha-TFEB gene fusion by immunohistochemistry, RT-PCR, and DNA PCR.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 29, no. 2, pp. 230–240, Feb. 2005, doi: 10.1097/01.pas.0000146007.54092.37.

[106] P. Argani *et al.*, "A distinctive pediatric renal neoplasm characterized by epithelioid morphology, basement membrane production, focal HMB45 immunoreactivity, and t(6;11)(p21.1;q12) chromosome translocation.," *Am. J. Pathol.*, vol. 158, no. 6, pp. 2089–2096, Jun. 2001, doi: 10.1016/S0002-9440(10)64680-9.

[107] P. Argani, P. Lal, B. Hutchinson, M. Y. Lui, V. E. Reuter, and M. Ladanyi, "Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 27, no. 6, pp. 750–761, Jun. 2003, doi: 10.1097/00000478-200306000-00005.

[108] S. R. Williamson *et al.*, "Succinate dehydrogenase-deficient renal cell carcinoma:

PDF Eraser Free

detailed characterization of 11 tumors defining a unique subtype of renal cell carcinoma.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 28, no. 1, pp. 80–94, Jan. 2015, doi: 10.1038/modpathol.2014.86.

[109] A. J. Gill *et al.*, "Succinate dehydrogenase (SDH)-deficient renal carcinoma: a morphologically distinct entity: a clinicopathologic series of 36 tumors from 27 patients.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 38, no. 12, pp. 1588–1602, Dec. 2014, doi: 10.1097/PAS.0000000000000292.

[110] A. J. Gill *et al.*, "Renal tumors and hereditary pheochromocytoma-paraganglioma syndrome type 4.," *The New England journal of medicine*, vol. 364, no. 9. United States, pp. 885–886, Mar. 2011. doi: 10.1056/NEJMc1012357.

[111] S. S. Shen *et al.*, "Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of kidney is probably a variant of papillary renal cell carcinoma with spindle cell features.," *Ann. Diagn. Pathol.*, vol. 11, no. 1, pp. 13–21, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.anndiagpath.2006.09.005.

[112] K. Thway, J. du Parcq, J. M. G. Larkin, C. Fisher, and N. Livni, "Metastatic renal mucinous tubular and spindle cell carcinoma. Atypical behavior of a rare, morphologically bland tumor.," *Ann. Diagn. Pathol.*, vol. 16, no. 5, pp. 407–410, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.anndiagpath.2011.04.001.

[113] N. Pillay, P. K. Ramdial, K. Cooper, and D. Batuule, "Mucinous tubular and spindle cell carcinoma with aggressive histomorphology--a sarcomatoid variant.," *Hum. Pathol.*, vol. 39, no. 6, pp. 966–969, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.humpath.2007.10.006.

[114] S. Bulimbasic *et al.*, "Aggressive high-grade mucinous tubular and spindle cell carcinoma.," *Human pathology*, vol. 40, no. 6. United States, pp. 906–907, Jun. 2009. doi: 10.1016/j.humpath.2009.03.004.

[115] N. Kuroda *et al.*, "Mucinous tubular and spindle cell carcinoma with Fuhrman nuclear grade 3: a histological, immunohistochemical, ultrastructural and FISH study.," *Histol. Histopathol.*, vol. 23, no. 12, pp. 1517–1523, Dec. 2008, doi: 10.14670/HH-23.1517.

[116] J. Dhillon, M. B. Amin, E. Selbs, G. K. Turi, G. P. Paner, and V. E. Reuter, "Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with sarcomatoid change.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 33, no. 1, pp. 44–49, Jan. 2009, doi: 10.1097/PAS.0b013e3181829ed5.

[117] R. A. Simon *et al.*, "Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with sarcomatoid differentiation.," *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, vol. 1, no. 2, pp. 180–184, Jan. 2008.

[118] M. B. Amin *et al.*, "Tubulocystic carcinoma of the kidney: clinicopathologic analysis of 31 cases of a distinctive rare subtype of renal cell carcinoma.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 33, no. 3, pp. 384–392, Mar. 2009, doi: 10.1097/PAS.0b013e3181872d3f.

[119] N. Kuroda *et al.*, "Review of tubulocystic carcinoma of the kidney with focus on

PDF Eraser Free

clinical and pathobiological aspects.," *Pol. J. Pathol.*, vol. 64, no. 4, pp. 233–237, Dec. 2013, doi: 10.5114/pjp.2013.39329.

[120] S. Azoulay *et al.*, "Tubulocystic carcinoma of the kidney: a new entity among renal tumors.," *Virchows Arch.*, vol. 451, no. 5, pp. 905–909, Nov. 2007, doi: 10.1007/s00428-007-0483-7.

[121] J. S. Bhullar, T. Thamboo, and K. Esuvaranathan, "Unique case of tubulocystic carcinoma of the kidney with sarcomatoid features: a new entity.," *Urology*, vol. 78, no. 5, pp. 1071–1072, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.urology.2011.01.038.

[122] M. A. A. M. Nouh *et al.*, "Renal cell carcinoma in patients with end-stage renal disease: relationship between histological type and duration of dialysis.," *BJU Int.*, vol. 105, no. 5, pp. 620–627, Mar. 2010, doi: 10.1111/j.1464-410X.2009.08817.x.

[123] Y. Enoki, G. Katoh, H. Okabe, and A. Yanagisawa, "Clinicopathological features and CD57 expression in renal cell carcinoma in acquired cystic disease of the kidneys: with special emphasis on a relation to the duration of haemodialysis, the degree of calcium oxalate deposition, histological type, and pos," *Histopathology*, vol. 56, no. 3, pp. 384–394, Feb. 2010, doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03480.x.

[124] P. Cossu-Rocca, J. N. Eble, S. Zhang, G. Martignoni, M. Brunelli, and L. Cheng, "Acquired cystic disease-associated renal tumors: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 19, no. 6, pp. 780–787, Jun. 2006, doi: 10.1038/modpathol.3800604.

[125] R. Bhatnagar and B. A. Alexiev, "Renal-cell carcinomas in end-stage kidneys: a clinicopathological study with emphasis on clear-cell papillary renal-cell carcinoma and acquired cystic kidney disease-associated carcinoma.," *Int. J. Surg. Pathol.*, vol. 20, no. 1, pp. 19–28, Feb. 2012, doi: 10.1177/1066896911414273.

[126] N. Kuroda *et al.*, "Acquired cystic disease-associated renal cell carcinoma with sarcomatoid change and rhabdoid features.," *Ann. Diagn. Pathol.*, vol. 15, no. 6, pp. 462–466, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.anndiagpath.2010.07.008.

[127] S. Gobbo *et al.*, "Clear cell papillary renal cell carcinoma: a distinct histopathologic and molecular genetic entity.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 32, no. 8, pp. 1239–1245, Aug. 2008, doi: 10.1097/PAS.0b013e318164bcbb.

[128] H. Aydin *et al.*, "Clear cell tubulopapillary renal cell carcinoma: a study of 36 distinctive low-grade epithelial tumors of the kidney.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 34, no. 11, pp. 1608–1621, Nov. 2010, doi: 10.1097/PAS.0b013e3181f2ee0b.

[129] H. Zhou, S. Zheng, L. D. Truong, J. Y. Ro, A. G. Ayala, and S. S. Shen, "Clear cell papillary renal cell carcinoma is the fourth most common histologic type of renal cell carcinoma in 290 consecutive nephrectomies for renal cell carcinoma.," *Hum. Pathol.*, vol. 45, no. 1, pp. 59–64, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.humpath.2013.08.004.

[130] S. R. Williamson, J. N. Eble, L. Cheng, and D. J. Grignon, "Clear cell papillary renal cell carcinoma: differential diagnosis and extended immunohistochemical

PDF Eraser Free

profile.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 26, no. 5, pp. 697–708, May 2013, doi: 10.1038/modpathol.2012.204.

[131] N. Kuroda *et al.*, "Clear cell papillary renal cell carcinoma: a review.," *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, vol. 7, no. 11, pp. 7312–7318, 2014.

[132] A. Lopez-Beltran *et al.*, "Unclassified renal cell carcinoma: a report of 56 cases.," *BJU Int.*, vol. 110, no. 6, pp. 786–793, Sep. 2012, doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.10934.x.

[133] S. W. Morris *et al.*, "Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma.," *Science*, vol. 263, no. 5151, pp. 1281–1284, Mar. 1994, doi: 10.1126/science.8122112.

[134] H. Mano, "ALKoma: a cancer subtype with a shared target.," *Cancer Discov.*, vol. 2, no. 6, pp. 495–502, Jun. 2012, doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0009.

[135] B. Hallberg and R. H. Palmer, "Mechanistic insight into ALK receptor tyrosine kinase in human cancer biology.," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 13, no. 10, pp. 685–700, Oct. 2013, doi: 10.1038/nrc3580.

[136] A. Mariño-Enríquez *et al.*, "Epithelioid inflammatory myofibroblastic sarcoma: An aggressive intra-abdominal variant of inflammatory myofibroblastic tumor with nuclear membrane or perinuclear ALK.," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 35, no. 1, pp. 135–144, Jan. 2011, doi: 10.1097/PAS.0b013e318200cfd5.

[137] T. Iwahara *et al.*, "Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system.," *Oncogene*, vol. 14, no. 4, pp. 439–449, Jan. 1997, doi: 10.1038/sj.onc.1200849.

[138] S. K. Pal *et al.*, "Responses to Alectinib in ALK-rearranged Papillary Renal Cell Carcinoma.," *European urology*, vol. 74, no. 1. Switzerland, pp. 124–128, Jul. 2018. doi: 10.1016/j.eururo.2018.03.032.

[139] A. Gorczynski *et al.*, "ALK-rearranged renal cell carcinomas in Polish population," *Pathol. - Res. Pract.*, vol. 215, no. 12, p. 152669, 2019, doi: https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152669.

[140] C. Lee, J. W. Park, J. H. Suh, K. H. Nam, and K. C. Moon, "ALK-Positive Renal Cell Carcinoma in a Large Series of Consecutively Resected Korean Renal Cell Carcinoma Patients.," *Korean J. Pathol.*, vol. 47, no. 5, pp. 452–457, Oct. 2013, doi: 10.4132/KoreanJPathol.2013.47.5.452.

[141] N. Kuroda, E. Sugawara, H. Kusano, Y. Yuba, K. Yorita, and K. Takeuchi, "A review of ALK-rearranged renal cell carcinomas with a focus on clinical and pathobiological aspects.," *Pol. J. Pathol.*, vol. 69, no. 2, pp. 109–113, 2018, doi: 10.5114/pjp.2018.76693.

[142] M. M. Cajaiba *et al.*, "ALK-rearranged renal cell carcinomas in children.," *Genes. Chromosomes Cancer*, vol. 55, no. 5, pp. 442–451, May 2016, doi: 10.1002/gcc.22346.

PDF Eraser Free

[143] K. Trpkov *et al.*, "Novel, emerging and provisional renal entities: The Genitourinary Pathology Society (GUPS) update on renal neoplasia.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41379-021-00737-6.

[144] A. Mariño-Enríquez, W.-B. Ou, C. B. Weldon, J. A. Fletcher, and A. R. Pérez-Atayde, "ALK rearrangement in sickle cell trait-associated renal medullary carcinoma.," *Genes. Chromosomes Cancer*, vol. 50, no. 3, pp. 146–153, Mar. 2011, doi: 10.1002/gcc.20839.

[145] L. V Debelenko *et al.*, "Renal cell carcinoma with novel VCL-ALK fusion: new representative of ALK-associated tumor spectrum.," *Mod. Pathol. an Off. J. United States Can. Acad. Pathol. Inc*, vol. 24, no. 3, pp. 430–442, Mar. 2011, doi: 10.1038/modpathol.2010.213.

[146] N. E. Smith *et al.*, "VCL-ALK renal cell carcinoma in children with sickle-cell trait: the eighth sickle-cell nephropathy?," *Am. J. Surg. Pathol.*, vol. 38, no. 6, pp. 858–863, Jun. 2014, doi: 10.1097/PAS.0000000000000179.

[147] M. M. Cajaiba, L. J. Jennings, D. George, and E. J. Perlman, "Expanding the spectrum of ALK-rearranged renal cell carcinomas in children: Identification of a novel HOOK1-ALK fusion transcript.," *Genes, chromosomes & cancer*, vol. 55, no. 10. pp. 814–817, Oct. 2016. doi: 10.1002/gcc.22382.

[148] P. S. Thorner, M. Shago, P. Marrano, F. Shaikh, and G. R. Somers, "TFE3-positive renal cell carcinomas are not always Xp11 translocation carcinomas: Report of a case with a TPM3-ALK translocation.," *Pathol. Res. Pract.*, vol. 212, no. 10, pp. 937–942, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.prp.2016.07.004.

[149] Y. Bodokh *et al.*, "ALK-TPM3 rearrangement in adult renal cell carcinoma: Report of a new case showing loss of chromosome 3 and literature review.," *Cancer Genet.*, vol. 221, pp. 31–37, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.cancergen.2017.11.010.

[150] J. Yang, L. Dong, H. Du, X.-B. Li, Y.-X. Liang, and G.-R. Liu, "ALK-TPM3 rearrangement in adult renal cell carcinoma: a case report and literature review.," *Diagn. Pathol.*, vol. 14, no. 1, p. 112, Oct. 2019, doi: 10.1186/s13000-019-0879-0.

[151] X.-T. Wang *et al.*, "Targeted next-generation sequencing revealed distinct clinicopathologic and molecular features of VCL-ALK RCC: A unique case from an older patient without clinical evidence of sickle cell trait.," *Pathol. Res. Pract.*, vol. 215, no. 11, p. 152651, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.prp.2019.152651.

[152] K. Trpkov and O. Hes, "New and emerging renal entities: a perspective post-WHO 2016 classification.," *Histopathology*, vol. 74, no. 1, pp. 31–59, Jan. 2019, doi: 10.1111/his.13727.

[153] J.-F. Hang, H.-J. Chung, and C.-C. Pan, "ALK-rearranged renal cell carcinoma with a novel PLEKHA7-ALK translocation and metanephric adenoma-like morphology.," *Virchows Arch.*, vol. 476, no. 6, pp. 921–929, Jun. 2020, doi: 10.1007/s00428-020-02752-5.

PDF Eraser Free

[154] J. J. Tao *et al.*, "ALK Fusions in Renal Cell Carcinoma: Response to Entrectinib," *JCO Precis. Oncol.*, no. 2, pp. 1–8, Nov. 2018, doi: 10.1200/PO.18.00185.

[155] N. M. Tannir *et al.*, "Everolimus Versus Sunitinib Prospective Evaluation in Metastatic Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma (ESPN): A Randomized Multicenter Phase 2 Trial.," *Eur. Urol.*, vol. 69, no. 5, pp. 866–874, May 2016, doi: 10.1016/j.eururo.2015.10.049.

[156] A. J. Armstrong *et al.*, "Final clinical results of a randomized phase II international trial of everolimus vs. sunitinib in patients with metastatic non-clear cell renal cell carcinoma (ASPEN).," *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, no. 15_suppl, p. 4507, May 2015, doi: 10.1200/jco.2015.33.15_suppl.4507.

[157] T. K. Choueiri *et al.*, "Efficacy of sunitinib and sorafenib in metastatic papillary and chromophobe renal cell carcinoma.," *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 26, no. 1, pp. 127–131, Jan. 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.13.3223.

[158] J.-L. Lee *et al.*, "Multicenter phase II study of sunitinib in patients with non-clear cell renal cell carcinoma.," *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 23, no. 8, pp. 2108–2114, Aug. 2012, doi: 10.1093/annonc/mdr586.

PDF Eraser Free

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı- Soyadı	Kutsal DOĞAN
Doğum yeri ve tarihi	
Uyruğu	T. C.
Yabancı dili	İngilizce
İletişim adresi	
E-posta adresi ve telefon numarası	

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2016 Nisan-	T. C. Sağlık Bakanlığı SBÜ Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Kliniği
2010-2016	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
2006-2010	Mersin Fen Lisesi
2001-2006	Mehmet Akif İlköğretim Okulu
1998-2001	Mevlüt Selami Yardım İlköğretim Okulu

III- Ünvanları

IV- Mesleki Deneyimi

Dörtyol Toplum	Pratisyen Hekim	2016-2016

PDF Eraser Free

Sağlığı Merkezi		
Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi PatolojiKliniği	Asistan Hekim	2016 Nisan -

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

1. Patoloji Dernekleri Federasyonu
2. Ankara Patoloji Derneği
3. Avrupa Patoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

2021	Dalak ve Karaciğerde Ekstramedüller Hematopoez ile Prezente Visseral Leishmaniazis Olgusu **Kutsal Doğan[1]**, Simay Bozpınar[1], Sehbal Arslankoz[1]
2020	A Signet Ring Cell Carcinoma Presented as Refractory Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Umit Yavuz Malkan[1], Murat Albayrak[1], Hacer Berna Ozturk[1], Merih Reis Aras[1], Bugra Saglam[1], **Kutsal Dogan[2]**
2020	Coexistence of Primary Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma of Thyroid andPapillary Thyroid Microcarcinomain a Background of Hashimoto's Thyroiditis Hakan DÜĞER, Murat ÇALAPKULU, Bekir UÇAN, Erman ÇAKAL, Mustafa ÖZBEK, Demet YILMAZER*, **Kutsal DOĞAN***, Muhammed Erkam SENCAR
2019	Nadir Bir Olgu: T Hücreli Prolenfositik Lösemi **Kutsal DOĞAN[1]**, Sehbal Arslankoz[1]
2019	Ampulla Vateri Tümörüne Eşlik Eden İnsidental Duodenal Gangliositik Paraganglioma **Kutsal DOĞAN[1]**, Aysun GÖKÇE[1], Demet Yılmazer[1], Mustafa Taner Bostancı[2]
2018	Nadir bir olgu: yüzeyel akral fibromiksoma **Kutsal Doğan[1]**, Demet Yılmazer[1], Ayşegül Adabağ[1]

PDF Eraser Free

VII- Diğer Bilgiler

18-19 Şubat & 18-19 Mart 2017 Ankara	6. Patoloji Kış Okulu
17-18 Şubat & 14-15 Nisan 2018 Ankara	7. Patoloji Kış Okulu
27-30 Ekim 2018 Ankara	28. Ulusal Patoloji Kongresi
23-24 Şubat & 13-14Nisan 2019 Ankara	8. Patoloji Kış Okulu
23-26 Ekim 2019 Trabzon	29. Ulusal Patoloji Kongresi
6-8 Aralık 2020 Online	32nd Congress of the ESP & XXXIII International Congress of the IAP
20-23 Mayıs 2021 Online	30. Ulusal Patoloji Kongresi

PDF Eraser Free

EKLER

EK 1. TEZ KONUSU ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 31/08/2020-E.29347

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 86241737-020
Konu : Dr. Kutsal DOĞAN' ın Tez Konusu Onayı Hk.

ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 24/08/2020 tarihli Dr. Kutsal DOĞAN' ın Tez Konusu Onayı Hk. konulu ve 28316 sayılı yazı,

Hastaneniz Tıbbi Patoloji Kliniği asistanlarından Dr. Kutsal DOĞAN'ın tez konusu onay formu ilgi yazınız ile alınmış olup, söz konusu tez çalışması Dekanlığımızca uygun görülmüştür.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Mehmet Ali GÜLÇELİK
Dekan

Adres:Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Yerleşkesi Emrah Mah. 0618 Etlik/Keçiören/ANKARA
Telefon:0 312 304 61 73 Faks:0 312 304 61 90
Elektronik Ağ:http://sbu.edu.tr

Bilgi için: Ebru Gülsüm ULUSOY
Unvanı: Sekreter

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

PDF Eraser Free

EK 2. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL ONAYI

T.C. Sağlık Bakanlığı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim ve Araştırma Hastanesi

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR TARİHİ: 19.10.2020
KARAR NO : 98/01

Hastanemiz Tıbbi Patoloji Kliniğinde **Doç.Dr. Evrim ÖNDER** sorumluluğunda yapılması planlanan **Dr. Kutsal DOĞAN**' a ait **"DSÖ 2016 Sınıflamasında Provizyonel Antite Olarak Yer Alan ALK Rearajmanı Gösteren Renal Hücreli Karsinom Olgularının Renal Hücreli Karsinom Arasındaki Sıklığı ve Bu Tümörlerin Histomorfolojik Özellikleri"** konulu tez çalışması amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına, bütçenin Hastanemiz Bilimsel Araştırma Proje Destekleme (BAP) komisyonu tarafından karşılanması şartı ile toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Güleser SAYLAM
Başkan

Prof. Dr. S.İbrahim AKDAĞ
Başkan Yard.

Uz. Dr. S. Dinçer YETİŞ

Prof. Dr. Fatih YALÇINKAYA

Doç. Dr. Huriye Havat GÜVEN

Dr. Öğretim Üyesi Burcu ÜÇÜK BİÇER
Üye

Prof. Dr. Sibel ÖRSEL

Doç. Dr. Ülide ERGİL

Prof. Dr. E. Pelin KELİÇEN UĞUR
Üye

Av. Harun KOZAN
Üye

B.M.M. Burcu DEMİR

Hülya BALA
Üye

PDF Eraser Free

EK 3. BLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME KURULU ONAYI

T.C. Sağlık Bakanlığı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim ve Araştırma Hastanesi

BİLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME KURULU BAŞKANLIĞI

KARAR NO: 79/01
KARAR TARİHİ:25.02.2021

Hastanemiz Tıbbi Patoloji Kliniğinde **Doç.Dr. Evrim ÖNDER** sorumluluğunda yapılması planlanan **Dr.Kutsal DOĞAN' a** ait **"ALK Rearanjmanı Gösteren Renal Hücreli Karsinom:Histomorfolojik ve Epidemiyolojik Değerlendirme" "** konulu tez çalışması incelenmiş olup bütçenin 15.000 TL' üzerinde olması nedeniyle anılan çalışmanın 15.000 TL' ye kadar maddi olarak yapılması ve desteklenmesi oy birliğiyle uygun görülmüştür.

Başkan

Doç. Dr. Cem SAKA

Üye
Doç. Dr. Aynur TURAN

Üye
Doç. Dr. Muhammed KIZILGÜL

Üye
Doç. Dr. Ebru GÖK AKGÜZ

Üye
Doç. Dr. Gaye Ebru ŞEKER

Üye
Doç. Dr. Evrim ÖNDER

Üye
Doç. Dr. Doğan YAZILITAŞ

Üye
Doç.Dr. M. Faruk ÇATMA

Doç.Dr. Sinan ÇALIŞKAN

Doç.Dr. perran DURU

Üye
Doç.Dr. Ümmü Gül ERDEM

Doç.Dr. Tolga Han EFE

PDF Eraser Free

EK 4. ALK IMMUNOHİSTOKİMYA DATASHEET

Dako

CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD246, ALK Protein
Clone ALK1
Ready-to-Use
(Link)

Code IR641

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD246, ALK Protein, Clone ALK1, Ready-to-Use (Link), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with Autostainer Link instruments. This antibody labels normal human ALK protein and the NPM-ALK chimeric protein, and is a useful aid for the classification of the subgroup of anaplastic large cell lymphomas (ALCL) that are ALK positive (1, 2). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

Synonym for antigen

CD246 (3).

Summary and explanation

The wild-type anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein is a 200 kDa transmembrane receptor tyrosine kinase (4). Postnatal ALK expression is restricted to a few scattered cells in the nervous system (some glial cells and neurons, and a few endothelial cells and pericytes) (1).

Most ALK-positive ALCL are associated with a (2;5) chromosomal translocation, where the nucleophosmin (NPM) gene located at 5q35 fuses with the ALK gene located at 2p23. With the fusion, the portion of the NPM gene encoding the N-terminal part of the NPM protein is juxtaposed to the part of the ALK gene that codes for the entire cytoplasmic region of the ALK protein. As a consequence, the ALK gene comes under the control of the NPM promoter, which induces a permanent and ubiquitous transcription of the NPM-ALK hybrid gene, resulting in the production of a 80 kDa NPM-ALK chimeric protein (4).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations..

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: ALK1 (1). Isotype: IgG3, kappa.

Immunogen

DHFR-ALK recombinant protein comprising mouse dihydrofolate reductase (DHFR) and amino acids 1359-1460 of the full length human ALK protein, corresponding to amino acids 419-520 of the chimeric NPM-ALK protein (1).

Specificity

Anti-Human CD246, clone ALK1, was clustered as anti-CD246 at the 7th International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3).

In Western blotting of lysate of the t(2;5)+ SU-DHL-1 cell line, the antibody labels a band of 80 kDa corresponding to NPM-ALK protein. The antibody also recognizes a band of 200 kDa corresponding to the ALK protein in the human rhabdomyosarcoma cell line Rh30 that expresses full length ALK protein, and in the 293T cell line transfected with cDNA encoding full length ALK protein. No reactivity was observed when the 293T cell line was transfected with the vector alone (1).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (50x),(Code K8005).

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link. For details, please refer to the PT Link User Guide.

The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove Autostainer slide rack with slides from the PT Link tank and immediately dip slides into a jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station, Code PT109) containing diluted room temperature EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes.

Paraffin-embedded sections: As alternative specimen preparation, both deparaffinization and epitope retrieval can be performed in the PT Link using a modified procedure. See the PT Link User Guide for instructions. After the staining procedure has been completed, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

Staining procedure

The recommended visualization system is EnVision FLEX+, Mouse, High pH (Link) (Code K8002), replacing the High pH Target Retrieval Solution from this kit with EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Code K8005). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Autostainer Link software. Please refer to the proper Autostainer Link User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available on the used Autostainer platform, please contact Dako Technical Support. All incubation steps should be performed at room temperature.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory.

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (Code K8008). Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include anaplastic large cell lymphoma with t(2;5) translocation and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics". The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse (Link) (Code IR750).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

PDF Eraser Free

Staining interpretation	Cells labeled by the antibody display cytoplasmic and/or nuclear staining.
Product-specific limitations	This antibody has not been validated for use on lung adenocarcinoma with ALK rearrangement.
Performance characteristics	Normal tissues: In the nervous system, the antibody labels some glial cells, a few endothelial cells, pericytes and a few scattered neuronal cells. There was no labeling of any cells in hematopoietic and lymphoid tissues, nor of tissues from the gastrointestinal tract and the genito-urinary system (1). Abnormal tissues: A total of 239 cases of lymphoma were analyzed with the antibody. Overall, 53.4% (39/73) cases of CD30+ ALCL were labeled. More cases of ALCL in children (23/26 cases = 88.5%) were labeled than in adults (16/47 cases = 34.0%). With only a few exceptions, all malignant cells in any immunoreactive sample were strongly labeled. Only 1 of 17 cases of "Hodgkin's-like ALCL" was labeled for ALK. All 50 cases of classical Hodgkin lymphoma were unlabeled, as were a wide range of other lymphomas and leukemias analyzed (1). In another study (2), 51% (36/70) cases of ALCL were labeled with the antibody, including 15 (42%) T-cell, 16 (44%) null, and 5 (14%) B-cell cases. None of these B-cell cases had the morphology and immunophenotype of the rare large B-cell lymphomas immunoreactive for ALK, but non-immunoreactive for CD30, reported by Delsol et al. (5). In anaplastic large cell lymphoma with t(2;5) translocation, scattered neoplastic cells show a moderate to strong staining reaction.

FRANÇAIS

Utilisation prévue	Pour utilisation diagnostique in vitro. L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD246, ALK Protein, Clone ALK1, Ready-to-Use (Link) est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Autostainer Link. Cet anticorps marque la protéine ALK et la protéine chimérique NPM-ALK humaines normales et facilite la classification du sous-groupe de lymphomes anaplasiques à grandes cellules (LAGC) positifs à l'ALK (1, 2). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.
Synonyme de l'antigène	CD246 (3).
Résumé et explication	La protéine kinase (ALK) de type sauvage du lymphome anaplasique est un récepteur tyrosine kinase transmembranaire de 200 kDa (4). L'expression postnatale de l'ALK est limitée à quelques cellules éparpillées dans le système nerveux (certaines cellules gliales et neurones et quelques cellules endothéliales et péricytes) (1). La plupart des LAGC positifs à l'ALK sont associés à une translocation chromosomique (2;5), où le gène codant pour la nucléophosmine (NPM) situé en 5q35 fusionne avec le gène ALK situé en 2p23. Lors de cette fusion, la partie du gène NPM codant pour la région terminale N de la protéine NPM est juxtaposée à la partie du gène ALK codant pour toute la région cytoplasmique de la protéine ALK. Par conséquent, le gène ALK passe sous contrôle de l'accélérateur NPM, ce qui provoque une transcription permanente et générale du gène hybride NPM-ALK, et débouche sur la production d'une protéine chimérique NPM-ALK de 80 kDa (4). Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.
Réactif fourni	Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium. Clone : ALK1 (1). Isotype : IgG3, kappa.
Immunogène	Protéine recombinante DHFR-ALK comprenant une réductase dihydrofolate de souris (DHFR) et les acides aminés 1359-1460 de la protéine humaine ALK pleine longueur, correspondant aux acides aminés 419-520 de la protéine chimérique NPM-ALK (1).
Spécificité	Anti-Human CD246, clone ALK1, a été classé comme un anti-CD246 à la 7th International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (7e Conférence et Atelier internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains) (3). Lors d'un Western blot effectué sur un lysat de la lignée cellulaire SU-DHL-1 avec t(2;5), l'anticorps marque une bande de 80 kDa correspondant à la protéine NPM-ALK. L'anticorps reconnaît également une bande de 200 kDa correspondant à la protéine ALK dans la lignée cellulaire Rh30 du rhabdomyosarcome humain, qui exprime la protéine ALK pleine longueur, et dans la lignée cellulaire 293T transfectée avec l'ADNc encodant la protéine ALK pleine longueur. Aucune réactivité n'a été observée lorsque la lignée cellulaire 293T n'a été transfectée qu'avec le vecteur (1).
Précautions d'emploi	1. Pour utilisation diagnostique in vitro. 2. Pour utilisateurs professionnels. 3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 4. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.
Préparation des échantillons	L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être d'environ 4 µm. Le prétraitement avec une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la solution EnVision FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (réf. K8005). Coupes déparaffinées : Le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link. Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : Température de préchauffage : 65 °C ; température et durée de restauration de l'épitope : 97 °C pendant 20 minutes (±1 minute) ; laisser refroidir jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir à lames Autostainer avec les lames de la cuve du PT Link et plonger immédiatement les lames dans un récipient/une cuve (p.ex., PT Link Rinse Station, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (réf. K8007) dilué à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes. Coupes incluses en paraffine : Comme préparation alternative des échantillons, le déparaffinage et la restauration d'épitope peuvent être réalisés dans le PT Link à l'aide d'une procédure modifiée. Se référer aux instructions du Guide d'utilisation du PT Link. Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames silanisées Dako Silanized Slides (réf. S3003).
Procédure de coloration	Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX+, Mouse, High pH (Link) (réf. K8002), en remplaçant la solution High pH Target Retrieval de ce kit par la solution EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (réf. K8005). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Autostainer Link. Se reporter au Guide d'utilisation de l'Autostainer Link correspondant pour plus de détails sur le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur la plateforme Autostainer utilisée, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

PDF Eraser Free

Paraffineingebettete Schnitte: Alternativ können Entparaffinierung und Epitopdemaskierung im PT Link unter Verwendung eines modifizierten Verfahrens durchgeführt werden. Weitere Informationen siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Nach Abschluss des Färbeverfahrens müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit einer permanenten Eindeckmethode eingedeckt werden.

Während der Gewebevorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

Färbeverfahren

Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX+, Mouse, High pH, (Link) (Code-Nr. K8002), wobei die High pH Target Retrieval Solution dieses Kits durch EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Code-Nr.K8005) ersetzt wird. Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Autostainer Link-Software vorprogrammiert. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objektträger und Reagenzien bitte dem Benutzerhandbuch zum Autostainer Link entnehmen. Wenn die Protokolle auf der verwendeten Autostainer-Plattform nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen. Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden.

Optimale Bedingungen können je nach Gewebe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (Code-Nr. K8008) ausgeführt werden. Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Gewebe von anaplastisch-großzelligen Lymphomen mit einer t(2;5)-Translokation enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen die für dieses Gewebe unter „Leistungseigenschaften" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (Code-Nr. IR750).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine zytoplasmatische bzw. eine nukleare Färbung auf.

Produktspezifische Beschränkungen

Dieser Antikörper wurde nicht für die Verwendung bei Adenokarzinomen der Lunge mit ALK-Rearrangement validiert.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Im Nervensystem markiert der Antikörper einige Gliazellen, wenige Endothelzellen, Perizyten und einige verstreute Nervenzellen. In hämatopoetischem und lymphoidem Gewebe wurden keinerlei Zellen markiert, ebensowenig in Gewebe aus dem Verdauungs- bzw. Urogenitaltrakt (1).

Anormale Gewebe: Insgesamt wurden 239 Fälle von Lymphomen mit dem Antikörper analysiert. Von diesen wurden 53.4% (39 von 73) der CD30-positiven ALCL-Fälle markiert. Bei Kindern wurden mehr ALCL-Fälle (23 von 26 Fällen = 88.5%) als bei Erwachsenen (16 von 47 Fällen = 34.0%) markiert. Mit wenigen Ausnahmen wurden alle malignen Zellen jeder immunreaktiven Probe stark markiert. Nur 1 von 17 Fällen von „Hodgkin-artiger ALCL" war für ALK immunreaktiv. Alle 50 Fälle klassischer Hodgkin-Lymphome blieben unmarkiert, ebenso wie ein breites Spektrum anderer untersuchter Lymphome bzw. Leukämiefälle (1).

In einer weiteren Studie (2) wurden 51% (36 von 70) der ALCL-Fälle mit dem Antikörper markiert, darunter 15 (42%) T-Zell-, 16 (44%) Null-Zell- und 5 (14%) B-Zell-Lymphome. Keiner dieser Fälle von B-Zell-Lymphomen wies die Morphologie und den Immun-Phänotyp der seltenen, für ALK immunreaktiven, aber für CD30 nicht immunreaktiven großzelligen B-Zell-Lymphome auf, von denen Delsol et al berichtet haben. (5). Bei anaplastisch-großzelligen Lymphomen mit t(2;5)-Translokation wiesen verstreute neoplastische Zellen eine mäßige bis starke Färbereaktion auf.

References/ Références/ Literatur

1. Pulford K, Lamant L, Morris SW, Butler LH, Wood KM, Stroud D, et al. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. Blood 1997;89:1394-404.
2. Gascoyne RD, Aoun P, WU D, Chhanabhai M, Skinnider BF, Greiner TC, et al. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expression in adults with anaplastic large cell lymphoma. Blood 1999;93:3913-21.
3. Pulford K, Mason DY. TC5. CD246 (ALK) cluster report. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 694-6.
4. Stein H, Foss H-D, Dürkop H, Marafioti T, Delsol G, Pulford K, et al. CD30+ anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features. Blood 2000;96:3681-95.
5. Delsol G, Lamant L, Mariamé B, Pulford K, Dastugue N, Brousset P, et al. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2;5 translocation. Blood 1997;89:1483-90.1.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF — Catalogue number / Référence catalogue / Bestellnummer	2 °C – 8 °C — Temperature limitation / Limites de température / Zulässiger Temperaturbereich	Use by / Utiliser avant / Verwendbar bis
IVD — In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum	Σ — Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer / Fabricant / Hersteller
Consult instructions for use / Voir les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten	LOT — Batch code / Numéro de lot / Chargenbezeichnung	

Revision 2017.02

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

PDF Eraser Free

EK5. ALK FISH DATASHEET

A Sysmex Group Company

CytoCell

Instructions For Use
REF: LPS 019-S / LPS 019

ALK Breakapart Probe

CE IVD

PROFESSIONAL USE ONLY

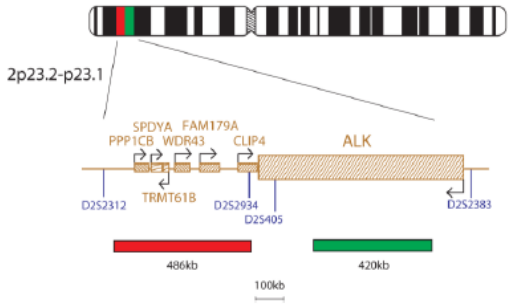
ENGLISH/FRANÇAIS/ITALIANO/DEUTSCH/ESPAÑOL

Further information available at www.ogt.com

Fluorescence *In Situ* Hybridisation (FISH) is a technique that allows DNA sequences to be detected on metaphase chromosomes or in interphase nuclei from fixed cytogenetic samples. The technique uses DNA probes that hybridise to entire chromosomes or single unique sequences, and serves as a powerful adjunct to classic cytogenetics. Recent developments have meant that this valuable technique can now be applied to the assessment of solid tumour biopsies as well, which can provide important information for prediction of tumour progression. Current methodologies, namely immunohistochemistry or Southern blotting can provide information at the gene expression level but, when carried out on tissue sections (either cryostat or paraffin embedded), FISH can provide information at a gene level, *in situ*, at the precise site within the tumour. This can reveal cell-to-cell heterogeneity and enable the detection of small clones of genetically distinct cells.

Probe Information
Transforming rearrangements of the Anaplastic Lymphoma Receptor Tyrosine Kinase (ALK) gene at 2p23 have been recognised in a subset of human haematological and solid malignancies[1]. ALK fuses with Nucleophosmin (NPM1) in anaplastic lymphoma, resulting in constitutive kinase activity, which inhibits apoptosis and promotes cellular proliferation[2]. The rearrangement of ALK has now also been implicated in the development of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) as a result of an inversion involving chromosome 2, inv(2)(p21p23), causing ALK to fuse with the EML4 gene[2]. The ALK gene is frequently involved in translocations of chromosome 2 that lead to gene fusions in a variety of different malignancies, including neuroblastomas and myofibroblastic tumours[3].

Probe Specification
ALK, 2p23.2-p23.1, Red
ALK, 2p23.2-p23.1, Green



The ALK Breakapart probe consists of a green 420kb probe, which spans the majority of the ALK gene and a red 486kb probe, which is telomeric to the ALK gene.

Materials Provided
Probe: 50µl per vial (5 tests) or 100µl per vial (10 tests)
Amount of Red ALK probe: 120-150ng/test
Amount of Green ALK probe: 180-225ng/test
The probes are provided premixed in hybridisation solution (Formamide; Dextran Sulphate; SSC) and are ready to use.

Counterstain: 150µl per vial (15 tests)
The counterstain is DAPI antifade (ES: 0.125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole)).

Warnings and Precautions
1. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
2. Wear gloves when handling DNA probes and DAPI counterstain.
3. Probe mixtures contain formamide, which is a teratogen; do not breathe fumes or allow skin contact. Wear gloves, a lab coat, and handle in a fume hood. Upon disposal, flush with a large volume of water.
4. DAPI is a potential carcinogen. Handle with care; wear gloves and a lab coat. Upon disposal, flush with a large volume of water.
5. All hazardous materials should be disposed of according to your institution's guidelines for hazardous waste disposal.

Storage and Handling
The kit should be stored between -25ºC to -15 ºC in a freezer until the expiry date indicated on the kit label. The probe and counterstain vials must be stored in the dark.

Equipment Necessary but not Supplied
1. Hotplate (with a solid plate and accurate temperature control up to 80ºC).
2. Variable volume micropipettes and tips range 1µl - 200µl.
3. Water bath with accurate temperature control at 72ºC.
4. Microcentrifuge tubes (0.5ml).
5. Fluorescence microscope (Please see Fluorescence Microscope Recommendation section).
6. Plastic or glass coplin jars.
7. Forceps.
8. Fluorescence grade microscope lens immersion oil.
9. Bench-top centrifuge.
10. Microscope slides.
11. 24x24mm coverslips.
12. Timer.
13. 37ºC incubator.
14. Rubber solution glue.
15. Tissue Pretreatment Kit (LPS 100).

Fluorescence Microscope Recommendation
For optimal visualisation of the probe we recommend a 100-watt mercury lamp and plan apochromat objectives x63 or x100. The Triple bandpass filter DAPI/FITC/Texas Red is optimal for viewing all fluorophores and DAPI simultaneously. Alternatively for viewing red and green fluorophores use dual bandpass filter FITC/Texas Red.

Sample Preparation
The kit is designed for use on Formalin Fixed Paraffin Embedded (FFPE) tissue sections or Tissue Microarrays (TMA) and should be prepared according to the laboratory or institution guidelines. For FISH, 4µm - 6µm thick FFPE tissue sections should be used.

Tissue Sample Pretreatment
Tissue sample pretreatment should be done according to the laboratory or institution guideline. For optimal results use the Tissue Pretreatment Kit (LPS 100).

FISH Protocol
(Note: Please ensure that exposure of the probe to laboratory lights is limited at all times)

Pre-Denaturation
1. Remove the probe from the freezer and allow it to warm to room temperature (RT).
2. Ensure that the probe solution is uniformly mixed with a pipette.
3. Remove 10µl - 15µl (depending on the size of the tissue) of probe per test, and transfer it to a microcentrifuge tube. Quickly return the remaining probe to the freezer.
4. Place the probe and the sample slide to prewarm on a 37ºC (+/- 1ºC) hotplate for 5 minutes.
5. Spot 10µl - 15µl of probe mixture onto the sample and carefully apply a coverslip. Seal with rubber solution glue and allow the glue to dry completely.

Denaturation
6. Denature the sample and probe simultaneously by heating the slide on a hotplate at 75ºC (+/- 1ºC) for 5 minutes.

Hybridisation
7. Place the slide in a humid, lightproof container at 37ºC (+/- 1ºC) overnight.

Post-Hybridisation Washes
8. Remove the coverslip and all traces of glue carefully.
9. Immerse the slide in 0.4xSSC (pH 7.0) at 72ºC (+/- 1ºC) for 2 minutes without agitation.
10. Drain the slide and immerse it in 2xSSC, 0.05% Tween-20 at RT (pH 7.0) for 30 seconds without agitation.
11. Drain the slide and apply 10µl - 15µl of DAPI antifade onto each sample.
12. Cover with a coverslip, remove any bubbles and allow the colour to develop in the dark for 10 minutes.
13. View with a fluorescence microscope.

Comments
Hybridisation efficiency and tissue morphology are usually negatively correlated. Aggressive pretreatment procedures improving hybridisation efficiency (e.g. an extended enzyme digestion time) tend to destroy cell structure and tissue morphology. However, mild pretreatment saving tissue structures may not be sufficient for probe penetration and successful FISH results.
The optimal length of heat pretreatment and enzyme digestion time will depend on the age of the block, the tissue composition, and quality of tissue fixation. Enzyme

PDF Eraser Free

digestion should be decreased for core biopsies and any sections that contain few tumour cells or have large areas of necrosis. These samples need to be handled particularly carefully to avoid over-digestion.

Stability of Finished Slides
FISHed slides remain analysable for up to 1 month if stored in the dark below 4ºC.

Procedural Recommendations
1. Hybridisation conditions may be adversely affected by the use of reagents other than those provided or recommended by Cytocell Ltd.
2. The use of a calibrated thermometer is strongly recommended for measuring temperatures of solutions, waterbaths, and incubators, as these temperatures are critical for optimum product performance.
3. The wash concentrations, pH and temperatures are important as low stringency can result in non-specific binding of the probe and too high stringency can result in a lack of signal.
4. Incomplete denaturation can result in lack of signal and over denaturation can also result in non-specific binding.

Expected Results
In the normal cell, 2 red/green (can appear as yellow, Y) signals are expected (2Y). A translocation or inversion will result in 1R, 1G, 1Y: 1 green and 1 red signal from the derivative chromosomes and 1 fused red/green signals (can appear as yellow) from the normal chromosome.

Limitations
Reporting and interpretation of FISH results should be consistent with professional standards of practice and should take into consideration other clinical and diagnostic information. This kit is intended as an adjunct to other diagnostic laboratory tests and therapeutic action should not be initiated on the basis of the FISH result alone.

Additional Information
For additional product information please contact the Cytocell Technical Support Department.
T: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
W: www.cytocell.com

FRANÇAIS

L'hybridation in situ par fluorescence (FISH) est une technique qui permet de détecter des séquences ADN sur les chromosomes métaphasiques ou sur les noyaux interphasiques d'échantillons cytogénétiques fixés. La technique s'appuie sur des sondes ADN qui s'hybrident aux chromosomes entiers ou à des séquences spécifiques, et représente un outil complémentaire très efficace pour la cytogénétique classique. De récents développements ont démontré que cette technique extrêmement utile peut maintenant être utilisée pour évaluer les biopsies de tumeurs solides et permettre l'obtention de données importantes pour la prédiction de la progression tumorale.
Les méthodologies actuelles, à savoir l'immunohistochimie ou le transfert de Southern, peuvent fournir des informations au niveau de l'expression génique, mais la technique FISH, lorsqu'elle est appliquée à des coupes tissulaires (soit sur coupes au cryostat ou après inclusion dans la paraffine), peut fournir des informations au niveau des gènes, in situ, du site intratumoral précisément concerné. Ceci permet de déceler l'hétérogénéité entre les cellules et de détecter de petits clones de cellules génétiquement distinctes.

Caractéristiques de la sonde
Sonde de la région ALK, 2p23.2-p23.1, en Rouge
Sonde de la région ALK, 2p23.2-p23.1, en Vert

La sonde ALK Breakapart se compose d'une sonde verte de 420kb, qui couvre la majorité du gène ALK, et d'une sonde rouge de 486kb, une sonde télomérique au gène ALK.

Conditionnement
Sonde : 50µl par tube (5 tests) ou 100µl par tube (10 tests)
Quantité de sonde ALK, Rouge: 120-150ng/test
Quantité de sonde ALK, Vert: 180-225ng/test.
La sonde est fournie prémélangée prête-à-l'emploi dans le tampon d'hybridation (formamide, sulphate de dextran, SSC).

Contre-colorant: 150µl par tube (15 tests)
Le contre-colorant est le DAPI antifade (ES: 0,125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole)).

Avertissements et précautions
1. Pour utilisation en diagnostic *in vitro*. Pour usage professionnel uniquement.
2. Porter des gants lors de la manipulation des sondes ADN et du contre-colorant DAPI.
3. La sonde contient de la formamide qui est un tératogène. Ne pas respirer les vapeurs. Ne pas mettre en contact avec la peau. Porter des gants, une blouse de laboratoire et manipuler sous une hotte. Après élimination, rincer abondamment avec de l'eau.
4. Le DAPI est un carcinogène potentiel. Manipuler avec précaution. Porter des gants et une blouse de laboratoire. Après élimination, rincer abondamment avec de l'eau.
5. Toutes les matières dangereuses doivent être éliminées selon les réglementations concernant l'élimination des déchets dangereux en vigueur dans votre établissement.

Conservation et manipulation
Le kit devra être stocké au congélateur entre -25ºC et -15ºC jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette du kit. La sonde et le contre-colorant doivent être conservés à l'abri de la lumière.

Equipement nécessaire non fourni
1. Plaque chauffante (avec bloc et contrôle de la température jusqu'à 80ºC).
2. Micropipettes de volume variable et gamme d'embouts de 1µl - 200µl.
3. Bain-marie avec contrôle précis de la température à 72ºC.
4. Tubes à microcentrifugation (0,5ml).
5. Microscope à fluorescence (Voir la section Microscope à fluorescence recommandés).
6. Bocaux Coplin en plastique ou en verre.
7. Pinces.
8. Huile à immersion pour microscope à fluorescence.
9. Centrifugeuse de paillasse.
10. Lames de microscope.
11. Lamelles 24x24mm.
12. Chronomètre.
13. Incubateur à 37ºC.
14. Colle à base de caoutchouc.
15. Tissue Pretreatment Kit (LPS 100).

Microscope à fluorescence recommandés
Pour une visualisation optimale de la sonde, nous recommandons l'utilisation d'une lampe à mercure de 100 watts et d'objectifs plan apochromatiques x63 ou x100. Le filtre triple bande DAPI/FITC/Texas Red est optimal pour la visualisation des 3 fluorochromes et du DAPI simultanément. Pour la visualisation des fluochromes rouge et vert, utiliser le filtre double bande FITC/Texas Red.

Préparation des échantillons
Le kit a été développé pour utilisation sur des coupes de tissu inclus en paraffine ou de microarrays de tissu (TMA) et doit être préparé selon les protocoles en vigueur dans le laboratoire ou institution.
Pour FISH, des échantillons fixés au formol et inclus en paraffine d'une épaisseur de 4µm - 6µm doivent être utilisés.

Prétraitement des échantillons de tissu
Le prétraitement des échantillons de tissu doit être effectué conformément aux directives du laboratoire ou de l'établissement. Pour de meilleurs résultats, utiliser le Tissue Pretreatment Kit (LPS 100).

Protocole FISH
(Remarque : Veuillez toujours vous assurer de limiter l'exposition de la sonde à l'éclairage du laboratoire)

Pré-dénaturation
1. Retirer la sonde du congélateur et la laisser se remettre à température ambiante (TA).
2. Bien homogénéiser la sonde en pipetant plusieurs fois.
3. Prélever 10µl - 15µl (en fonction de la taille du tissu) de sonde par test et placer dans un tube à microcentrifugation. Replacez rapidement le reste de sonde dans le congélateur.
4. Mettre la sonde et la lame échantillon à préchauffer sur une plaque chauffante à 37ºC (+/- 1ºC) pendant 5 minutes.
5. Déposer 10µl - 15µl de sonde sur l'échantillon et couvrir avec une lamelle. Sceller avec de la colle à base de caoutchouc et laisser sécher.

Dénaturation
6. Dénaturer simultanément la sonde et l'échantillon en plaçant la lame sur une plaque chauffante à 75ºC (+/- 1ºC) pendant 5 minutes.

Hybridation
7. Incuber la lame pendant une nuit à 37ºC (+/- 1ºC) dans un récipient humide et à l'abri de la lumière.

Lavages post-hybridation
8. Retirer la lamelle et éliminer toute trace de colle à base de caoutchouc.
9. Laver la lame dans du tampon 0,4xSSC (pH 7,0) à 72ºC (+/- 1ºC) pendant 2 minutes sans agiter.
10. Egoutter la lame et laver dans du tampon 2xSSC, 0,05% Tween-20 (pH 7,0) à TA pendant 30 secondes sans agiter.
11. Sécher la lame et appliquer 10µl - 15µl de DAPI antifade sur chaque échantillon.
12. Recouvrir d'une lamelle, éliminer les bulles et laisser la coloration apparaître à l'abri de la lumière pendant 10 minutes.
13. Visualiser avec un microscope à fluorescence.

Commentaires:
L'efficacité de l'hybridation et la morphologie du tissu d'habitude ont une corrélation négative. Les méthodes de prétraitement agressives améliorant l'efficacité d'hybridation (p.ex. un long temps de digestion enzymatique) ont tendance à détruire la structure cellulaire et la morphologie du tissu. Néanmoins, les méthodes de prétraitement douces conservant les structures de tissu souvent ne sont pas suffisantes pour la pénétration de la sonde et l'obtention de bons résultats de FISH.
La durée optimale de prétraitement thermique et de digestion enzymatique dépendra de l'âge du bloc, de la composition du tissu et de la qualité de la fixation du tissu. La digestion enzymatique devrait être réduite pour les biopsies au trocart et pour toutes les coupes ne contenant que quelques cellules tumorales ou présentant de larges plages de nécrose. Ces échantillons doivent être utilisés avec une précaution particulière pour éviter une digestion excessive.

Stabilité des lames
Les lames sont analysables pendant un mois si elles sont conservées à l'abri de la lumière et à au dessous de 4ºC.

Recommandations
1. Les conditions d'hybridation peuvent être affectées par l'utilisation de réactifs autres que ceux fournis ou recommandés par Cytocell Ltd.
2. L'utilisation d'un thermomètre calibré est fortement recommandée pour mesurer les températures des solutions, bains-marie et incubateurs. Ces températures sont essentielles pour une efficacité optimale du produit.
3. Les concentrations des lavages, pH et température sont importants. Une faible stringence peut résulter en une liaison non-spécifique de la sonde et une trop forte stringence peut résulter en une perte de signal.
4. Une dénaturation incomplète peut engendrer une perte de signal et une trop forte dénaturation une hybridation non-spécifique.

Interprétation des résultats
Dans une cellule normale, 2 signaux rouge/vert (peuvent apparaître comme signal jaune, J) doivent apparaître (2J). Une translocation ou une inversion génère 1R, 1V, 1J : 1 signal vert et 1 signal rouge provenant des chromosomes dérivés et 1 signal fusionné rouge/vert (peut apparaître comme signal jaune) provenant du chromosome normal.

Limitations
La diffusion et l'interprétation du test FISH doivent être effectués conformément aux normes professionnelles mises en pratique et tout en prenant en considération les autres informations cliniques et diagnostiques disponibles. Ce kit est développé comme un test complémentaire à la cytogénétique classique, pour cette raison des actions thérapeutiques ne doivent pas être lancées sur la seule base des résultats du test FISH.

Informations supplémentaires
Pour plus d'informations sur le produit, veuillez contacter l'Assistance technique Cytocell.
T: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
W: www.cytocell.com

ITALIANO

L'ibridazione fluorescente *in situ* (Fluorescence *In Situ* Hybridisation, FISH) è una tecnica che consente di rilevare le sequenze del DNA su cromosomi metafasici o in nuclei interfasici da campioni citogenetici fissati. La tecnica utilizza sonde di DNA che ibridizzano con gli interi cromosomi o con singole sequenze e fungono da potente aggiunta alla citogenetica classica. Recenti sviluppi hanno fatto sì che ora questa valida tecnica possa essere applicata anche alla valutazioni di biopsie di tumori solidi, il che può fornire importanti informazioni per la previsione della progressione del tumore stesso. Le metodologie attuali, vale a dire all'immunoistochimica o il Southern blotting possono fornire informazioni a livello di espressione genica ma, quando eseguite su sezioni di tessuto (sia al criostato che incluse in paraffina), la FISH può fornire informazioni a livello di gene, *in situ*, al sito preciso all'interno del tumore. Questo può rivelare l'eterogeneità tra cellula e cellula e consentire l'individuazione di piccoli cloni di cellule geneticamente distinte.

PDF Eraser Free

contenga pocas células tumorales o tengan zonas vastas de necrosis. Estas muestras deben manipularse con especial atención para evitar una digestión excesiva.

Estabilidad de los portaobjetos terminados
Los portaobjetos sometidos a la técnica FISH pueden analizarse durante 1 mes si se conservan en un lugar oscuro debajo de 4°C.

Recomendaciones para los procedimientos
1. Las condiciones de hibridación pueden verse afectadas negativamente si se emplean reactivos distintos de los suministrados o recomendados por Cytocell Ltd.
2. Se recomienda encarecidamente el uso de un termómetro de precisión para medir las temperaturas de soluciones, baños maría e incubadores ya que estas temperaturas son cruciales para un resultado óptimo del producto.
3. Las concentraciones de los lavados, el pH y las temperaturas son importantes ya que unas condiciones poco rigurosas pueden provocar una hibridación inespecífica de la sonda y unas condiciones demasiado rigurosas pueden derivar en una falta de señal.
4. Una desnaturalización incompleta puede provocar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede originar una hibridación inespecífica.

Interpretación de los resultados
En una célula normal, deben aparecer 2 señales roja/verde (puede aparecer como amarillo) (2Am). Una translocación o inversión produce 1R, 1V, 1Am: 1 señal verde y 1 señal roja de los cromosomas derivados y 1 señal roja/verde fusionada (puede aparecer como amarillo) del cromosoma normal.

Limitaciones
La comunicación y la interpretación de FISH debe ser conforme a los estándares de prácticas profesionales, y debe tener en consideración otra información clínica y de diagnóstico. Esta prueba está diseñada como un complemento de la citogenética clásica y no deben tomarse medidas terapéuticas basándose únicamente en el resultado de FISH.

Información adicional
Si desea obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el Departamento de soporte técnico de Cytocell.
T: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
W: www.cytocell.com

References/Bibliographie/Bibliographia/Literatur/Bibliografía

1. Marileila Varella-Garcia *et al.*, Association of molecular pathology: Solid Tumour Review. 2010
2. Takeuchi K *et al.*, Clin Cancer Res. 2008;14(20):6618-8624
3. Lin *et al.*, Mol Cancer Res. 2009;7(9):1466-1476

REF	**EN:** Catalogue number **DE:** Bestellnummer **FR:** Référence du catalogue **IT:** Riferimento di Catalogo **ES:** Número de catálogo
IVD	**EN:** *In vitro* diagnostic device **DE:** *In-vitro*-Diagnostikum **FR:** Dispositif médical de diagnostic *in vitro* **IT:** Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* **ES:** Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
LOT	**EN:** Batch code **DE:** Loscode **FR:** Code du lot **IT:** Codice di lotto **ES:** Código
	EN: Consult instructions for use **DE:** Gebrauchsanweisung beachten **FR:** Consulter la notice d'utilisation **IT:** Consultare le istruzioni per l'uso **ES:** Consúltense las instrucciones de uso
	EN: Manufacturer **DE:** Hersteller **FR:** Fabricant **IT:** Fabbricante **ES:** Fabricante
	EN: Use by **DE:** Verwendbar bis **FR:** Utiliser jusqu'au **IT:** Utilizzare entro **ES:** Fecha de caducidad
	EN: Temperature limitation **DE:** Temperaturbegrenzung **FR:** Limites de température **IT:** Limiti di temperatura **ES:** Limitación de temperatura
Σ	**EN:** Sufficient for <n> tests **DE:** Ausreichend für **FR:** Suffisant pour **IT:** Sufficiente per **ES:** Válido para
CONT	**EN:** Contents **DE:** Inhalt **FR:** Contenu **IT:** Contenuto **ES:** Contenido

Patents and Trademarks
CytoCell is a registered trademark of Cytocell Ltd.
This product contains technology licensed from Life Technologies Corporation and is available for human diagnostics or life science research use only.

Cytocell Ltd.
Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, UK
T: +44(0)1223 294048
F: +44(0)1223 294986
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com