

# Renal Hücreli Karsinomlarda Claudin 1,3,4,7 ve 8 Ekspresyonunun Tanısal ve Prognostik Önemi

## Diagnostic and Prognostic Significance of Claudin 1,3,4,7,8 Expression in Renal Cell Carcinoma

Bermal HASBAY , Şeyda ERDOĞAN , Yıldırım BAYAZIT 

<sup>1</sup> Başkent Üniversitesi, Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>2</sup> Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>3</sup> Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Renal (Böbrek) hücreli karsinom (RHK) tüm kanserlerin % 2-3'ünü, böbrekte izlenen kitlesel lezyonların %85'den fazlasını oluşturur. Böbreğin eozinofilik ve granüler sitoplazmalı tümörleri arasında onkositom, RHK'un kromofob, papiller ve berrak hücreli tiplerinin eozinofilik varyantları sayılabilir. Bu tümörlerin birbirinden ayırımında kullanılacak belirteç arayışları devam etmektedir. Bu amaçla çalışmamızda RHK tipleri ile onkositom olgularına claudin 1, 3, 4, 7 ve 8 uygulandı. Sonuçlar derece, evre, prognostik ve tanısal değer açısından karşılaştırıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 134 adet RHK olgusuna ait parafin bloklar alındı. Olguların 72'si berrak hücreli RHK, 26'sı kromofob RHK, 24'ü papiller RHK ve 12'si onkositom idi. Hematoksilen Eozin boyası uygulanarak ışık mikroskopik inceleme yapıldı. İmmünohistokimyasal yöntem ile uygulanan claudin 1, 3, 4, 7 ve 8'in boyanma şiddeti, yaygınlığı ve lokalizasyonu değerlendirildi.

**Bulgular:** Claudin 1 ile kromofob RHK'da %73,1 membranöz, onkositomda %91,7 sitoplazmik boyanma izlendi. Claudin 3 ile berrak RHK'un %81,9'unda boyanma izlenmezken, onkositomlarda %100 sitoplazmik boyanma izlendi. Claudin 4 ile berrak RHK'da %95,8 , papiller RHK'un %75, kromofob RHK'un % 34,6'sında boyanma izlenmezken, onkositom vakalarının %100'ü sitoplazmik boyandı.

Claudin 7 ile kromofob RHK'da %84,6 membranöz, onkositomda %91,7 sitoplazmik boyandı. Claudin 8 kromofob RHK'un %47,4'de membranöz, onkositomda ise %100 sitoplazmik boyanma izlendi.

Onkositom'da sitoplazmik boyanma, kromofob'da membranöz boyanma kabul edildiğinde spesifite claudin 7 için %91, sensitivite %92 idi. Kromofob renal hücreli karsinom membranöz, onkositom sitoplazmik boyandığında ise spesifite %91, sensitivite %84 idi.

**Sonuç:** Sonuç olarak çalışmamızda, claudin 1, 7, 8'in onkositom ve kromofob RHK ayırımında kullanılabileceğini, claudin 3 ve 4'ün ise berrak RHK'un eozinofilik varyantı ile onkositom ayırımında yardımcı olabileceğini saptadık. Claudin 1, 3 ve 8'in ise özellikle papiller RHK'da prognostik önemini tespit ettik. Bulgularımız claudin'lerin RHK tiplerinin ayırıcı tanısında ve prognostik parametre olarak panel içinde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu konuda daha geniş serilerde çalışmalar yapıлып, tedaviye olan katkıları da değerlendirilmelidir.

**Anahtar Sözcükler:** Claudin, Kromofob, Onkositom, Papiller, Renal hücreli karsinom

### ABSTRACT

**Aim:** Renal cell carcinomas (RCC) consist 2-3% of all cancers and more than 85% of the renal masses. Eosinophilic and granular cytoplasmic tumors of kidney are oncocytomas and eosinophilic variants of the chromophobe, papillary and clear cell subtypes of renal cell carcinomas. Currently, there are studies to differentiate these tumors by markers. In our study, we performed claudin 1, 3, 4, 7 and 8 on renal cell carcinoma types and oncocytoma. The results were compared with grade, stage, prognosis and diagnostic impact.

**Materials and Methods:** Paraffin blocks of 134 renal cell carcinoma cases which were diagnosed at the Pathology Department of Çukurova University Medical Faculty were studied. The material was consisted of 72 clear cell RCC, 26 chromophobe RCC, 24 papillary RCC and 12 oncocytoma cases. Specimens were stained by hematoxylin eosine. Immunohistochemically, Claudin 1, 3, 4, 7 and 8 were evaluated according to their staining intensity, diffusiveness and location.

**Results:** By claudin 1; 73.1% of chromophobe RCC cases were stained membranous and 91.7% of the oncocytomas were stained cytoplasmically positive. By claudin 3; 81.9% of the clear cell RCC were negative, 100% of oncocytomas were stained cytoplasmically positive. By claudin 4; 95.8% of clear cell RCC, 75% of papillary RCC, 34.6% of chromophobe RCC were negative, 100% of the oncocytoma cases were cytoplasmically

positive. By claudin 7; 84.6% of chromophobe RCC were stained membranous positive, 91.7% of oncocytoma cases were cytoplasmically positive. By claudin 8; 73.6% of clear cell RCC and 44.4% of papillary RCC were negative, 100% of oncocytomas were cytoplasmically positive. The specificity of cytoplasmic positivity for oncocytoma and membranous positivity for chromophobe RCC was 91% and the sensitivity was 92% with claudin 7. Where as the specificity of membranous staining for chromophobe and cytoplasmic positivity for oncocytoma was 91% and the sensitivity was 84 %.

**Conclusion:** As a result, we found out that claudin 1, 7, 8 can be use at the differential diagnosis of oncocytoma and chromophobe RCC, on the other hand claudin 3, 4 can be useful to differentiate oncocytoma from eosinophilic variant of clear cell RCC. Additionally, we also showed the prognostic impact of claudin 1, 3 and 8 especially at the papillary RCC. Our results pointed out that claudins can be used in a panel as a prognostic parameter and diagnostic marker at the differential diagnosis of the RCC types. Further studies with larger series are needed to evaluate their supports at the treatment strategies.

**Key Words:** Claudin, Chromophobe, Oncocytoma, Papillary, Renal cell carcinoma

## GİRİŞ

Renal (Böbrek) hücreli karsinom tüm kanserlerin %2-3'ünü oluşturur, gelişmiş ülkelerde bu insidans daha yüksektir (1). RHK böbrekte izlenen kitlesel lezyonların %85'den fazlasını oluşturur (1). E/K 1.5:1 oranında olup en yüksek insidans 60-70 yaşlar arasında görülür. Etiyolojik faktörler arasında sigara, obezite, hipertansiyon, arsenik, asbestos, kadmiyum, bazı organik solventler, fungal toksinler yer almaktadır. Meslek nedeniyle asbest, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik çözücüler ve petrol ürünlerine maruz kalanlarda böbrek kanseri riski artmaktadır (1,2).

Hücrelerde bulunan tight junctionlar sıvı ve iyonların hücre içine ve dışına taşınmasında bariyer oluşturarak hücreler arası geçirgenlik ve iyonik seçiciliği düzenler (3). İki membranı birbirine bağlayan transmembran bağlantı proteinleri claudin ve okludinlerdir (4-9). Her ikisi de sıkı bağlantı oluşumuna katılırlar da claudinler daha aktif rol oynarlar. Claudinler normal renal dokunun distal tübül ve toplayıcı duktuslarında boyanma gösterir. Claudin 1 Bowman kapsülünde ve henle kulpunda boyanırken, claudin 3 ve 4 güçlü olarak distal tübül ve toplayıcı duktuslarda boyanır, proksimal tübül ve glomerülde ise daha zayıf boyanmaktadır (10,11). Claudin 7 ve 8'de distal tübül ve toplayıcı duktuslarda güçlü bir boyanma paterni göstermektedir (10,11).

Claudinler'in tümör invazyon ve progresyonunda etkisi olabileceği düşünülmektedir (11). Çeşitli kanser tiplerinde tanısal veya prognostik amaçlı kullanılmışlardır (10,12-20). Örneğin Gröne ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kolorektal kanserlerde claudin 1 ve 12'nin aşırı eksprese olduğunu, claudin 8'in ise ekspresyonunda azalma olduğunu bulmuşlardır (17). Meme karsinomlarında claudin 3 ve 4'ün %62 ve %26 oranında eksprese olduğunu saptamışlardır (14). Sobel ve ark. nin yaptıkları çalışmada servikal invaziv karsinomlarda ve servikal intraepitelyal neoplazilerde claudin 1,2,4 ve 7 ekspresyonunun artış gösterdiğini bulmuşlardır (15). Ekiz ve ark. nin çalışmasında ise claudin 3 ile malign plevral mezotelyomaların akciğer adenokarsinomlarına göre çok daha az boyandığı, claudin 4 ile hiç boyanmadığı saptanmıştır (16). Claudin 4'ün kolonik ve gastrik neoplazik dokuda güçlü bir şekilde ekspres-

yon olmaktadır, prostat, plasenta, akciğer ve pankreasda orta derecede eksprese olurken, ince bağırsak, böbrek ve uterusda daha düşük oranda eksprese olmaktadır (20).

Literatürde RHK ve claudinler ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Biz, RHK'un en sık görülen alt tipleri ve onkositom ile, geniş claudin ailesi proteinlerini, boyanma şekli ve yaygınlığı ile değerlendirip, prognostik ve tanısal alanda kullanımını araştırmayı hedefledik.

## GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 134 adet RHK olgusuna ait parafin bloklar alındı. Olguların 72'si berrak hücreli RHK (BHRHK), 26'sı kromofob RHK (KRHK), 24'ü papiller RHK (PRHK) ve 12'si onkositom idi. Bu olgulara ait Hematoksilin Eozin boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek immünohistokimyasal (IHK) çalışma için uygun bloklardan 4µm kalınlığında kesitler elde edildi. Çalışmaya alınan olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlere Strept Avidin –Biotin kompleks immüno-peroksidaz yöntemi ile claudin-1 (XX7, sc- 81796 Santa Cruz Mouse Monoclonal), claudin-3 (rabbit x invitrogen Ret. 18-7340), claudin-4 (W6 sc. 81798 Mouse Monoclonal Santa Cruz), claudin -7 (Rabbit x invitrogen Ret 18-7378), claudin- 8 (Antibody GT X 77832 Rabbit polyclonal Gene Tex inc.) uygulandı. Tüm antikorlar için (+) kontrol olarak normal böbrek dokusu kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyalar sadece tümör dokusunda değerlendirildi. Hazırlanan örnekler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Çalışmada immünohistokimyasal değerlendirme için Lechpammer ve ark.'nin yaptığı çalışma temel alındı (10). Buna göre immünohistokimyasal skor (IHSS)= Claudin pozitif tümör alanı yüzdesi x tümör hücrelerinin boyanma şiddeti olarak hesaplandı.

Değerlendirmede boyanma olmayan olgular negatif olarak kabul edildi. Pozitif olan olgularda boyanma yaygınlığı açısından hücrelerin %0-25'de pozitiflik var ise 1, %26-50'sinde pozitiflik saptanmış ise 2, %50'nin üzerinde pozitiflik saptanan olgular ise 3 olarak kabul edildi. Boyanma şiddeti değerlendirilirken ise hafif şiddette boyanma 1, orta şiddette boyanma 2 ve şiddetli boyanma 3 olarak değerlendirildi.

Ayrıca boyanma şekli olarak vakalar sitoplazmik boyanma, membranöz boyanma, sitoplazmik + membranöz boyanma olarak değerlendirildi. Skor verilirken, olgunun en yüksek skoru alabilmesi göz önünde bulunduruldu. Yani eşit yaygınlıkta pozitifliği olan alanlardan yoğunluğu en çok olan alan temel alındı. Buna göre skorlamada 0 negatif, 1-2 zayıf, 3-6 orta ve 9 ise güçlü boyanma olarak kabul edildi.

Tümörlerin evreleme ve derecelendirilmesi WHO 2010' a göre yapılmıştır.

Takibimizde olan 134 hastanın verilerinin istatistiksel analizinde SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümlerse gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum olarak özetlendi. Sağ kalım eğrisi için Kaplan-Meier yöntemi ve sağ kalım farklılıklarını hesaplamak için Log-rank testi uygulandı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

Çalışmamız Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma fonu (TF2007LTP19) tarafından desteklenmiştir.

## BULGULAR

Olguların 90'ı (%67) erkek, 44'ü (%33) kadın idi. Yaş ortalaması 58.5 (8-81) idi. Vakaların 86'sı (%64) sağ, 48'i (%36) sol böbreğe lokalizeydi. Patolojik evrelerine göre dağılımları; pT1:48 (%35), pT2:39 (%29), pT3:18 (%13), pT4:17 (%13) olarak değerlendirildi. Derece açısından: 11 (% 8) olgu derece 1, 68 (% 50) olgu derece 2, 32 (% 24) olgu derece 3 ve 11 (% 8) derece 4 idi. Olguların 97'si (%72.4) hayatta, 37'si (%27.6) eksitus olmuştu. Tüm hastaların ortalama yaşam süresi 39,5 ay olarak saptandı (Tablo I).

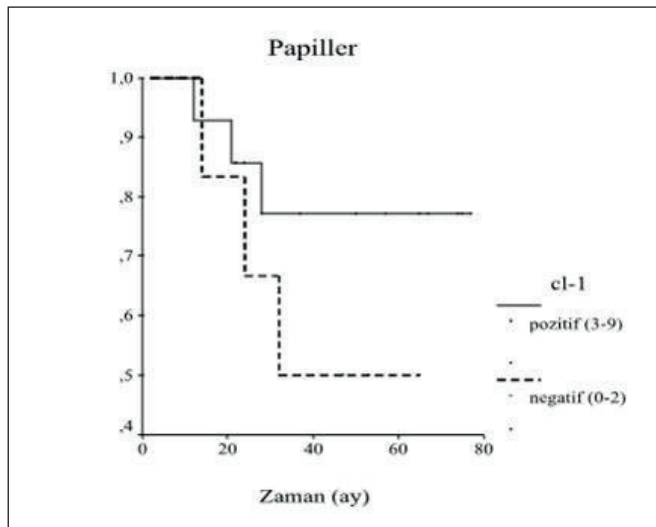
Tüm olguların IHK'sal olarak boyanma şekli ve yüzdesi Tablo II'de özetlenmiştir. Claudin 1 ile prognoz, evre ve derece açısından tipler arasında fark izlenmezken, PRHK'da şiddetli ve yaygın boyanan olgularda ortalama yaşam süresi daha uzun izlendi (Şekil 1).

Claudin 3 ile BHRHK, KRHK ve onkositom'da boyanma şiddeti ve yaygınlığı ile prognoz arasında fark yokken, PRHK'da boyanma şiddeti ve yaygınlık arttıkça ortalama yaşam süresinde artış saptandı (Şekil 2). Onkositom olgularımızın %100'ünde

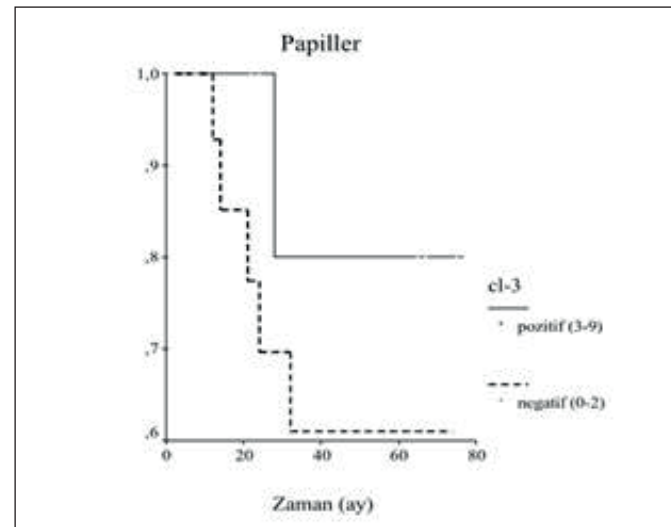
**Tablo I:** Tümör tiplerine göre Pt, Grade (Gr) ve sağkalım dağılımı.

	pT1	pT2	pT3	pT4	Gr1	Gr2	Gr3	Gr4	Yaşayan	Eksitus	Ort.yaşam (ay)
BRHK	27	26	7	12	8	36	18	10	48	24	20
KRHK	10	8	5	3	0	19	7	0	22	4	34
PRHK	11	5	6	2	3	13	7	1	18	6	43
Onkositom									9	3	41
Toplam	48	39	18	17	11	68	32	11	97	37	

BRHK: Berrak renal hücreli karsinom, KRHK: Kromofob renal hücreli karsinom, PRHK: Papiller renal hücreli karsinom



**Şekil 1:** PRHK olgularında Claudin 1 ekspresyonuna göre yığılımlı sağkalım eğrileri.

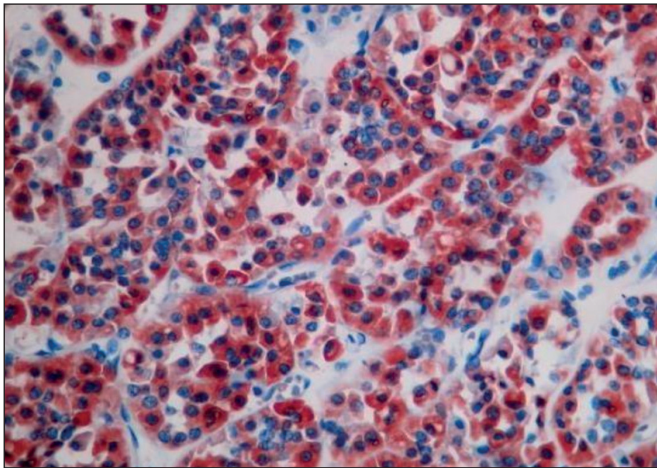
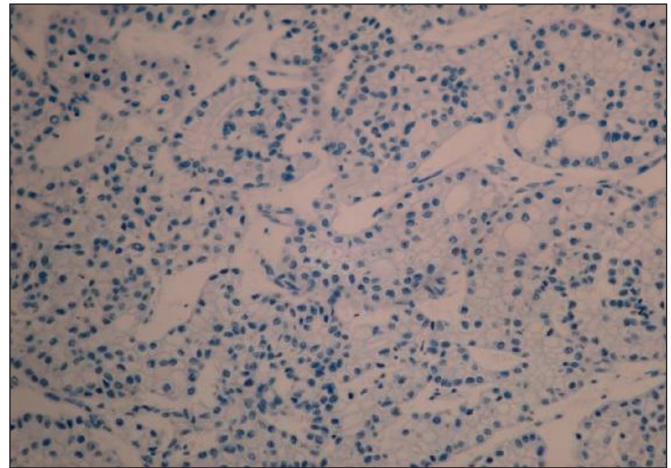


**Şekil 2:** PRHK'da Claudin 3 ekspresyonuna göre yığılımlı sağkalım eğrisi.

**Tablo II:** Claudin'lerin boyanma şekli, şiddeti (% oran) ve yaygınlığı.

	BRHK	KRHK	PRHK	Onkositom
Claudin 1	36,1 M	73,1 M	41,7 S	91,7 S
	36,1 S	15,4 S	33,3 S+M	8,3 M
	8,3 S+M	7,7 S+M	4,2 M	
	19,4 N	3,8 N	20,8 N	
Claudin 3	8,3 S	46,2 M	45,8 S	100 S
	7,7 M	15,4 S	16,7 S+M	
	81,9 N	11,5 S+M	8,3 M	
		26,9 N	29,2 N	
Claudin 4	4,2 S	26,9 S	16,7 S	100 S
	95,8 N	30,8 M	8,3 S+M	
		7,7 S+M	75 N	
		34,6 N		
Claudin 7	19,4 S	84,6 M	54,2 S	91,7 S
	27,8 M	7,7 S	16,7 M	8,3 M
	2,8 S+M	7,7 N	8,3 S+M	
	50 N		20,8 N	
Claudin 8	11,1 S	15,8 S	38,9 S	100 S
	11,1 M	47,4 M	5,5 M	
	4,2 S+M	5,3 S+M	11,1 S+M	
	73,6 N	31,6 N	44,4 N	

**BRHK:** Berrak renal hücreli karsinom, **KRHK:** Kromofob renal hücreli karsinom, **PRHK:** Papiller renal hücreli karsinom, **M:** Membranöz, **S:** Sitoplazmik, **N:** Negatif

**Şekil 3:** Onkositom'da claudin 3 sitoplazmik pozitifliği (x200).**Şekil 4:** Berrak hücreli renal hücreli karsinomda Claudin 3 negatifliği (x200).

sitoplazmik boyanma izlenirken (Şekil 3), BHRHK olgularımızın %81,9'unda boyanma izlenmedi (Şekil 4).

Claudin 4 ile çarpıcı olarak onkositom vakalarının tamamında diffüz boyanma izlendi. BHRHK, PRHK olgularında ise negatif olup en çok %60 oranında membranöz boyanma, ağırlıklı olarak KRHK olgularında izlendi. Evre arttıkça claudin 4'ün

boyanma şiddetinde azalma izlendi. Ancak derece ile arasında bir ilişki izlenmedi.

Claudin 7 ile boyanma yaygınlığı açısından KRHK ve onkositom'da diffüz boyanma izlendi. Onkositom'da sitoplazmik boyanma (Şekil 5), KRHK'da membranöz boyanma (Şekil 6) kabul edildiğinde sensitivite %91, spesifite %92 idi. Kromofob RHK membranöz, onkositom sitoplazmik boyandıgın-

da ise sensitivite %91, spesifite %84 idi (Tablo III). Boyanma şekli ve yaygınlık ile prognoz, evre ve derece arasında fark izlenmedi.

Claudin 8 ile yaygınlık açısından bakıldığında KRHK ve onkositom vakalarında diffüz boyanma izlendi. PRHK olgularında şiddet ve yaygınlık açısından az boyanan vakalarda, yaşayan kişi sayısı ve ortalama yaşamda artma izlendi.

Çalışmamızda evre ve derece ayrı ayrı yaşam süreleri ile karşılaştırıldığında BHRHK ve PRHK olgularında evre 1,2,3 arasında fark izlenmezken, evre 4'de ortalama yaşam süresi düşüş gösteriyordu (BHRHK p=0.0002, PRHK p=0.01). Benzer ilişki derece içinde geçerliydi, derece arttıkça ortalama yaşam süresi düşüyordu (BHRHK p=0.004, PRHK p=0.1). KRHK olguları için derece ve evreyle yaşam süresi arasında bir ilişki saptanmadı (derece p= 0.8, evre p=0.7) En fazla ölüm BHRHK olgularında olup, bunu PRHK izliyordu.

### TARTIŞMA

Renal hücreli karsinomların %70-80'ini berrak tip, %10-15'ini papiller tip, %5'ini ise kromofob tip oluşturmaktadır. Serimizde en sık BHRHK izlenirken onu KRHK ve PRHK tipi izlemektedir.

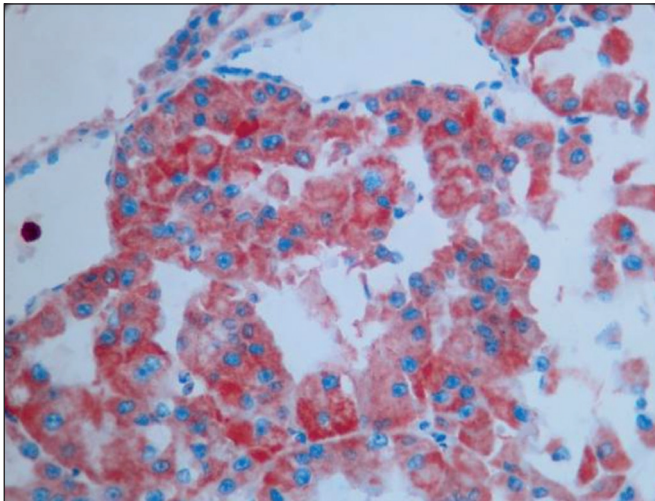
Literatürde claudin ekspresyonu over, özofagus, mesane akciğer, meme gibi çeşitli organ tümörlerinde gösterilmiştir (14, 17-20). Ancak böbrek tümörlerinde yapılan çalışmalar sınırlıdır. Çalışmalarda sıklıkla claudin 7 ve 8 değerlendirilmiş olup, diğer claudin tiplerini kullanan yayımlar ise nadirdir.

Claudin 1 ile literatürde yapılan çalışmalarda özellikle PRHK olgularında tanısal olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında agresif davranışlı PRHK olgularında claudin 1'de kayıp izlenmiştir (9,10). Yapılan bir çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmasada claudin 1 ve claudin 16'nın böbrek dokularında yüksek oranda eksprese edildiğini göstermişlerdir (7). Serimizde claudin 1 ile KRHK'lu olguların %73,1'inde membranöz boyanma, onkositomun ise %91,7'sinde sitoplazmik bir boyanma izlendiğinden claudin 1'in farklı boyanma paterni nedeniyle, KRHK ve onkositom ayırıcı tanısında yardımcı bir belirleyici olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda claudin 1 ile prognoz, evre ve derece açısından tümör tipleri arasında fark izlenmezken, PRHK'un claudin 1 ile şiddetli ve yaygın boyanan olgularında ortalama yaşam süresinin arttığını tespit ettik. Artmış ekspresyon ile tümör hücre adezyon kaybı olmaması olası etkenlerden biri olabilir.

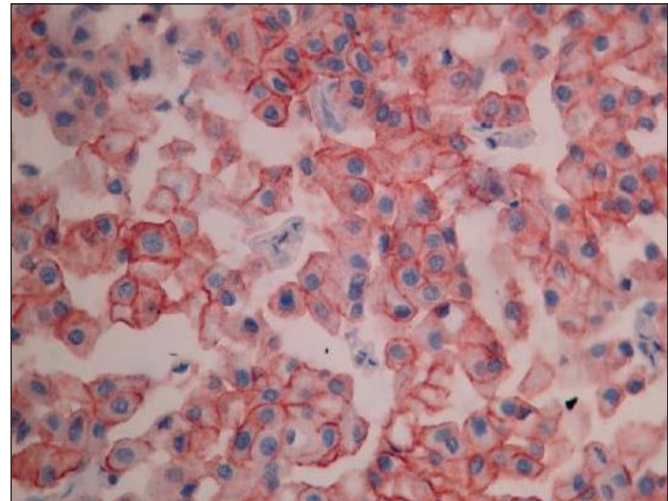
**Tablo III:** Onkositom'da ve KRHK'da spesifite ve sensitivite durumu.

Claudin 7	Onkositom (+)	KRHK (-)	Spesifite	Sensitivite
Doğru (S)	11	4	91	91
Yanlış (M)	1	22		
Claudin 7	KRHK (+)	Onkositom (-)	Spesifite	Sensitivite
Doğru (M)	22	1	91	84
Yanlış (S)	4	11		

KRHK: Kromofob renal hücreli karsinom, M: Membranöz, S: Sitoplazmik



**Şekil 5:** Onkositom'da Claudin 7 sitoplazmik pozitifliği (x200).



**Şekil 6:** Kromofob renal hücreli karsinom Claudin 7 (+++) membranöz pozitifliği (x400)

Claudin 3 ile yapılan çalışmalarda, onkositomların büyük kısmında negatif ya da zayıf boyanma paterni izlenmiştir (10). Serimizde ise, onkositom olgularımızın %100'ünde sitoplazmik boyanma izlenirken BHRHK olgularımızın %81,9'unda boyanma izlenmedi. Normal böbrek dokusunda distal tübülde ve toplayıcı duktuslarda gösterilen claudin 3'ün, bizim çalışmamızda olduğu gibi distal tübülün interkale hücrelerinden köken alan onkositomlardaki pozitifliğin olağan bir sonuç olduğu kanısındayız. Bu özellik, claudin 3'ün BHRHK'un eozinofilik varyantı ile onkositomu ayırt etmek için kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda claudin 3 ile BHRHK, KRHK ve onkositom'da boyanma şiddeti ve yaygınlığı ile prognoz arasında fark yokken, PRHK'da boyanma şiddeti ve yaygınlık arttıkça ortalama yaşam süresi ve yaşayan kişi sayısı artmaktadır. Bu bulgu claudin 3'ün PRHK'da prognostik parametre olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Lechpammer ve ark. (10) yaptığı çalışmada claudin 4 ile güçlü bir membranöz ve sitoplazmik boyanma paterni izlenmiştir. Claudin 4 ile PRHK %91, KRHK %88, onkositom %55, BHRHK'da ise %50 boyanma izlemiştirler. Owari ve ark.'nın yaptığı çalışmada (21) ise Claudin 4 ekspresyonu, RCC'nin klinikopatolojik faktörleri ile korele olmadığını izlemiştirler. Bizim çalışmamızda ise BHRHK'un %95,8'inde, PRHK'un %75'inde boyanma izlenmezken, onkositomda %100 sitoplazmik bir boyanma izlenmiştir. Normalde proksimal tübülde zayıf boyanan claudin 4'ün, BHRHK olgularımızda eksprese edilmemesinin nedeni, gelişim yerinin proksimal tüp olmasıdır. Bulgularımız, claudin 3 gibi claudin 4'ünde BHRHK'un eozinofilik varyantı ile onkositomu ayırmada yardımcı bir belirleyici olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Claudin 7 ile yapılan çalışmalarda, özellikle KRHK olgularında %67-96 oranında membranöz boyanma izlenirken, onkositom olgularında %0-18 oranında membranöz boyanma izlemiştirler (10,22-24). Kriter olarak güçlü ve diffüz membranöz boyanmayı temel aldıklarında, onkositom olgularında daha az ve zayıf boyanma olduğu için ayırıcı tanıda kullanılabileceğini savunmaktadırlar. Claudin 7 distal nefron kaynaklıdır, bu yüzden distal nefron orijinli KRHK ve onkositom ayırıcı tanısında yardımcı olacağını savunmaktadırlar (22-25). Serimizde KRHK'lu vakaların %85'inde membranöz boyanma izlenirken, onkositomların %91,7'sinde sitoplazmik boyanma saptadık. Sonuçlarımız, KRHK ve onkositom ayırımında claudin 7'nin kullanılabileceğini göstermektedir. Hornsby ve ark. (22) yaptıkları çalışmada BHRHK olgularında claudin ile boyanma izlemediklerinden, claudin 7 pozitifliğinde BHRHK'un tamamen ekarte edileceğini savunmaktadırlar. Bizim çalışmamızda ise BHRHK olgularının %50'sinde ekspresyon izlendiği için tek başına BHRHK ayırıcı tanısında kullanılamayacağını göstermektedir. Bununla birlikte BHRHK olgularında, claudin 4 (%96) ve claudin 3 (%82) ile belirgin ekspresyon görülmediği için, ayırıcı tanıda kullanılabılır.

Claudin 8 ile yapılan çalışmalarda KRHK'da genelde negatif veya zayıf pozitif boyanma, onkositomda ise %80-90 oranında

pozitiflik saptanmıştır (10, 23). Bu nedenle KRHK ve onkositom ayırıcı tanısında kullanılabileceğini savunmaktadırlar. Serimizde claudin 8 ile BHRHK' un %74 boyanma izlenmezken, KRHK' da %47 membranöz, onkositomların ise %100'ünde sitoplazmik boyanma saptandı. Buna karşın KRHK olgularında %19 sitoplazmik boyanma görüldü. Claudin 7 gibi claudin 8'de KRHK ve onkositomu ayırmada yardımcı bir belirleyici olarak kullanılabılır. Ayrıca claudin 8 ile PRHK olgularında şiddet ve yaygınlık açısından az boyanan vakalarda yaşam süresini artırdığını saptadık. Bununla birlikte evre arttıkça claudin 8 ekspresyonunda azalma tespit ettik.

Sonuç olarak, claudin ailesine tanısız özellik açısından baktığımızda çalışmamız, claudin 1, 7 ve 8'in membranöz veya sitoplazmik boyanma paternine göre onkositom ve KRHK ayırımında yardımcı olabileceğini göstermektedir. Claudin 3 ve 4'ün ise BHRHK'da negatifken, onkositomda yüksek oranlarda sitoplazmik ekspresyon göstermesi, onkositom ile BHRHK'un eozinofilik varyantının ayırımında kullanılabileceğini göstermektedir.

Prognostik parametre olarak claudinler değerlendirildiğinde, literatürde claudin 3 ve 4'ün BHRHK'lu hastaların prognozunu ve potansiyel terapatik hedefleri belirlemede yardımcı olabileceği bildirilmiştir (10). Çalışmamızda özellikle PRHK olgularında claudin 1 ve 3 ekspresyonunun iyi prognostik parametre olduğunu, claudin 8 ekspresyonunun ise PRHK'da kötü prognozla ilişkili olduğunu saptadık. Claudin 8'in diğerlerinden farklı bir tümör hücre-sinyal yolunu tetiklediği öngörülebilir ve bu özellik tedavide fayda sağlayabilir. Özetle, claudin'lerin RHK ayırıcı tanısında ve prognostik parametre olarak panel içinde kullanılabileceğini düşünüyoruz. Bu konuda daha geniş serilerde çalışmalar yapıp, tedaviye olan katkıları da değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th ed. 2016.
2. Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK. The epidemiology of renal cell carcinoma. J Urol. 2006;176:2353-8.
3. Anderson JM, Von Itallie CM. Tight Junctions and of the molecular basis for regulation and paracellüler permeability. Am J Physical. 1995;269:6467-75.
4. Soini Y. Expression of claudins 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in various types of tumours. Histopathology. 2005;46:551-60.
5. Tsukita S, Furuse M. Claudin-based barrier in simple and stratified cellular sheets. Cell Biol. 2002;14:531-6.
6. Virman J, Soini Y, Kujala P, Luukkaala T, Salminen T, Sunela K, Kellokumpu-Lehtinen PL. Claudins as prognostic factors for renal cell cancer. Anticancer Res. 2014;34:4181-7.
7. Men W, Martin TA, Ruge F, Zhang N, DU P, Yang Y, Jiang WG. Expression of claudins in human clear cell renal cell carcinoma. Cancer Genomics Proteomics. 2015;12(1):1-8.

8. Shin HI, Kim BH, Chang HS, Kim CI, Jung HR, Park CH. Expression of claudin-1 and -7 in clear cell renal cell carcinoma and its clinical significance. *Korean J Urol.* 2011;52(5):317-22.
9. Fritzsche FR, Oelrich B, Johannsen M, Kristiansen I, Moch H, Jung K, Kristiansen G. Claudin-1 protein expression is a prognostic marker of patient survival in renal cell carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2008;14(21):7035-42.
10. Lechpammer M, Resnick MB, Sabo E, Yakirevich E, Greaves WO, Sciandra KT, Tavares R, Noble LC, DeLellis RA, Wang LJ. The diagnostic and prognostic utility of claudin expression in renal cell neoplasms. *Mod Pathol.* 2008;21(11):1320-9.
11. Choi YD, Kim KS, Ryu S, Park Y, Cho NH, Rha SH, Jang JJ, Ro JY, Juhng SW, Choi C. Claudin-7 is highly expressed in chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *J Korean Med Sci.* 2007;22(2):305-10.
12. Rangel LB, Agarwal R, D'Souza T, Pizer ES, Alò PL, Lancaster WD, Gregoire L, Schwartz DR, Cho KR, Morin PJ. Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas. *Clin Cancer Res.* 2003;9(7):2567-75.
13. Sheehan GM, Kallakury BV, Sheehan CE, Fisher HA, Kaufman RP Jr, Ross JS. Loss of claudins-1 and -7 and expression of claudins-3 and -4 correlate with prognostic variables in prostatic adenocarcinomas. *Hum Pathol.* 2007;38(4):564-9.
14. Kominsky SL, Vali M, Korz D, Gabig TG, Weitzman SA, Argani P, Sukumar S. Clostridium perfringens enterotoxin elicits rapid and specific cytolysis of breast carcinoma cells mediated through tight junction proteins claudin 3 and 4. *Am J Pathol.* 2004;164(5):1627-33.
15. Sobel G, Páska C, Szabó I, Kiss A, Kádár A, Schaff Z. Increased expression of claudins in cervical squamous intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Hum Pathol.* 2005;36(2):162-9.
16. Ekiz Ş, Tutar E. Malign mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomlarında claudin 3 ve 4 immünreaktivitesi. *Turk Patoloji Derg.* 2009;2:1-5.
17. Gröne J, Weber B, Staub E, Heinze M, Klamann I, Pilarsky C, Hermann K, Castanos-Velez E, Röpcke S, Mann B, Rosenthal A, Buhr HJ. Differential expression of genes encoding tight junction proteins in colorectal cancer: Frequent dysregulation of claudin-1, -8 and -12. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22(6):651-9.
18. Choi YL, Kim J, Kwon MJ, Choi JS, Kim TJ, Bae DS, Koh SS, In YH, Park YW, Kim SH, Ahn G, Shin YK. Expression profile of tight junction protein claudin 3 and claudin 4 in ovarian serous adenocarcinoma with prognostic correlation. *Histol Histopathol.* 2007;22(11):1185-95.
19. Konecny GE, Agarwal R, Keeney GA, Winterhoff B, Jones MB, Mariani A, Riehle D, Neuper C, Dowdy SC, Wang HJ, Morin PJ, Podratz KC. Claudin-3 and claudin-4 expression in serous papillary, clear-cell, and endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2008;109(2):263-9.
20. Zheng JY, Yu D, Foroohar M, Ko E, Chan J, Kim N, Chiu R, Pang S. Regulation of the expression of the prostate-specific antigen by claudin-7. *J Membr Biol.* 2003;194(3):187-97.
21. Owari T, Sasaki T, Fujii K, Fujiwara-Tani R, Kishi S, Mori S, Mori T, Goto K, Kawahara I, Nakai Y, Miyake M, Luo Y, Tanaka N, Kondoh M, Fujimoto K, Kuniyasu H. Role of nuclear claudin-4 in renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):8340.
22. Hornsby CD, Cohen C, Amin MB, Picken MM, Lawson D, Yin-Goen Q, Young AN. Claudin-7 immunohistochemistry in renal tumors: A candidate marker for chromophobe renal cell carcinoma identified by gene expression profiling. *Arch Pathol Lab Med.* 2007;131(10):1541-6.
23. Osunkoya AO, Cohen C, Lawson D, Picken MM, Amin MB, Young AN. Claudin-7 and claudin-8: Immunohistochemical markers for the differential diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Hum Pathol.* 2009;40(2):206-10.
24. Li L, Yao JL, di Sant'Agnese PA, Bourne PA, Picken MM, Young AN, Shen SS, Huang J. Expression of claudin-7 in benign kidney and kidney tumors. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008;1(1):57-64.
25. Zhou J, Yang X, Zhou L, Zhang P, Wang C. Combined immunohistochemistry for the "Three 7" markers (CK7, CD117, and Claudin-7) is useful in the diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and for the exclusion of mimics: Diagnostic experience from a single institution. *Dis Markers.* 2019;2019:4708154.