

Renal Hücreli Karsinomda Endoglin Ekspresyonu ve Klinik Önemi

Expression and Clinical Value of Endoglin in Renal Cell Carcinoma

Muhsin BALABAN,¹ Mustafa Yücel BOZ,¹ Alper KAFKASLI,¹ Rahim HORUZ,¹ Ramazan YILDIZ,² Şükran SARIKAYA,³ Selami ALBAYRAK,¹ Önder CANGÜVEN¹

¹Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, İstanbul

²Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Medikal Onkoloji Kliniği, İstanbul

³Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İstanbul

Özet

Amaç: Endoglin ekspresyonu tümörün klinik, metastatik, histopatolojik ve prognozu ile ilişkilidir. Bu çalışmada endoglinin renal hücreli karsinomda (RHK) ekspresyonunu ve klinik önemini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 2005 ile 2011 yılları arasında kliniğimizde radikal ya da parsiyel nefrektomi uygulanan 103 hastanın (27 kadın, 76 erkek) patoloji numuneleri, immünohistokimyasal olarak endoglin ile boyanarak doku mikroarray tekniğiyle değerlendirildi.

Bulgular: Endoglin boyanma yoğunluğu ile metastaz ($p=0.469$), fuhrman grade ($p=0.469$) ve tümör evresi ($p=0.063$) arasında istatistiksel bir ilişki bulunamadı. Aynı şekilde endoglin ile boyanma yoğunluğu ile toplam sağkalım arasında bir ilişkiye rastlanmadı ($p=0.194$). Buna karşın papiller RHK'nin endoglin ile berrak hücreli RHK göre anlamlı şekilde az boyandığı görüldü (ortalama: 1.09).

Sonuç: Hastalarımızda, RHK'nin klinik evre ve metastaz potansiyeli ile endoglin ekspresyonu arasında bir ilişki saptamadık. Buna karşın RHK'nin papiller alt grubunun endoglin ile az boyanmasının bu alt grubun metastatik olgularında hedefe yönelik tedavinin etkinliğini değerlendirmede etkili olabilir.

Anahtar sözcükler: Endoglin; prognoz; renal hücreli karsinom.

Summary

Background: Expression of endoglin relates to clinical, metastatic, and histopathological features of tumor, as well as to prognosis. The aim of the present study was to investigate the expression and clinical significance of endoglin in renal cell carcinoma (RCC).

Methods: A total of 103 (27 women, 76 men) RCC samples were obtained from patients who had undergone radical or partial nephrectomy in the clinic between the years of 2005 and 2011. Samples were assessed with tissue microarray technique using immunohistochemical endoglin staining.

Results: No significant correlation was observed between intensity of endoglin expression in RCC and metastasis ($p=0.469$), Fuhrman grade, or tumor staging ($p=0.419$ and $p=0.063$, respectively). Neither was a correlation observed between the survival and expression of endoglin ($p=0.194$). However, it was determined that papillary RCC expressed significantly lower endoglin intensity than clear-cell RCC (mean: 1.09).

Conclusion: Endoglin expression did not correlate with clinical stage or metastatic potential of RCC. However, low expression of endoglin in papillary RCC may have implications regarding the efficacy of targeted therapy in metastatic cases of this histological subtype.

Keywords: Endoglin; prognosis; renal cell carcinoma.

İletişim: Dr. Muhsin Balaban.
Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği, Cevizli, Kartal, İstanbul
Tel: 0216 - 444 39 00 / 1921

Başvuru tarihi: 06.08.2014
Kabul tarihi: 14.08.2014
Online baskı: 20.12.2015
e-posta: muhsinbalaban1980@yahoo.com



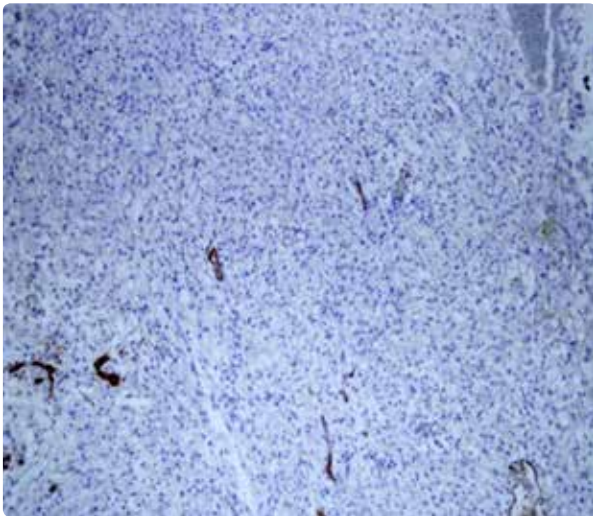
Giriş

Anjiogenez, tümörün büyümesi ve metastaz için önemli bir süreçtir. Farklı endotel belirteçleri ile hesaplanan mikrodamar yoğunluğunun (MVD) bazı tümörlerde kötü prognoz ve ileri evre ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ve buradan hareketle MVD'nin metastazi öngörebileceği ileri sürülmüştür.^[1] Endoglin (CD105) tümör neovaskülarizasyonunu gösteren belirteçlerden birisidir ve daha önceki çalışmalarda tümör endoglin (CD105) ekspresyonunun MVD ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[2]

Bu çalışmada endoglin'in (CD105) insan böbrek tümörlerindeki ekspresyonu ve bunun nükleer grade, tümör evresi, histolojik alt grup, metastaz ve sağ kalımla olan ilişkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

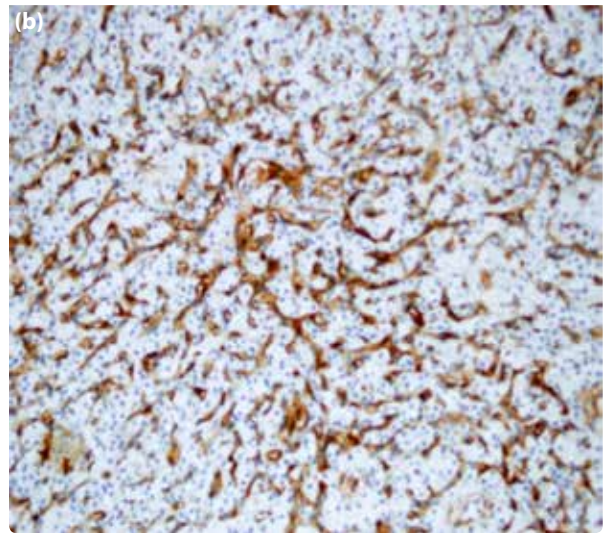
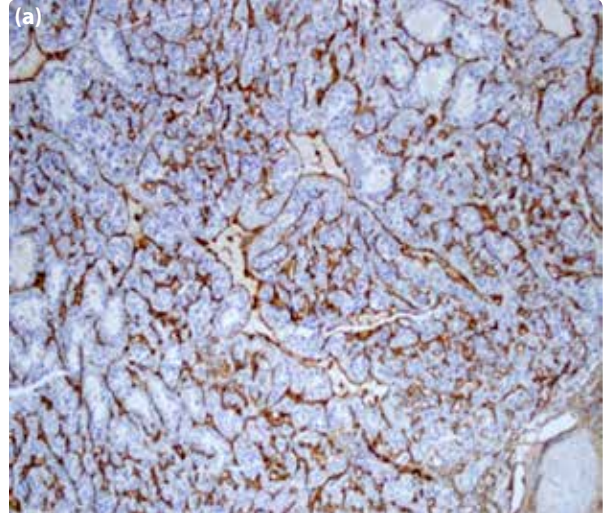
Kasım 2005 ile Ocak 2011 tarihleri arasında üroloji kliniğimizde böbrek tümörü nedeniyle radikal ya da parsiyel nefrektomi olan 185 hastanın patoloji numunelerine ulaşıldı. Klinik ve takip bilgileri tam olan ve yeterli patoloji numunesine sahip 103 hasta seçildi ve bu hastaların patoloji numuneleri değerlendirilmek üzere diğerlerinden ayrıldı. Hastaların kliniği hakkında bilgisi olmayan patolog tarafından bu patoloji numuneleri immünohistokimyasal olarak mikroarray tekniğiyle^[3] Endoglin (Thermo Scientific, Fremont, USA) ile boyandı ve değerlendirme farklı iki patolog tarafından farklı zamanlarda yapıldı.



Şekil 1. Endoglin (CD105) ekspresyonu (Az boyanma) (x40). Renkli şekiller derginin online sayısında görülebilir (www.keahdergi.com).

Renal hücreli karsinom (RHK) hücrelerinde Endoglin'in (CD105) immünohistokimyasal olarak boyanması Q skor metoduyla değerlendirildi.^[4] Bu metod ile boyanmanın hem yaygınlığı hem de yoğunluğu ölçülebilmektedir.

İmmünboyanma yoğunluğu şu şekilde derecelendirilmektedir: 0 negatif (büyük büyütmede boyanma yok), 1 zayıf (boyanma sadece büyük büyütmede görülür) (Şekil 1), 2 orta (boyanma küçük büyütmede görülür), 3 yoğun (boyanma küçük büyütmede çok yoğun olur) (Şekil 2). Boyanmanın dağılımı şu şekilde skorlanmaktadır: 0, %0; +1, %1 ile %25; +2, %26 ile %50; +3, %51 ile %75; +4, >%75. Boyanmanın yoğunluğu ve yaygınlığı kullanılarak 0'dan 7'ye kadar olabilen immünreaktivite skoru (IR skor)^[4] hesaplanmaktadır.



Şekil 2. Endoglin (CD105) ekspresyonu (Yoğun boyanma) (a) x40, (b) x100. Renkli şekiller derginin online sayısında görülebilir (www.keahdergi.com).

Çalışma ile ilgili olarak etik kurulundan onay alınmıştır. İstatistiksel işlemlerde "SPSS for Windows" 17.0 paket programı kullanıldı. Çalışmadaki değişkenler One-Sample Kolmogorow-Smirnow testi ile normal dağılım açısından değerlendirildi. Normal dağılıma uyan veriler, aritmetik ortalama ve standart sapmaları ile, normal dağılıma uygun olmayan veriler ortanca (minimum-maksimum) değerleri ile verildi. CD105 ekspresyonu ve diğer klinikopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi χ^2 testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışma kapsamında ortanca yaşı 58 (aralık, 32–84) olan 103 (27 kadın, 76 erkek) hastanın verileri değerlendirildi. Ortanca takip süresi 27 (aralık, 3–74) ay idi. Yüz üç hastanın 90'ında berrak hücreli RHK, 11 hastada papiller RHK, iki hastada kromofob RHK histopatoloji alt grubu vardı. Hastaların 87'sine radikal nefrektomi, 15'ine parsiyel nefrektomi ve bir hastaya sadece biyopsi yapılmıştı.

Tümörlerin üçü Fuhrman grade 1, 48'i Fuhrman grade 2, 46'sı Fuhrman grade 3 ve altısı Fuhrman grade 4 idi. Evre olarak, 46 hasta evre 1, 24 hasta evre 2, 18 hasta evre 3 ve 15 hasta evre 4 idi. Hastaların 15'inde başvuru esnasında metastaz varken, 11 hastada takip eden süre içerisinde metastaz gelişti. Hastaların TNM sınıflandırması, sağkalım ve cerrahi çeşitleri Tablo 1'de gösterilmiştir. MSKCC kriterlerine göre 84 hasta iyi risk grubunda, 15 hasta orta risk grubunda ve dört hasta da kötü risk grubundaydı.^[5] Takip süresi içinde 11 hasta tümör metastazına bağlı hayatını kaybederken, iki hasta başka sebeplerden dolayı hayatını kaybetti. Tüm takipli hastalarda, hasta sayısının yetersiz olmasından ve takip süresinin sadece 27 ay olmasından dolayı median sağ kalıma ulaşılamadı.

Patoloji spesmenlerinin 37'si endoglin (CD 105) ile az, 41'i orta ve 25'i yoğun olarak boyandı. Endoglin boyanma derecesi ile metastaz arasında istatistiksel bir ilişki bulunamadı ($p=0.469$). Fuhrman grade ile endoglin boyanma yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p=0.419$). Tümör evresi ile Endoglin boyanma yoğunluğu arasında istatistiksel bir ilişki

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri

Değişken (n)	Berrak hücreli	Papiller	Kromofob	Toplam
Tümör tipi	90	11	2	103
Erkek	68	7	1	76
Kadın	22	4	1	27
TNM evresi				
1–2	60	8	2	70
3	17	1	0	18
4	13	2	0	15
Fuhrman grade				
1–2	45	5	1	51
3	39	6	1	46
4	6	0	0	6
Sağkalım				
Hastalıktan ölüm	11	2	0	13
Başka sebepten ölüm	1	1	0	2
Yaşayan	79	8	2	89
Metastaz	23	3	0	26
Başvuruda metastaz	13	2	0	15
Nüks	10	1	0	11
Cerrahi çeşidi				
Radikal nefrektomi	77	8	2	87
Parsiyel nefrektomi	12	3	0	15
Sadece biyopsi	1	0	0	1

Tablo 2. Endoglin (CD105) ekspresyonunun tümörün fuhrman grade evre ve metastazla olan ilişkisi

	Toplam Sayı (n)	Endoglin ekspresyonu			p
		Az	Orta	Yoğun	
Fuhrman grade	103	37	41	25	
1-2	51	15	22	14	
3	46	20	17	9	
4	6	2	2	2	0.419
Evre					
1-2	70	23	30	17	
3	18	7	5	6	
4	15	7	6	2	0.063
Metastaz					
M0	77	29	28	20	
M1	26	8	13	5	0.469

saptanmadı ($p=0.063$) (Tablo 2).

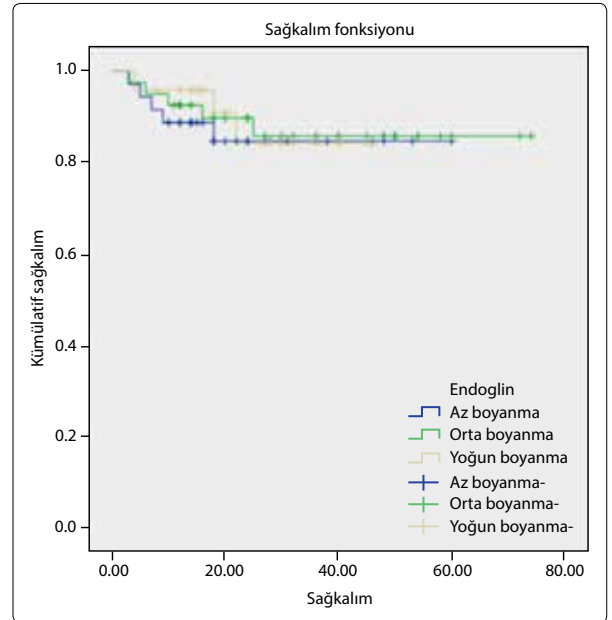
Sürpriz bir şekilde papiller RHK'nin endoglin ile berrak hücreli RHK'ya göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde az boyandığı görüldü (min.: 1, maks.: 2, ortalama: 1.09). Endoglin ile boyanma yoğunluğu ve toplam sağkalım arasında bir fark yoktu (Şekil 3).

Tartışma

Bu çalışma kapsamında 103 RHK hastasının patoloji numunelerinin immünohistokimyasal olarak endoglin (CD105) ekspresyonunun, hastaların klinik ve histopatolojik alt gruplarla olan ilişkisi araştırıldı. Sonuç olarak endoglin ekspresyonunun TNM evresi, nükleer grade ve metastaz ile ilişkili olmadığını gösterdik.

Endoglin (CD105) bir hücre yüzey glikoproteini olup transforming büyüme faktörü beta-1 (TGF-beta1) ve/veya TGF-beta3'ün bağlanmasında rol oynayan bir reseptör olup insan endotel hücrelerinin proliferasyonunda en uygun belirteçlerinden biridir. Endoglin aktive endotel hücrelerine bağlanmayı tercih eder ve bunlarda tümör anjiyogenezinde görev alır.^[6] Birkaç çalışmada CD105'in damar oluşumunda yer aldığını ve bu şekilde birçok tümör tipinde kan damarlarının anormal gelişmesinin güçlü bir belirteçi olduğu ifade edilmektedir.^[7] Malign tümörler hipoksik koşullarda farklı biyolojik davranışlar sergilemektedir. Bunlar arasında en sık anjiogenez, hayatta kalabilmek ve proliferasyonu sağlayabilmek için kullanılır.^[8] Berrak hücreli

RHK olan hastaların çoğunda Von Hippel-Lindau (VHL) tümör supresör gen mutasyonu vardır ve bu mutasyon yüzünden hipoksi durumunda hücre içinde gelişen sinyaller sonucu tümör hücrelerinde anjiogenez ve proliferasyon gelişir. Endoglin daha çok anjiogenetik endotel hücrelerde eksprese olur ve hipoksik koşullarda HIF-1 kompleksi ile up-regülasyona uğrar.^[9,10] Hipoksik ve az damarlanma olan koşullarda haya-



Şekil 3. Tümör dokusunun endoglin boyanma yoğunluğu ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan-Meier eğrisi ($p=0.194$).

tını sürdürebilme yetisine sahip olan endometrium ve konvansiyonel böbrek tümörü gibi malignitelere prognozun iyi olamayacağı dile getirilmektedir.^[11]

Sandlund ve ark. insan böbrek tümörlerinde yaptıkları bir çalışmada, Endoglin (CD105) ekspresyonunun belirgin bir şekilde TNM evresi, nükleer grade ve prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.^[3] Raporladıkları çalışmalarına göre endoglin ekspresyonu yoğun olan tümörlerin evresi ve grade'i düşük olmaktadır ve bu hastaların prognozu iyi seyretmektedir.^[3] Yoğun endoglin ekspresyonu ve iyi prognoz daha önceki RHK çalışmalarında da gösterilmiştir.^[12] Daha önce yapılan araştırmalara MVD'nin prognoz ve metastazi öngörmede potansiyeli olduğu belirtilmiştir.^[7] Çok değişkenli analizler sonucunda endoglin ile gösterilen MVD'nin bağımsız prognostik faktör olduğu teyit edilmiştir.^[13] Herbst ve ark. böbrek tümörlerinde CD31 ile immunhistokimya boyaması sonucunda hesapladıkları MVD'nin nükleer grade, nüksüz sağkalım ve metastaz varlığıyla negatif korelasyon gösterdiğini raporlamışlar.^[14] Yüksek MVD değerlerine sahip endometriyum kanserli hastaların radyasyon terapısından sonra, MVD değeri düşük olan endometriyum kanserli hastalara göre daha iyi sağ kalım sonuçlarına ulaşılmıştır.

Renal hücreli karsinomda MVD ile patolojik faktörler arasındaki ilişki tartışmalıdır. MacLennan ve ark. faktör VIII ile hesapladıkları MVD'nin klinik ve patolojik evre ile ilgili bir ilişki bulamamışlardır.^[15] Aynı yıllarda yapılan başka çalışmalarda insan malignitelerinde, MVD yoğunluğu ile kanser spesifik sağkalım ve hastalık nüksüyle ilgili bir korelasyon saptanmamıştır.^[16,17]

Renal hücreli karsinomda bulunan ortalama MVD yoğunluğu daha önce bildirilen malign tümörlerden üç kat daha fazladır.^[18,19] RHK'da MVD'nin fazla olması, böbrek tümörünün doğasında sıklıkla fazla damarlanmanın bulunmasıyla açıklanmaktadır. Bu yüzden MVD'nin vücudun başka yerlerinde bünyesinde nispeten daha az damar barındıran malignitelere prognostik bir belirteç olarak kullanılması daha akıllıca durmaktadır.

Bu bilgiye paralel olarak, çeşitli endotel hücre belirteçleriyle analiz edebilen artmış MVD'nin meme, mesane ve prostat kanserinde ileri patolojik evre ve kötü prognozla ilişkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.^[1,7,20]

Çalışmamızda papiller RHK dokularının, berrak hücreli RHK'ya göre anlamlı bir şekilde az boyanması dikka-

timizi çekmiştir. Daha önceki çalışmalarda endoglin ekspresyonu yoğun olan tümörlerin evresi ve grade'i düşük olmaktadır ve bu hastaların prognozu iyi seyretmektedir,^[3] fakat genellikle normal VHL protein ekspresyonu gösteren papiller RHK'da bu ilişkinin zıt yönde olduğu görülmektedir. Bu bulgu, metastaz yapan papiller RHK tedavisinde hedefe yönelik tedaviye yanıtla bir ilişkisinin olup olmadığı araştırılmaya değer bir bulgu olarak görmekteyiz ve yakın gelecekte daha fazla hasta sayısı ile bu çalışmanın planlanmasını, akıllarda kalan soru işaretlerine yanıt vereceğini ummaktayız.

Sonuç

Anjiyogenez ile ilişkili belirteçlerin RHK'daki önemlerinin anlaşılması yüksek riskli hastaların daha önceden belirlenmesine yardımcı olabilir. Her ne kadar CD105'in vücudun başka yerlerindeki tümörlerde prognoz ve tümörün biyolojik davranışını öngörmede yardımcı bir belirteç olduğu gösterilmiş olsa da; biz çalışmamızda bu belirteç ile RHK'nın prognozu ve evresi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkiyi işaret edecek sonuçlara ulaşamadık. Renal hücreli karsinomda anjiyogenez belirteçlerinin klinik rolünün daha iyi anlaşılması ve klinik pratikte kullanıma geçmesi için daha büyük ölçekli, ileriye dönük ve randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar) çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Kaynaklar

1. Bochner BH, Cote RJ, Weidner N, Groshen S, Chen SC, Skinner DG, et al. Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(21):1603–12. [CrossRef](#)
2. Kumar P, Wang JM, Bernabeu C. CD 105 and angiogenesis. *J Pathol* 1996;178(4):363–6. [CrossRef](#)
3. Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Endoglin (CD105) expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2006;97(4):706–10. [CrossRef](#)
4. Regitnig P, Reiner A, Dinges HP, Höfler G, Müller-Holzner E, Lax SF, et al. Quality assurance for detection of estrogen and progesterone receptors by immunohistochemistry in Austrian pathology laboratories. *Virchows Arch* 2002;441(4):328–34. [CrossRef](#)
5. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002;20(1):289–96. [CrossRef](#)
6. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of

- hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36(3):889-94.
7. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990;82(1):4-6.
 8. Harris AL. Hypoxia-a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;2(1):38-47. [CrossRef](#)
 9. Brekken RA, Li C, Kumar S. Strategies for vascular targeting in tumors. *Int J Cancer* 2002;100(2):123-30. [CrossRef](#)
 10. Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Langa C, Bernabéu C. Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem* 2002;277(46):43799-808. [CrossRef](#)
 11. Salvesen HB, Gulluoglu MG, Stefansson I, Akslen LA. Significance of CD 105 expression for tumour angiogenesis and prognosis in endometrial carcinomas. *APMIS* 2003;111(11):1011-8. [CrossRef](#)
 12. Yagasaki H, Kawata N, Takimoto Y, Nemoto N. Histopathological analysis of angiogenic factors in renal cell carcinoma. *Int J Urol* 2003;10(4):220-7. [CrossRef](#)
 13. Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *FASEB J* 2003;17(9):984-92. [CrossRef](#)
 14. Herbst C, Kosmehl H, Stiller KJ, Berndt A, Eiselt M, Schubert J, et al. Evaluation of microvessel density by computerised image analysis in human renal cell carcinoma. Correlation to pT category, nuclear grade, proliferative activity and occurrence of metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124(3-4):141-7. [CrossRef](#)
 15. MacLennan GT, Bostwick DG. Microvessel density in renal cell carcinoma: lack of prognostic significance. *Urology* 1995;46(1):27-30. [CrossRef](#)
 16. Page DL, Jensen RA. Angiogenesis in human breast carcinoma: what is the question? *Hum Pathol* 1995;26(11):1173-4. [CrossRef](#)
 17. Lindmark G, Gerdin B, Sundberg C, Pählman L, Bergström R, Glimelius B. Prognostic significance of the microvascular count in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1996;14(2):461-6.
 18. Srivastava A, Laidler P, Davies RP, Horgan K, Hughes LE. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma. A quantitative histologic study. *Am J Pathol* 1988;133(2):419-23.
 19. Zhou HE, Pisters LL, Hall MC, Zhao LS, Troncoso P, Pollack A, et al. Biomarkers associated with prostate cancer progression. *J Cell Biochem Suppl* 1994;19:208-16.
 20. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324(1):1-8. [CrossRef](#)