

ST.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PEDIATRİ ANABİLİM DALI

**NÖROBLASTOM, WILMS TÜMÖRÜ VE DİĞER RENAL
TÜMÖRLERDE PD-L1 EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. SEHER ŞENER

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. CEYDA KARADENİZ

ANKARA
HAZİRAN 2018

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PEDIATRİ ANABİLİM DALI**

**NÖROBLASTOM, WILMS TÜMÖRÜ VE DİĞER RENAL
TÜMÖRLERDE PD-L1 EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. SEHER ŞENER

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. CEYDA KARADENİZ**

**ANKARA
HAZİRAN 2018**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:/...../2018

**BAŞKAN
İmza
Unvanı, Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi**

**ÜYE
İmza
Unvanı, Adı ve Soyadı**

**ÜYE
İmza
Unvanı, Adı ve Soyadı**

**ÜYE
İmza
Unvanı, Adı ve Soyadı**

TEŞEKKÜRLER

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre içerisinde her türlü bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan, en başta tez danışmanım, Çocuk Onkoloji Bilim Dalında görevli Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ'e, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Aylar POYRAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık eğitimime büyük katkıları olan değerli hocalarım; Sayın Prof. Dr. Aysun BİDECİ'ye, Prof. Dr. Yıldız ATALAY'a, Prof. Dr. Ebru ERGENOKON'a, Prof. Dr. Canan TÜRKYILMAZ'a, Prof. Dr. Faruk Güçlü PINARLI'ya, Prof. Dr. Ülker KOÇAK'a, Prof. Dr. İdil YENİCESU'ya, Prof. Dr. Zühre KAYA'ya, Doç. Dr. Okşan DERİNÖZ'e, Doç. Dr. Arzu OKUR'a, Uzm. Dr. Sırma KARAMERCAN'a çok teşekkür ederim.

Asistanlık yıllarım boyunca beraber çalıştığımız ve birbirimize destek olduğumuz çok sevgili araştırma görevlisi arkadaşım Dr. Sadiye KIRMACI'ya ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Benim için elinden gelenin hep en iyisini yapmaya çalışan, bugünlere gelmemde çok yardımcı olan canım aileme çok teşekkür ederim.

Son olarak bana daima destek olan, her konuda yardımcı olan ve kötü anlarımda hep yanımda olan sevgili eşim Yusuf Ziya ŞENER'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜRLER.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR	viii
TABLOLAR.....	x
GRAFİKLER.....	xii
ŞEKİLLER	xiv
RESİMLER	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Nöroblastom	4
2.1.1. Patoloji.....	4
2.1.2. Etyoloji	4
2.1.3. Klinik Bulgular	5
2.1.4. Tanı.....	6
2.1.5. Evreleme.....	7
2.1.6. Shimada Sınıflandırması	9
2.1.7. Prognoz.....	9
2.1.8. Nöroblastomda Klinik Risk Grupları	11
2.1.9. Tedavi	14
2.2. Wilms Tümörü.....	16
2.2.1. Etyoloji	16

2.2.2. Klinik Bulgular	18
2.2.3. Tanı.....	18
2.2.4. Evreleme	20
2.2.5. Prognoz	21
2.2.6. Tedavi	22
2.3. Wilms Dışı Böbrek Tümörleri.....	24
2.3.1. Renal Rabdoid Tümör	24
2.3.2. Konjenital Mezoblastik Nefroma	25
2.3.3. Çocukluk Çağının Renal Hücreli Karsinomu	25
2.3.4. Berrak Hücreli Sarkom	27
2.4. İmmün Kontrol Noktaları ve Kanser İmmünoterapisi.....	27
2.5. Çocukluk Çağı ve Erişkin Tümörlerde PD-L1 Ekspresyonu	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve Morfolojik Parametreler.....	38
3.2. Olguların Hazırlanması	40
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama	40
3.4. İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi	41
3.5. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Tümör Karakteristikleri	43
4.2. Nöroblastomlu Hastaların Demografik Verileri	43
4.3. Nöroblastomlu Hastaların İstatistiksel Verileri	45

4.3.1. Nöroblastomlu hastaların OS süreleri.....	45
4.3.2. Nöroblastomlu Hastaların EFS Süreleri	46
4.3.3. Nöroblastomlu Hastaların TPOG Risk Gruplarına Göre OS Oranları.....	46
4.3.4. Nöroblastomlu Hastaların TPOG Risk Gruplarına Göre EFS Oranları	47
4.3.5. Nöroblastomlu Hastaların Evrelere Göre OS Analizi	48
4.3.6. Nöroblastomlu Hastaların Evrelere Göre EFS Analizi.....	50
4.3.7. Nöroblastomlu Hastaların MYCN Gen Amplifikasyonuna Göre OS Oranları.....	51
4.3.8. Nöroblastomlu Hastaların MYCN Gen Amplifikasyonuna Göre Oranları.....	52
4.3.9. Nöroblastomlu Hastaların Shimada Sınıflamasına Göre OS Oranları.....	53
4.3.10. Nöroblastomlu Hastaların Shimada Sınıflamasına Göre EFS Oranları	54
4.4. Wilms Tümörü Olan Hastaların Karakteristik Özellikleri	55
4.5. Wilms Tümörlü Hastaların İstatistiksel Verileri	56
4.5.1. Wilms Tümörlü Hastaların OS Süreleri	56
4.5.2. Wilms Tümörlü Hastaların EFS Süreleri	57
4.5.3. Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre OS Analizi.....	57
4.5.4. Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre EFS Analizi.....	58

4.5.5. Wilms Tümörlü Hastaların Anaplazi Durumuna Göre OS	
Oranları.....	59
4.5.6. Wilms Tümörlü Hastaların Anaplazi Durumuna Göre EFS	
Oranları.....	61
4.6. Renal Hücreli Karsinom Hastaların Karakteristik Özellikleri.....	62
4.7. Konjenital Mezoblastik Nefromalı Hastaların Karakteristik	
Özellikleri.....	63
4.8. Renal Rabdoid Tümörlü Hastaların Karakteristik Özellikleri.....	64
4.9. Berrak Hücreli Sarkomu Olan Hastanın Karakteristik Özellikleri.....	65
4.10. Nöroblastomlu Hastalarda PD-L1 Ekspresyonu	65
4.11. Nöroblastom Dışı Tümörlerde PD-L1 Ekspresyonu	69
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇLAR.....	79
7. KAYNAKÇA	82
8. ÖZET	92
9. SUMMARY	94
10. EKLER	96
Ek 1. Etik Kurul Onayı	96
11. ÖZGEÇMİŞ.....	97

KISALTMALAR

PD-1	: Programmed death-1, Programlı ölüm-1
PD-L1	: Programmed death ligand-1, Programlı hücre ölüm ligandı-1
PD-L2	: Programmed death ligand-2, Programlı hücre ölüm ligandı-2
OS	: Genel sağkalım
EFS	: Olaysız (hastalıksız) sağkalım
HVA	: Homovanilik asit
VMA	: Vanilmandilik asit
NSE	: Nöron sfesifik enolaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
DI	: DNA piloidi
MKI	: Mitozis karyoreksis indeks
BWS	: Beckwith-Wiedemann Sendromu
WAGR	: Wilms tümörü / aniridi / genitoüriner anormallikler / mental retardasyon sendromu
BT	: Bilgisayarlı tomografi
MR	: Manyetik Rezonans görüntüleme
FDG	: Florodeoksiglukoz
PET/ BT	: Pozitron Emisyon tomografi
¹²³I-MIBG	: Metaiyodobenzilguanidin sintigrafisi
KT	: Kemoterapi
RT	: Radyoterapi
ASCT	: Otolog kök hücre transplantasyonu
INSS	: Uluslararası Nöroblastom Evreleme Sistemi
INRG	: Uluslararası Nöroblastom Risk Grup
TPOG	: Türk Pediatrik Onkoloji Grubu
COG	: Çocuk Onkoloji Grubu
SIOP	: Uluslararası Pediatrik Onkoloji Derneği
AJCC	: American joint committee on cancer

UICC	: Union International Contra Le Cancer
TCR	: T hücre reseptörü
APC	: Antijen sunucu hücre
NK	: Natural killer
IFN-γ	: İnterferon gama
PI3K	: Fosfoinozotid 3-kinaz
AKT	: Protein kinaz B
ERK	: Ekstrasellüler-sinyal-regulatuar protein kinaz
MAPK	: Mitojen-aktive edici kinaz
TH	: Tümör hücreleri
KHDAK	: Küçük hücre dışı akciğer kanseri
SS	: Standart sapma
GA	: Güven aralığı

TABLÖLAR

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Uluslararası nöroblastom evreleme sistemi	8
Tablo 2: Shimada sınıflaması	9
Tablo 3: Nöroblastomda prognostik faktörler	10
Tablo 4: Nöroblastomlu hastalarda risk sınıflaması	14
Tablo 5: Wilms tümörü ile ilişkili durumlar.....	17
Tablo 6: Wilms tümörü evreleme	21
Tablo 7: Wilms tümörü prognostik faktörler.....	22
Tablo 8: Wilms tümörlerinde tedavi rejimleri.....	23
Tablo 9: Renal hücreli karsinomlarda TNM sınıflaması	26
Tablo 10: Renal hücreli karsinomlarda evreleme.....	27
Tablo 11: Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili literatürdeki çalışmalar	34
Tablo 12: Erişkinlerde anti PD-1 ve anti PD-L1 ajanlarının klinik kullanımı	36
Tablo 13: Pediatrik tümörlerde anti PD-1 ve anti PD-L1 ajanlarının klinik kullanımı	37
Tablo 14: Tümör hücreleri (TH) boyanma skoru ve yüzdesi	42
Tablo 15: Nöroblastomlu hastaların karakteristik özellikleri.....	44
Tablo 16: Wilms tümörü olan hastaların karakteristik özellikleri.....	55
Tablo 17: Renal hücreli karsinom hastaların karakteristik özellikleri.....	62

Tablo 18: Konjenital mezoblastik nefromalı hastaların karakteristik özellikleri	63
Tablo 19: Renal rabdoid tümörlü hastaların karakteristik özellikleri.....	64
Tablo 20: Berrak hücreli sarkomlu hastanın karakteristik özellikleri	65
Tablo 21: Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ve klinikopatolojik özellikler	66
Tablo 22: PD-L1 pozitif olan iki hastanın demografik özellikleri	67
Tablo 23: Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasındaki ilişki	69

GRAFİKLER

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 1: Nöroblastomlu hastaların OS eğrisi	45
Grafik 2: Nöroblastomlu hastaların EFS eğrisi	46
Grafik 3: Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre OS eğrileri	47
Grafik 4: Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre EFS eğrileri	48
Grafik 5: Nöroblastomlu hastaların evrelere göre OS eğrileri	49
Grafik 6: Nöroblastomlu hastaların evrelere göre EFS eğrileri	50
Grafik 7: Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre OS eğrileri.....	51
Grafik 8: Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre EFS eğrileri	52
Grafik 9: Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre OS eğrileri	53
Grafik 10: Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre EFS eğrileri	54
Grafik 11: Wilms tümörlü hastaların OS eğrisi.....	56
Grafik 12: Wilms tümörlü hastaların EFS eğrisi.....	57
Grafik 13: Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre OS Eğrileri.....	58
Grafik 14: Wilms tümörlü hastaların evrelere göre EFS eğrileri	59

Grafik 15: Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre OS eğrileri	60
Grafik 16: Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre EFS eğrileri	61



ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1:	MIBG sintigrafisi (A: Nöroblastomlu metastatik olgu, B: Normal).....	7
Şekil 2a/2b:	Sol böbrekteki kitlenin BT görünütüsü (a), MR görüntüsü (b).....	19
Şekil 3:	Opere Wilms tümörlü olgunun PET/BT görüntüsünde FDG tutulumu gösteren sol paraaortik lenf nodu	20

RESİMLER

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: İmmün kontrol noktaları ve immünoterapi.....	28
Resim 2: PD-L1 aracılı immün sistem inhibisyonu	30
Resim 3: Çeşitli kanser türlerinde PD-L1 ekspresyonu.....	31
Resim 4: Anti-PD-L1 (klon SP142) rabbit monoklonal antikoru ile boyanma (x40).....	41
Resim 5: Nöroblastomda tümör hücrelerinde %1'den az PD-L1 boyanma (X100)	68
Resim 6: Nöroblastomda tümör hücrelerinde %1 - %5 arası PD-L1 boyanma (X100)	68

1. GİRİŞ

T hücreleri, alloantijenlere karşı immun cevapta önemli bir rol oynamaktadır. T hücrelerinin aktivasyonu esas olarak MHC kompleksi aracılığıyla oluşan antijen spesifik sinyala bağlı olmakla birlikte; kostimülatör uyarılar bu yanıtı hassas bir biçimde ayarlar. Bazı kostimülatör etkileşimler, matür T hücrelerinin aktivasyonunu ve çoğalmasını güçlendirirken, bazıları da inhibe eder [1, 2].

Programlı ölüm 1(programmed death 1) reseptörü (PD-1); natural killer (NK) hücreleri, aktive edilmiş monosit ve dendritik hücrelerin bazı alt gruplarının yanı sıra T hücreleri ve B hücreleri yüzeyinde yer alan bir koreseptördür [3]. PD-1 reseptörünün Ig-V ve Ig-C benzeri intraselüler ve ekstraselüler alanlara sahip PD-L1 (programmed death ligand-1, programlı ölüm ligandı-1) ve PD-L2 (programmed death ligand-2, programlı ölüm ligandı-2) olmak üzere iki ligandı mevcuttur [4, 5]. PD-1/ PD-L yolağının en önemli rolü; T hücre fonksiyonlarının inhibe edilmesidir. Bu inhibitör etkileşimler, ikincil lenfoid dokularda enflamasyon başlangıç aşamasında sadece T hücre fonksiyonlarını inhibe etmekle kalmaz, aynı zamanda efektör T hücre yanıtlarını da modüle eder [6]. PD-L1, karsinomlar ve melanomlar da dahil olmak üzere birçok solid tümörde eksprese edilen transmembran yüzeyli bir glikoproteindir. PD-L1 ekspresyonu birçok farklı hücre tipinde kolaylıkla indüklenebilir olmasına rağmen, PD-L2 ekspresyonu sadece antijen sunucu hücrelerle (APC) sınırlıdır [7]. Bu durum PD-L1'in, PD-L2 ye göre T hücre aktivasyonunun inhibe edilmesinde daha genel ve daha spesifik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. PD-1/ PD-L1 yolağı immun eradikasyondan

korunmak için kronik enflamasyona neden olan tümörler ve virüsler tarafından kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, tümörlerin PD-1/PD-L1 yolağını aktive etmesi sonucu, tümör hücrelerinin immünsüpresif bir mikroçevre oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir.

Literatürde çocukluk çağı solid tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili yapılmış bir takım çalışmalar mevcuttur. Routh ve arkadaşlarının 81 Wilms tümörlü hastada yaptıkları araştırmada olguların %14'ünde (n=11) artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. PD-L1 ekspresyonunun, potansiyel olarak Wilms tümörlü hastalar için prognostik bir belirteç ve terapötik bir hedef olabileceği belirtilmiştir [8]. Nöroblastomlu 41 pediatrik hastada yapılan başka bir çalışmada, olguların %12'sinde (n=5) yüksek PD-L1 ekspresyonu tespit edilmiş olup PD-L1 ekspresyonu kötü genel sağkalımla (OS) ilişkilendirilmiştir [9]. Chowdhury ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise; yüksek riskli nöroblastom, rabdomiyosarkom, Ewing sarkomu ve osteosarkom dahil olmak üzere 115 pediatrik solid tümörlü vakanın 66'sında (%57) yüksek membranöz PD-L1 ekspresyonu bildirilmiştir. Bu çalışmada literatürdeki diğer çalışmaların aksine; yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren tümörlerin, göstermeyenlere kıyasla daha iyi OS oranına sahip oldukları saptanmıştır [10]. Pediatrik hastalarda yapılan başka bir araştırmada ise; nöroblastom, glioblastoma multiforme, Wilms ve diğer solid tümörlerde; herhangi bir evrede ya da herhangi bir risk grubunda artmış PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır [11]. PD-L1 ekspresyonunun prognoz ve sağkalım üzerine etkisi konusunda literatürde çelişkili sonuçların yer almasında; çalışmalarda farklı skorlama sistemlerinin kullanılması, hasta

popölasyonunun heterojenitesi, antikor boyama kitleri, boyama prosedürleri ve antijen alım teknikleri arasındaki farklılıkların rol alması muhtemeldir. PD-L1 ekspresyonunda artış aynı zamanda; akciğer kanseri, pankreas kanseri, kolorektal kanserler, mide kanseri, serviks kanseri, over kanseri, malign melanom, lenfoma ve baş boyun tümörlerinde de gösterilmiştir.

Günümüzde PD-1 ve PD-L1 inhibitörü ajanlar bazı kanserlerin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [12, 13]. PD-L1 blokajı, özellikle kötü prognozlu ve mevcut tedavilere refrakter hastalar için uygun bir tedavi seçeneği olabilse de, pediatrik hastalarda PD-L1 blokajının immun fonksiyonlar üzerine etkisi hakkında yeterli veri yoktur [14]. Özellikle de sık görülen çocukluk çağı tümörlerinden olan nöroblastom, Wilms tümörü ve böbreğin diğer primer renal tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili yapılmış mevcut çalışmalar oldukça azdır ve çalışmalar arasında çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızda nöroblastom, Wilms tümörü ve böbreğin diğer primer renal tümörlerinde (konjenital mezoblastik nefroma, renal rabdoid tümör, renal hücreli karsinom, berrak hücreli sarkom) tümör dokusunda PD-L1 ekspresyonunun artıp artmadığına ve bu ekspresyon derecesi ile hastalık evresi, prognostik faktörler ve prognoz arasında ilişki olup olmadığına bakılması amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda elde edeceğimiz sonuçlar PD-L1 antikorlarının dirençli olgularda tedaviye katkısı olup olmayacağına ışık tutabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nöroblastom

Nöroblastom, periferik sempatik sinir sisteminin embriyonel bir tümörüdür. Çocuklarda en sık görülen ekstrakraniyal yerleşimli solid tümördür ve süt çocukluğu döneminde en sık rastlanan malignitedir. Çocukluk çağı kanserleri içerisinde %8-10 oranında görülür. Ortanca tanı yaşı 22 aydır ve olguların %90'ı 5 yaşından önce tanı alır [16]. Spontan regresyona uğrayandan, yoğun tedaviye yanıtızsız agresif tümöre kadar değişken klinik seyir gösterir. Son yıllarda tedavisinde önemli gelişmeler kaydedilmiş olmasına rağmen, agresif formlarının prognozu halen kötü seyretmektedir [16].

2.1.1. Patoloji

Nöroblastom, primordial nöral crest hücrelerinden kaynaklanır. Farklılaşmış küçük yuvarlak hücreli tümörlerden (nöroblastom), olgun Schwann hücre stroması ile gangliyon hücreleri içeren tümörlere (gangliyonnöroblastom ya da gangliyonörom) kadar değişen derecelerde farklılaşma gösterirler. Rabdomiyosarkom, Ewing sarkomu, Hodgkin dışı lenfoma gibi küçük yuvarlak mavi hücreli diğer tümörlerle benzerlik gösterir [16].

2.1.2. Etyoloji

Nöroblastomun etyolojisi genellikle bilinmez. Küçük bir kısmını (%1-2), *Phox2B* ve *ALK* genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanan ve daha erken bulgu

insidansı artmıştır.

2.1.3. Klinik Bulgular

Nöroblastom diğer birçok hastalığı taklit edebilir. Bu durum tanıda güçlüklerle neden olmaktadır. Semptom ve bulgular tümörün primer yeri ve yayıldığı bölgelere işaret edebilir. Lokalize hastalık semptomsuz kalabileceği gibi, kitle etkisiyle, spinal kord basısı, intestinal obstrüksiyon ya da süperior vena kava sendromuna da yol açabilir. Metastatik hastalığı olanlarda, ateş, irritabilite, kilo alamama, kemik ağrısı, sitopeni, mavi renkli subkutan nodül, orbital propitozis ve periorbital ekimoz gibi değişik semptom ve bulgular görülebilir.

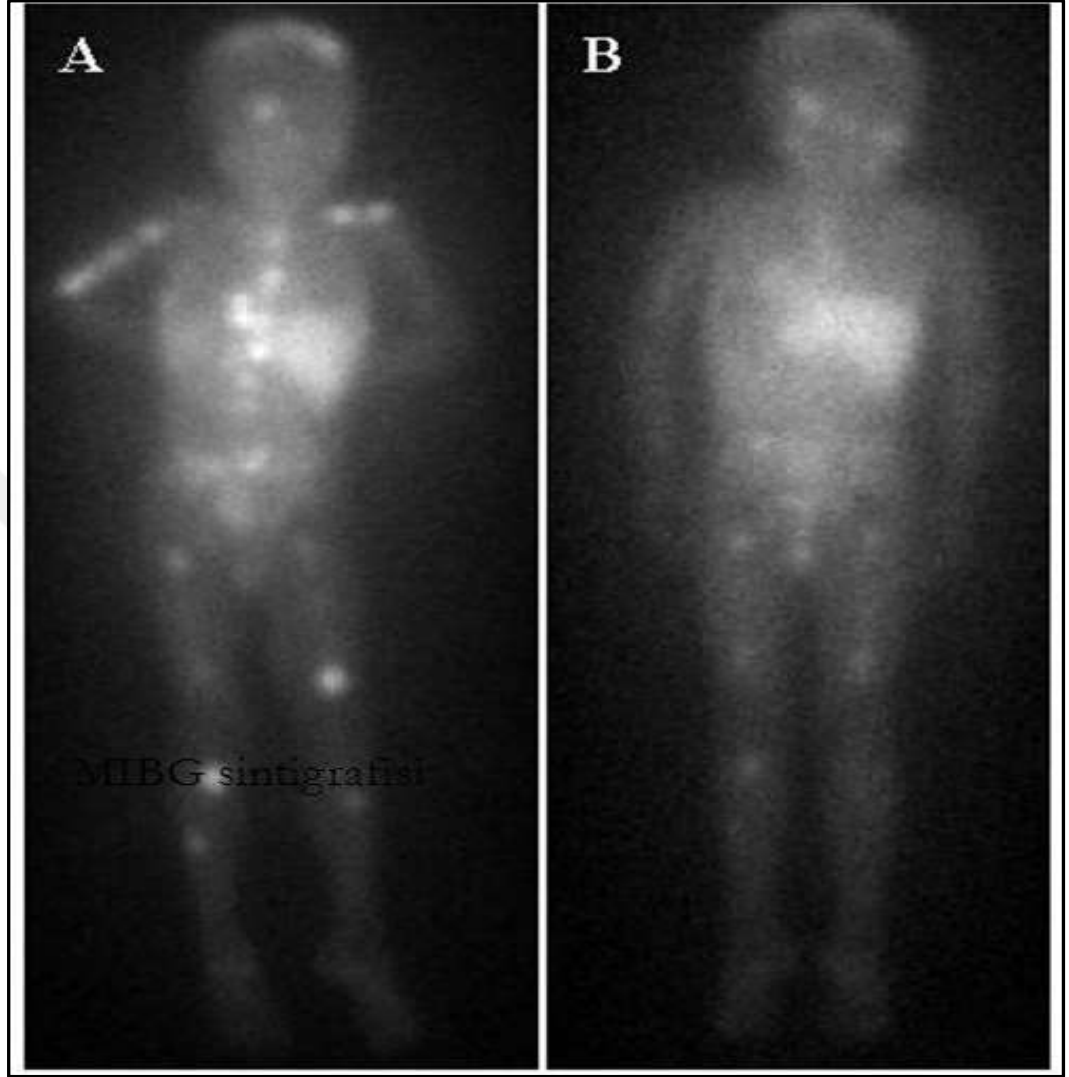
Nöroblastomlu çocuklar nörolojik semptom ve bulgularla da başvurabilirler. Süperior servikal gangliondan kaynaklanan tümör Horner sendromuna neden olabilir. Paraspinal nöroblastom, lokal invazyon ile spinal kord ve sinir kökü basısı yapabilir. Nöroblastom, otoimmün mekanizmalarla ortaya çıkan ve paraneoplastik bir tablo olan opsoklonus-myoklonus-ataksi sendromuyla da ilişkili olabilir. Bazı

tümörler katekolamin salgısı ile hipertansiyon ve aşırı terlemeye; bazıları da vazoaktif intestinal peptid salgısı ile ağır sekretuar diyareye neden olurlar [16].

2.1.4. Tanı

Nöroblastom direk grafi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR) incelemelerinde soliter ya da multipl kitle olarak görüntülenir. Direk grafi ya da BT’de sıklıkla kalsifikasyon ve kanama odakları dikkat çeker. Homovanilik asit (HVA) ve vanilmandilik asit (VMA) gibi katekolamin metabolitleri olguların %95’inde yükselen ve tanıyı destekleyen göstergelerdir. Biyopsi ile kesin tanı konulur. Kemik iliği örneklerinde, küçük yuvarlak mavi tümör hücrelerinin görülmesi ve artmış idrar VMA ve HVA düzeyleri saptanması ile biyopsi yapılmaksızın tanı konulması da mümkündür [16].

Metastatik hastalık açısından araştırmak için: Toraks ve abdomen BT ya da MR görüntülemeleri, kemik tutulumunu değerlendirmek için sintigrafi, kemik iliği tutulumunu değerlendirmek için en az iki kemik iliği aspirasyonu ya da biyopsisi yapılmalıdır. Radyoaktif iyot ile işaretli metaiyodobenzilguanidin (^{123}I -MIBG) sintigrafisi ile de hastalığın yaygınlığı değerlendirilebilir (Şekil 1).



Şekil 1: MIBG sintigrafisi (A: Nöroblastomlu metastatik olgu, B: Normal) [17]

2.1.5. Evreleme

Günümüzde, cerrahi müdahale sonrasında hastaların evrelemelerinde Uluslararası Nöroblastom Evreleme Sistemi (INSS) kullanılmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1: Uluslararası nöroblastom evreleme sistemi [16]

ULUSLARARASI NÖROBLASTOM EVRELEME SİSTEMİ			
EVRE	ÖZELLİKLERİ	İNSİDANS (%)	BEŞ YILLIK SAĞKALIM (%)
1	Tamamı çıkarılabilmiş lokalize tümör (cerrahi sınırda mikroskopik düzeyde rezidü kalsa da evre değişmez) ve aynı taraf lenf bezlerinin mikroskopik incelemesinde tümör saptanmaması (primer tümöre tutunmuş ve birlikte çıkarılmış olan lenf bezlerinin pozitif olması evreyi değiştirmez)	5	≥90
2A	Gros olarak tamamı çıkarılamamış lokalize tümör ancak aynı taraftaki tümöre yapışık olmayan lenf bezlerinin mikroskopik incelemesinde tümör saptanmaması	10	70-80
2B	Tamamen ya dakısmen çıkarılmış lokalize tümör ve beraberinde aynı taraf tümöre yapışık olmayan lenf nodlarında tümör saptanması (karşı taraftakilerde tümör saptanmamış olmalıdır)	10	70-80
3	Orta hattı geçen rezeke edilemeyen tek taraflı tümör (bölgesel lenf bezi tutulumu olabilir); karşı tarafta legionel lenf nodu tutulumu olan tek taraflı lokalize tümör; rezeke edilemeyen infiltratif yolla bilateral yayılımı olan ya da bilateral lenf nodu tutulumu olan orta hat* tümörü	25	40-70
4	Uzak lenf bezleri, kemik, kemik iliği, karaciğer, cilt ve diğer organlara yayılım gösteren primer tümör (evre 4S'te tarif edilen durumlar hariç)	60	1,5 yaşından önce tanı alanlarda 85-90, daha büyük hastalarda 30-40
4S	Bir yaş altı çocuklarda, yalnız cilt, karaciğer ve/veya kemik iliği** ile sınırlı yayılım gösteren lokalize (evre 1, 2A ya da 2B tümör) primer tümör	5	>80

*Orta hat= vertebral kolon

**Kemik iliği tutulumuna çekirdekli hücrelerin %10'undan azı malign hücre olmalıdır

2.1.6. Shimada Sınıflandırması

Nöroblastomun prognostik önem gösteren temel morfolojik bulgusu ganglion hücrelerine doğru differansiyasyonun (maturasyonun) derecesidir [18]. Shimada ve arkadaşları, nöroblastomu hasta yaşına, tümörün differansiyasyon derecesine ve ‘mitozis karyoreksis indeks (MKİ)’ değerlerine göre iyi ya da kötü histolojili olarak iki şekilde sınıflandırmışlardır (Tablo 2).

Tablo 2: Shimada sınıflaması [18]

Yaş	Differansiyasyon	MKİ	Shimada sınıflaması
<1,5	Andifferansiye	Herhangi	Kötü histoloji
<1,5	Azdifferansiye/Differansiye	Düşük/orta	İyi histoloji
<1,5	Herhangi	Yüksek	Kötü histoloji
1,5-5	Andifferansiye/Azdifferansiye	Herhangi	Kötü histoloji
1,5-5	Differansiye	Düşük	İyi histoloji
1,5-5	Differansiye	Orta/yüksek	Kötü histoloji
>5	Herhangi	Herhangi	Kötü histoloji

Shimada sınıflamasına göre MKİ değerini belirlemede, mitoz ve karyoreksis gösteren tümör hücreleri sayılmaktadır. Tümör hücrelerinde mitoz ve karyoreksis gösteren hücre varlığı %2 den az ise düşük MKİ, %2-4 ise orta MKİ ve %4 den fazla ise yüksek MKİ olarak değerlendirilmektedir [21]. Shimada sınıflamasında prognozu belirlemede; bir diğer kriter ise hastanın yaşıdır [21].

2.1.7. Prognoz

Nöroblastomda prognostik önemi olan genetik özellikler: MYCN (*N-myc*) gen amplikasyonu ve tümör hücrelerinin DNA indeksi (piloidi)'dir. MYCN

amplifikasyonu, ileri evre tümör ve kötü prognozla yakından ilişkiliyken, hiperdiploidi ise bir yaşından önce tanı alanlarda iyi prognoz işaretidir. Kromozom 1p, 11q ve 14q'nun heterozigosite kaybı ve kromozom 17q'nun kazanımı, nöroblastomda sıklıkla gözlenen diğer kromozom bozukluklarıdır ve genellikle kötü prognozla ilişkilidirler [16]. Ayrıca, tümör histolojisi ve vaskülaritesi, sinir büyüme faktör reseptörlerinin (TrkA, TrkB) ekspresyon düzeyleri, homovanilik asit (HVA) ve vanilmandilik asit (VMA) gibi katekolamin metabolitleri, ferritin, nöron spesifik enolaz (NSE), laktat dehidrogenaz (LDH), gangliosid GD2, nöropeptid Y, kromogranin A, CD44, çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein ve telomeraz dahil diğer pek çok faktör hastalığın seyrini etkiler. Tablo 3'te nöroblastomlu hastaların prognostik faktörlerinden detaylı olarak bahsedilmektedir.

Tablo 3: Nöroblastomda prognostik faktörler

NÖROBLASTOMDA PROGNOSTİK FAKTÖRLER		
	İYİ	KÖTÜ
Yaş	<1,5 yaş	>1,5 yaş
Evre	I-II-IVS	III-IV
Primer bölge	Boyun, Arka Mediasten, Pelvis	Abdomen
Histoloji (Shimada sınıflaması)	İyi histoloji	Kötü histoloji
MKİ değeri	Düşük (%2 ve altı)	Yüksek (%4 ve üstü)
LDH düzeyi	Düşük (<1500 µMl)	Yüksek (>1500 µMl)
Metastaz durumu	Yok	Var
MYCN gen amplifikasyonu	10 kopya altı	10 kopya ve üzeri
Flow sitometrik DNA	Diğer(hiperdiploidi, triploidi,...)	diploidi
1p delesyonu	-	+
11q kaybı	-	+
17q kazanımı	-	+

2.1.8. Nöroblastomda Klinik Risk Grupları

Nöroblastomda tedavi, risk gruplarına göre düzenlenmektedir. Uluslararası Nöroblastom Risk Grup (INRG) klasifikasyon şemasında evre, yaş, histolojik kategori, MYCN amplifikasyonu, 11q aberasyonu ve plodi kullanılmaktadır [67]. Risk grupları ülkemizde ise hasta yaşı, INSS evrelemesi, tümörün histopatolojik ve genetik özelliklerini göz önüne alarak, Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) tarafından hazırlanan risk sınıflandırmasına dayanarak belirlenmektedir (Tablo 4).

TPOG tarafından belirlenen risk kriterleri

- 1) Evre (INSS sınıflandırması)
- 2) Yaş ($< 1,5$ yaş, $\geq 1,5$ yaş)
- 3) MYCN amplifikasyonu [kopya sayısı < 10 ; MYCN negatif, kopya sayısı > 10 ; MYCN pozitif]
- 4) Shimada sınıflamasına göre prognostik kategori (İyi histoloji, kötü histoloji)
- 5) DNA piloidi (DI) [Diploid (DI =1), Hiperdiploid (DI > 1)]

1. Düşük Risk Grubu:

Bu grup, erken evre ve kötü biyolojik özelliklere sahip olmayan hasta grubunu içermektedir. Bu gruptaki hastalarda sadece cerrahi tedavi ile %90'larda kür oranı bildirilmektedir.

Bu gruba giren hastalar şunlardır:

- Tüm evre 1 hastalar
- Evre 2A ve 2B, bir yaşından küçük tüm hastalar (diğer risk faktörlerine bakmaksızın)
- Evre 2A ve 2B, bir yaşından büyük, MYCN amplifikasyonu olmayan hastalar
- Evre 2A ve 2B, bir yaşından büyük, MYCN amplifikasyonu olan ancak iyi histolojili hastalar
- Evre 4S, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili ve DI>1 olan hastalar

2. Orta Risk Grubu:

Bu grup genellikle bir yaş altında ve MYCN amplifikasyonu olmayan Evre 3 ve 4 hasta popülasyonunu içermektedir. Heterojen özellikleri nedeniyle orta risk grubu, histoloji ve DNA indeksine göre iki alt gruba ayrılmış ve tedavi buna göre planlanmıştır:

İyi prognostik grup:

- Evre 3, bir yaşından küçük, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili ve DI> 1 olan hastalar
- Evre 3, bir yaşından büyük, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili hastalar
- Evre 4, bir yaşından küçük, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili ve DI>1 olan hastalar

Kötü prognostik grup:

- Evre 3 ya da 4, bir yaşından küçük, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili ve $DI = 1$ olan hastalar
- Evre 3 ya da 4, bir yaşından küçük, MYCN amplifikasyonu olmayan, kötü histolojili ve $DI > 1$ olan hastalar
- Evre 4S, MYCN amplifikasyonu olmayan, kötü histolojili hastalar
- Evre 4S, MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi histolojili, $DI = 1$ olan hastalar

3) Yüksek Risk Grubu:

- Evre 2A-2B, bir yaşından büyük, MYCN pozitif ve kötü histolojili hastalar
- Evre 3, bir yaşından büyük, kötü histolojili hastalar diğer risk faktörleri göz önüne alınmaksızın yüksek riskli kabul edilirler.
- Evre 4, bir yaşından büyük tüm hastalar diğer risk faktörlerine bakmaksızın yüksek riskli kabul edilirler.
- Evre 3, 4 ya da 4S, MYCN pozitif tüm hastalar yaş ve diğer risk faktörlerine bakmaksızın yüksek riskli kabul edilirler.

Tablo 4: Nöroblastomlu hastalarda risk sınıflaması [17]

ÇOCUK ONKOLOJİ GRUBU NÖROBLASTOM RİSK SINIFLAMASI					
EVRE	RİSK GRUBU	YAŞ	MYCN AMPLİFİKASYONU	DNA İNDEKSİ	SHIMADA
1	Düşük	Hepsi	Farketmez	Farketmez	Farketmez
2A/2B	Düşük	Hepsi	<10 kopya	Farketmez	Farketmez
2A/2B	Yüksek	Hepsi	>10 kopya	Farketmez	Farketmez
3	Orta	<1,5 yaş	<10 kopya	Farketmez	Farketmez
3	Orta	≥1,5 yaş	<10 kopya	Farketmez	İyi
3	Yüksek	Hepsi	>10 kopya	Farketmez	Farketmez
3	Yüksek	≥1,5 yaş	<10 kopya	Farketmez	Kötü
4	Orta	<1 yaş	<10 kopya	Farketmez	Farketmez
4	Orta	1-1,5 yaş	<10 kopya	DNA indeksi >1	İyi
4	Yüksek	<1 yaş	>10 kopya	Farketmez	Farketmez
4	Yüksek	1-1,5 yaş	>10 kopya	Farketmez	Farketmez
4	Yüksek	1-1,5 yaş	Farketmez	DNA indeksi =1	Farketmez
4	Yüksek	1-1,5 yaş	Farketmez	Farketmez	Kötü
4	Yüksek	≥1,5 yaş	Farketmez	Farketmez	Farketmez
4S	Düşük	<1 yaş	<10 kopya	DNA indeksi >1	İyi
4S	Orta	<1 yaş	<10 kopya	DNA indeksi =1	Farketmez
4S	Orta	<1 yaş	<10 kopya	Farketmez	Kötü
4S	Yüksek	<1 yaş	>10 kopya	Farketmez	Farketmez

2.1.9. Tedavi

Günümüzde tedavi, hastaların risk grubu ve prognozu, hastanın yaşı, tümör evresi, tümörün sitogenetik ve moleküler özelliklerine göre belirlenmektedir [16].

Düşük riskli nöroblastom tedavisinde, evre 1 ve 2 tümörlerin cerrahi rezeksiyonu ve evre 4S tümörlerin sadece izlemi genellikle yeterlidir. Bu tümörlerin ek tedaviye gerek duyulmaksızın iyileşme oranları %90'ın üzerindedir. Lokal rekürrens gösteren az sayıda çocukta kemoterapi (KT) ya da radyoterapi (RT) ile tam iyileşme sağlanması mümkündür. Önemli kısmında spontan gerileme görülebildiği için evre 4S tümörlerin prognozu oldukça iyidir. Kemoterapi ya da primer tümörün rezeksiyonu, bu hastalarda sağkalım oranlarını arttırmaz ancak masif karaciğer tutulumu ve ona bağlı solunum zorluğu olanlarda düşük doz siklofosfamid ya da karaciğer ışınlaması (radyoterapi) semptomların gerilemesini sağlayabilir. Semptomatik olup, tedavi gerektiren evre 4S tümörlü çocukların sağkalım oranı %81'dir.

Orta riskli nöroblastomların tedavisi cerrahi, kemoterapi ve bazı vakalarda radyoterapiden oluşur. Kullanılan başlıca kemoterapötik ilaçlar, orta dozlarda birkaç ay kullanılan sisplatin ya da karboplatin, siklofosfamid, etoposid ve doksorubisindir. Radyoterapi, kemoterapiye yanıtı yeterli olmayan tümörlerde kullanılır. Evre 3 hastalığı olan çocukların ve iyi prognostik özellikleri olan evre 4 hastalıklı süt çocuklarının tümörleri orta risklidir. Orta riskli olguların prognozu, yukarıda bahsedilen orta yoğunluktaki kemoterapi ile mükemmeldir ve sağkalım oranları %90'ın üzerindedir.

Yüksek riskli nöroblastomu olan çocukların uzun süreli sağkalım oranları, halen uygulanmakta olan ve yoğun kemoterapi, otolog kök hücre transplantasyonu (ASCT), cerrahi, radyoterapi ve 13-cis-retinoik asiti (isotretinoin) kapsayan tedavi yaklaşımıyla, %25 ile %35 arasındadır. Yüksek riskli tümörlerin indüksiyon

kemoterapisinde güncel olarak, siklofosfamid, topotekan, doksorubisin, vinkristin, sisplatin ve etoposid kombinasyonları kullanılmaktadır. İndüksiyon kemoterapisini rezidüel primer tümör rezeksiyonu ve lokal radyoterapi izler. Daha sonra yüksek doz kemoterapi ve ASCT uygulanır.

Yüksek riskli olgularda sık relaps görülür. Rekürren nöroblastomlu çocukların alternatif kemoterapötik ajanlara yanıt oranı %50'nin altındadır. Yüksek riskli ve rekürren tümörler için yeni tedavi ajanları ve stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Halen araştırma aşamasında olan tedavi seçenekleri arasında, bazı yeni kemoterapötik ajanlar, radyoaktif işaretlenmiş hedefe yönelik ajanlar (¹³¹I-MIBG gibi), büyüme faktörleri (GM-CSF) ile kombine edilmiş monoklonal antikorlar (antitümör ilişkili GD2 gibi) ve antitümör aşılar sayılabilir [16].

2.2. Wilms Tümörü

Nefroblastom olarak da bilinen Wilms tümörü çocuklarda en sık görülen primer malign böbrek tümörüdür. Diğer tümörlere oldukça nadir rastlanır. Çok merkezli grupların çalışmaları ve uygulanan çok yönlü tedavi seçenekleri ile Wilms tümörünün iyileşme oranı %30'dan yaklaşık %90'lara yükselmiştir [16].

2.2.1. Etyoloji

Wilms tümörü böbreğin embriyonel bir malignitesidir. Hastaların %1-2'sinin tümöre ailesel yatkınlığı olmasına rağmen çoğu sporadiktir. Ailesel olgular değişken penetranslı otozomal dominant kalıtım gösterirler. Daha erken yaşta bulgu verme ve bilateral olma eğilimindedirler. Genetik bir mutasyonun tümör prekürsörü

olan nefrojenik kalıntıların oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir [16]. Sebat eden bu kalıntıların, eklenen mutasyonların da etkisiyle Wilms tümörüne dönüşmesi olasıdır. Nefrojenik kalıntılar, WAGR (Wilms tümörü, aniridi, genitoüriner anormallikler ve mental retardasyon) sendromu ve Denys-Drash sendromunda intralobar, Beckwith-Wiedemann sendromunda (BWS) ise perilobar ve sıklıkla çoklu olarak bulunurlar (Tablo 5).

Wilms tümörü genetik olarak heterojen bir tümördür. En iyi bilinen Wilms tümörü geni, kromozom 11p13'te lokalize olan *WT1* genidir. Ek olarak *WT2*, *FWT1*, *FWT2* genleri de Wilms tümörü ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Wilms tümörü ile ilişkili durumlar [16]

WILMS TÜMÖRÜ İLE İLİŞKİLİ DURUMLAR		
SENDROM	KLİNİK ÖZELLİKLERİ	GENETİK BOZUKLUKLAR
Wilms tümörü, aniridi, genitoüriner anormallikler ve mental retardasyon (WAGR) sendromu	Aniridi, genitoüriner anormallikler, mental retardasyon	11p13 delesyonu (<i>WT1</i> ve <i>PAX6</i> gen lokusları)
Denys-Drash sendromu	Renal mezengiyal skleroz ve erken başlangıçlı böbrek yetersizliği, erkek psödohermafroditizmi	<i>WT1</i> missens mutasyonu
Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS)	Hemihipertrofi, organomegali (karaciğer, böbrek, adrenal bez, pankreas), makroglossi ve omfalosel	Uniparental paternal dizomi, kromozom 11p15.5 duplikasyonu ve genomik imprinting kaybı, <i>p57KIP57</i> mutasyonu Kromozom 11p15.5 (<i>WT2</i> lokusu)'deki <i>IGF2</i> ve <i>H19</i> imprinting kontrol bölgesinin delesyonu

2.2.2. Klinik Bulgular

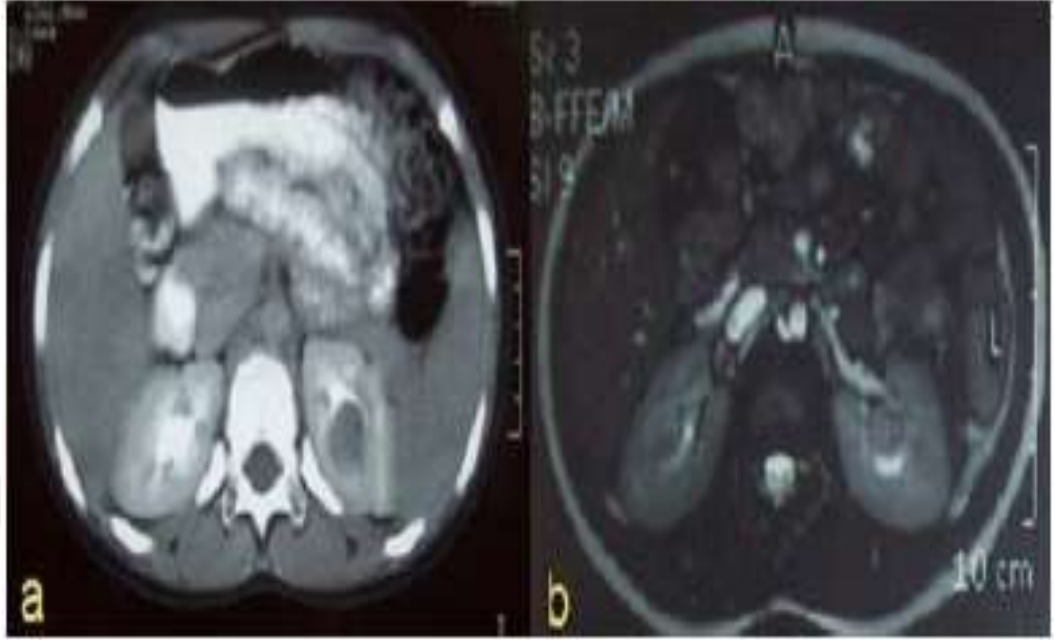
Wilms tümörünün en sık prezentasyon şekli banyo yaptırılan ya da giydirilen çocukta, anne ya da baba tarafından tesadüfen fark edilen semptomsuz abdominal kitledir. Bazıları rutin fizik muayene sırasında hastanın doktoru tarafından fark edilir. Tanı sırasında olguların %25'inde hipertansiyon vardır. Bu durumdan tümörün salgıladığı renin sorumlu tutulmaktadır. Bununla birlikte, etyoloji vakaların çoğunda bilinmez. Bazı hastalar karın ağrısı ile başvururlar. Olguların yaklaşık %15 ile 25'inde genellikle semptomsuz olan hematüri görülür.

Wilms tümörü olan çocukların %4-10'unda inferior vena kavaya, nadiren de sağ atriuma uzanan trombüs görülür. Bazı olgularda, demir eksikliği ya da kronik hastalığa bağlı mikrositer anemi, polistemi, trombositoz ve edinsel Von Willebrand faktör ya da faktör VII eksiklikleri görülebilir [16].

2.2.3. Tanı

Çocuklarda saptanan bütün karın kitleleri, tanı konulana kadar malign kabul edilmelidir. İntrarenal kitleyi görüntülemek, adrenal kitleler (örn; nöroblastom) ve diğer karın kitlelerinden ayırt etmek için kullanılabilecek başlıca görüntüleme yöntemleri düz karın grafisi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve/veya manyetik rezonans (MR) görüntülemesidir [16].

Ultrasonografi solid ya da kistik kitlelerin tanısında yardımcı olur. BT (Şekil 2a) ve/veya MR (Şekil 2b), hastalık yaygınlığının, diğer taraftaki böbrek bütünlüğünün ve metastazların değerlendirilmesinde oldukça yararlıdır.



Şekil 2a/2b: Sol böbrekteki kitlenin BT görüntüsü (a), MR görüntüsü (b) [22]

Wilms tümörü lezyonları metabolik olarak aktiftirler ve florodeoksiglukoz (FDG) tutarlar. Komşu dokulardaki tümör lezyonları ve metastatik odaklar pozitron emisyon tomografi (PET/ BT) incelemesiyle genellikle saptanır (Şekil 3). Ayrıca PET/BT relaps Wilms tümörlü hastaların tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde, bölgesel lenf bezi tutulumu, pelvik yumuşak doku tutulumu, karaciğer metastazı olan olguların takibinde ve rekürren hastalık durumunda oldukça yararlıdır [16].



Şekil 3: Opere Wilms tümörlü olgunun PET/BT görüntüsünde FDG tutulumu gösteren sol paraaortik lenf nodu [25]

2.2.4. Evreleme

Wilms tümörünün hastalık evresinin belirlenmesinde kullanılan Çocuk Onkoloji Grubu (COG) evreleme sistemi Tablo 6’da verilmiştir [16].

Tablo 6: Wilms tümörü evreleme

WILMS TÜMÖRÜ EVRELEME	
Evre I	Böbreğe lokalize olan ve tamamen çıkarılabilen tümör. Renal kapsül, sinüs damarları ve bölgesel lenf nodları tutulmamıştır. Renal kapsül intakt (biyopsi ve rüptür yok)
Evre II	Böbrek dışına uzanım gösteren ancak tamamen çıkarılabilen, cerrahi sınır ve lenf bezlerinin negatif olduğu tümör. Renal sinüs yumuşak dokuları, renal kapsül ya da renal sinüs damarları tutulmuştur
Evre III	Cerrahi sonrası, karın içine sınırlı rezidüel tümör kalması (bazen inoperabl olabilir); cerrahi sınırda pozitiflik; tümörün parçalanması; tümörün periton yüzeyine saçılması; preoperatif biyopside bölgesel lenf bezi metastazı saptanması (abdomen ya da pelvis lenf nodu tutulumu); tümör trombüsünün inferior vena kava ve kalbe uzanması; preoperatif kemoterapi almış olgular
Evre IV	Hematojen metastazların olması (akciğer, karaciğer, kemik, beyin v.b.); karın ve pelvis bölgesi dışında lenf nodu metastazı olması
Evre V	Tanı sırasında bilateral tümör olması

2.2.5. Prognoz

Prognozu olumsuz etkileyen risk faktörlerine (metastaz, kötü histoloji, anaplazi varlığı, rekürren hastalık ve 1p ve 16q'da heterozigosite kaybı gibi) rağmen Wilms tümörlü çocukların çoğunun prognozu iyidir. Bazı iyi özellikleri olan (düşük evre, düşük tümör ağırlığı v.b.) olgularda sağkalım oranı %90'ı bulur. Wilms tümörü, tedaviye en iyi yanıt veren çocukluk çağı solid tümörlerindendir. Tablo 7'de Wilms tümörlü hastaların prognostik faktörlerinden detaylı olarak bahsedilmektedir [16].

Tablo 7: Wilms tümörü prognostik faktörler

WILMS TÜMÖRÜ PROGNOSTİK FAKTÖRLER		
	İYİ	KÖTÜ
Evre	Evre I-II	Evre III- IV- V
Tümörün Ağırlığı	< 550 gr	≥ 550 gr
Patoloji	- Kemoterapi sonrası tam nekrotik tümör -Anaplazi* yok	-Kemoterapi sonrası blastamel baskın tümör -Anaplazi* var
Metastaz	-	+
1p ve 16q'da Heterozigosite Kaybı	-	+

* Anaplazi tanımı için kullanılan kriterler; (1) komşu hücrelerin çekirdeklerine göre en az üç kat artmış çekirdek varlığı, (2) büyümüş hücrelerdeki artmış kromatin içeriğini gösteren hiperkromazi varlığı, (3) multipolar ya da polipoid mitotik figürlerin varlığı olarak tanımlanır. Anaplazi tanımı için bu bulguların hepsinin varlığı gerekir.

2.2.6. Tedavi

Wilms tümörü tetkik ve tedavisinin planlanmasında etkin olan başlıca iki grup vardır. Çocuk Onkoloji Grubu (COG), tıbbi tedaviden önce cerrahi müdahale yapılması gerektiğini savunurken, Uluslararası Pediatrik Onkoloji Derneği (SIOP) preoperatif kemoterapi yapılmasını önermektedir. Her iki düşüncenin de avantaj ve kısıtlılıkları olmakla birlikte tedavi sonuçları benzerdir. Önce cerrahi yapılması, kesin tanı konulmasına ve belirlenen risk doğrultusunda tedavi planlanmasına olanak verir. Preoperatif kemoterapi ise yapılacak cerrahiye kolaylaştırır ve işlem sırasında tümör rüptürü ve yayılma olasılığını azaltır.

Çocuk Onkoloji Grubu'nun(COG), tümörün risk kategorisine göre belirlediği tedavi rehberleri (spesifik ilaç dozu ve uygulama önerileri) Tablo 8'de mevcuttur [67]. İki yaş altındaki 550 gramdan hafif tümörü olan çocuklar düşük risk grubunda kabul edilirler. Bu hastaların tedavisinde, nefrektomi yeterli olur. Ancak yine de yakından izlenmelidirler. Evre III hastalığı olup 1p ve 16q'da heterozigosite kaybı saptanan yüksek riskli hastalar ve iyi histolojili evre IV hastalar, üç ilaçlı yoğun tedavi rejimi sonrası nefrektomiye giderler. Cerrahi sonrasında ise radyoterapi alırlar [16].

Tablo 8: Wilms tümörlerinde tedavi rejimleri

PEDİATRİK WILMS TÜMÖRÜNDE TEDAVİ REJİMLERİ			
Histoloji/Evre	Kemoterapi	Kemoterapi süresi	Radyoterapi
İyi histolojili - Evre I-II - Evre III-IV-V	VCR/AMD VCR/AMD/DOX	18 hafta 24 hafta	Yok -Lokal evre III için flank ya da abdomen -Metastatik bölgeler
Fokal anaplazik - Evre I - Evre II-IV-V	VCR/AMD VCR/AMD/DOX	18 hafta 24 hafta	-Flank ya da abdomen -Metastatik bölgeler
Diffuz anaplazik - Evre I - Evre II-IV-V-V	VCR/AMD VCR/DOX/CYCLO/ETOP	18 hafta 24 hafta	-Flank ya da abdomen -Metastatik bölgeler

*VCR: vinkristin; AMD: daktinomisin; DOX: doksorubisin; CYCLO: siklofosfamid; ETOP: etoposid

Daha önce yalnızda aktinomisin D ve vinkristin alan rekürren Wilms tümörlü hastalarda dört yıllık olaysız sağkalım (EFS) oranı yaklaşık %70 iken; vinkristin, aktinomisin D ve doksorubisinden oluşan üç ilaçlı kemoterapi rejimi alanlarda bu oran %40'tır. İzlem sırasında sağlam böbrekte de primer Wilms tümörü gelişen olguların tedavisinde, kronik böbrek yetersizliğinden kaçınma amacıyla, nefrektomi yerine, böbrek koruyucu cerrahi ve kemoterapi uygulanır. Rekürren tümör tedavisinde kullanılan diğer ajanlar: doksorubisin, karboplatin, ifosfamid, topotecan, irinotecan, dosetaksel ve etoposiddir [16].

2.3. Wilms Dışı Böbrek Tümörleri

Wilms dışı böbrek tümörleri tüm çocukluk çağı kanserlerinin %1'den azını oluşturur. En sık görülenler; böbreğin şeffaf hücreli sarkomu, renal rabdoid tümör, konjenital mezoblastik nefroma ve renal hücreli karsinomdur. Bunlar primer böbrek tümörlerinin %10'dan azını oluştururlar.

2.3.1. Renal Rabdoid Tümör

Böbreğin malign rabdoid tümörü, genellikle daha küçük çocuklarda görülen, böbrek tümörleri içinde %2 görülme sıklığına sahip malign seyirli bir tümördür. Ortalama görülme yaşı 13 ay olup vakaların çoğu iki yaşın altındadır. Nadir ancak agresif seyirli bir tümördür. Hematüri yaygın bir başvuru nedenidir. Anemi ve ateş gibi semptomlarda sık görülür. Tümör genellikle lenf nodları, akciğerler, karaciğer ve beyine metastaz yapar. Prognozu kötü olan bu tümörlerde uygulanan tedavi yöntemleri ile mortalite %80'lerde olup kür oranları oldukça düşüktür [16].

2.3.2. Konjenital Mezoblastik Nefroma

Yenidoğanlarda en sık görülen solid renal tümör, konjenital mezoblastik nefromadır. Pek çok olgu prenatal ultrasonografide saptanır. Polihidramniyoz, hidrops fetalis ve erken doğuma neden olabilir. Olguların çoğu yaşamın ilk üç ayında tanı alır. Klasik ve selüler tip olmak üzere iki türü vardır. Klasik tip mezoblastik nefroma; doğum sırasında ortaya çıkar, daha nadir görülür. Selüler tip mezoblastik nefroma ise klasik tipe oranla daha sık görülür. Mezoblastik nefromaların neredeyse tamamı (%95) benign tümörlerdir. Bunlar genellikle kapsüllü olmayan, kolay zedelenebilen, lokal olarak invazif tümörler olup cerrahi olarak tamamen çıkarılması çok önemlidir. Kitlesi tam rezeke edilen vakalarda çoğunlukla ek tedaviye gerek duyulmaksızın yakın izlem yeterli olur. Ancak hastalığın kemoterapi ya da radyoterapiye yanıtı iyi olmayıp kitlesi cerrahi olarak tamamen çıkarılamayan vakalarda lokal rekürrens ve uzak metastaz riski vardır. Nadir olmasına rağmen akciğer, karaciğer, kalp ve beyin metastazları ile seyreden malign türleri de mevcuttur [16].

2.3.3. Çocukluk Çağının Renal Hücreli Karsinomu

Çocuklarda böbreğin malign epitelyal tümörleri seyrek görülür ve tüm çocukluk çağı kanserlerinin %0,1'inden azını oluşturur. Ortalama görülme yaşı 9-10 yaştır. Erişkindeki böbrek hücreli tümörlerin aksine; çocukluk çağı böbrek hücreli tümörlerde çevresel faktörlerin rol oynadığı gösterilmemiştir. Çocuklardaki en sık üç alt türü görülür: Papiller hücreli karsinom, renal medüller karsinom, Xp11.2 translokasyonlu böbrek hücreli karsinom [16].

American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve Union International Contra le Cancer (UICC) tarafından hazırlanan TNM sınıflama ve evreleme sistemi 2010 versiyonu güncel olarak kullanılmaktadır (Tablo 9, Tablo 10).

Tablo 9: Renal hücreli karsinomlarda TNM sınıflaması [15]

- *T:Primer tümör*
- *Tx Primer tümör saptamak için veriler yeterli değildir.*
- *T0 Primer tümöre ait kanıt yok*
- *T1 Tümör en büyük boyutu ≤ 7 cm, böbrek içinde sınırlı*
- *T1a Tümör büyük çapı ≤ 4 cm*
- *T1b Tümör büyük çapı >4 cm ama ≤ 7 cm*
- *T2 Tümör en büyük boyutu >7 cm, böbrek içinde sınırlı*
- *T2a tümör boyutu 7-10 cm, böbrek içinde sınırlı*
- *T2b tümör boyutu >10 cm, böbrek içinde sınırlı*
- *T3 Tümör major venlere yayılmış veya perinefrik dokuları tutmuş ancak ipsilateral sürrenal bezi tutmamıştır ve gerota fasyasını aşmamıştır.*
- *T3a Tümör perinefrik dokuları, renal sinüs veya renal veni tutmuş.*
- *T3b Tümör V. Kava'yı diafragma altında gros olarak tutmuştur.*
- *T3c Tümör V. Kava'yı diafragma üstünde gros olarak tutmuştur.*
- *T4 Tümör gerota fasyasını aşmıştır veya direkt adrenal bez içine invazyon yapmıştır.*
- *N:Bölgesel Lenf Nodları*
- *Nx Bölgesel lenf nodlarını saptamak için veriler yeterli değildir.*
- *N0 Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok.*
- *N1 Tek veya birden fazla lenf nodunda metastaz vardır.*
- *M:Uzak Metastaz*
- *M0 Uzak metastaz yok.*
- *M1 Uzak metastaz var.*

Tablo 10: Renal hücreli karsinomlarda evreleme [15]

<i>Hastalık karakteri</i>	<i>Skor</i>			<i>Evre</i>
	<i>Tümör</i>	<i>Lenf Nodu</i>	<i>Metastaz</i>	
<i>Renal kapsüle sınırlı</i>				
≤ 4 cm	1a	0	0	I
>4 cm - <7 cm	1b	0	0	I
>7 cm	2	0	0	II
<i>Renal kapsülü aşmış; Gerato fasyası ile sınırlı</i>	3a	0	0	III
<i>Renal ven veya V.Cava tutulumu</i>	3b/c	0	0	III
<i>Lenf nodu tutulumu</i>	1-3a	1	0	III
<i>Direkt organ invazyonu</i>	4	Herhangi N	0	IV
<i>Metastatik</i>	Herhangi T	Herhangi N	1	IV

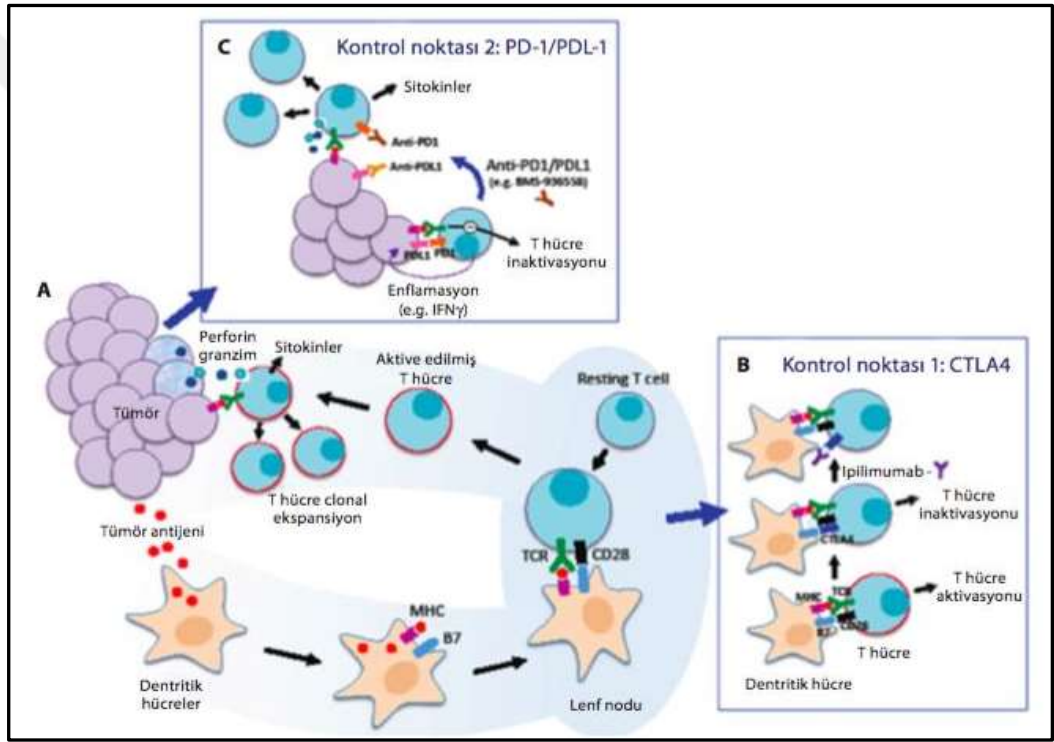
2.3.4. Berrak Hücreli Sarkom

Berrak hücreli sarkom oldukça nadir görülen bir pediatrik tümördür. Son derece kötü klinik gidişatlı bir tümördür. Sıklıkla 1-4 yaşları arasında görülür ve klinikte genellikle abdominal kitle ile kendini gösterir. İskelet sistemi başta olmak üzere diğer organlara metastaz yapma potansiyeli yüksektir. Tedavide doksorubisin özellikle etkili bir ilaçtır. Erken evre hastalıkta prognoz mükemmeldir [16].

2.4. İmmün Kontrol Noktaları ve Kanser İmmünoterapisi

Vücudumuzda T hücre aktivasyon ve inhibisyonunu sağlayan bazı kontrol mekanizmaları vardır. Antijen sunan hücrelerin yüzeyinde yer alan MHC-peptid

kompleksine bağı antijenin, T hücre üzerindeki reseptöre (TCR) bağlanması tek başına T hücre yanıtı için yeterli değildir. Eş uyaran moleküllerin de antijen sunan hücre üzerindeki domainleri ile T hücrelerine bağlanması gerekmektedir. Bu eş uyaranlar, T hücrelerini aktive edici ya da inhibe edici etkilere sahip olabilirler. Eş uyaran-ligand etkileşimleri immün sistemin esas kontrol noktalarıdır (Resim 1).



Resim 1: İmmün kontrol noktaları ve immünoterapi [26]

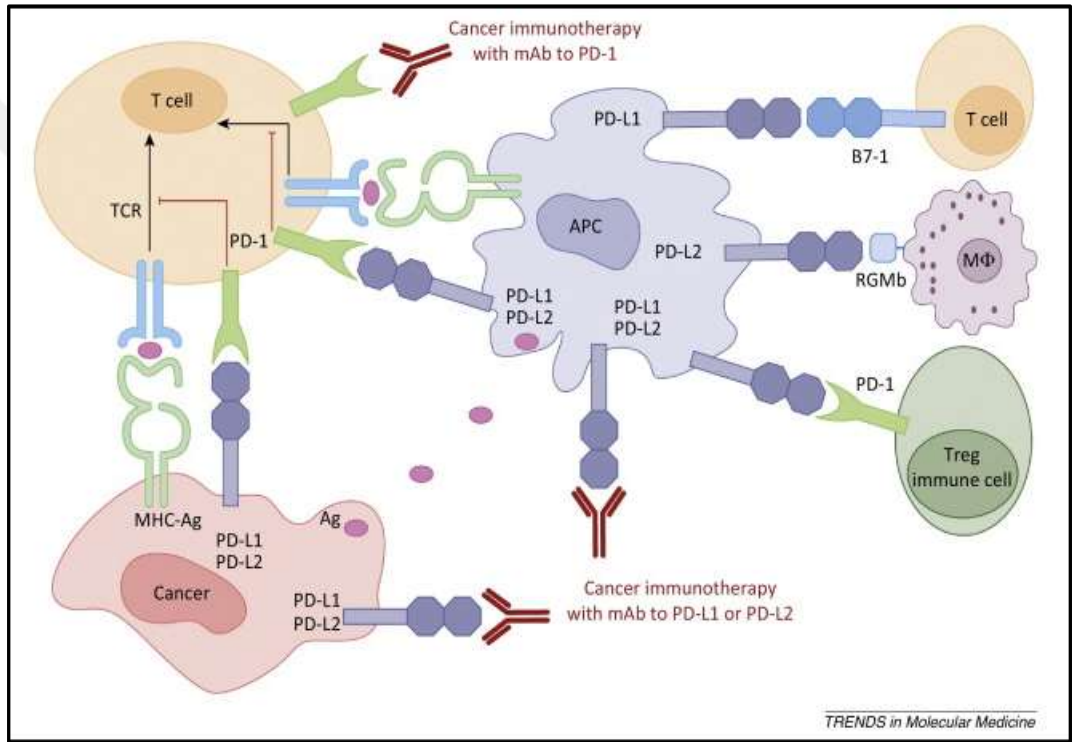
Günümüzde bu immün kontrol noktaları üzerinde geliştirilen tedavi yöntemleri kanser ile savaşta umut veren yeni yöntemler arasına girmiştir ve özellikle bazı reseptörler ve ligandlar üzerinde çalışılmaktadır. Bunlardan en sık araştırılanlar arasında; PD-1 reseptörü ve ligandı PD-L1 yer almaktadır.

PD-1, Tasuku Honjo ve arkadaşları tarafından 1992’de keşfedilmiştir. PD-1, aktive olmuş T hücrelerinde, regülatuar T hücrelerinde, B hücrelerinde, NK hücrelerinde, aktive monosit ve dendritik hücrelerde eksprese edilen bir reseptördür. Görevi, immünolojik aktivasyonu sınırlandırmak ve inhibe etmektir. PD-1’e bağlanarak bu inhibisyonun gerçekleşmesini sağlayan iki ligand; PD-L1 (B7-H1) ve PD-L2 (B7-DC) mevcuttur [38].

PD-L1, kromozom 9’da yer alan CD 274 geni tarafından kodlanan bir transmembran yüzey glikoproteinidir. PD-L1 yapımı aktive T hücreleri ve NK hücreleri tarafından salınan interferon gama (IFN- γ) tarafından indüklenir. Aktive B ve T hücrelerinde, antijen sunan hücrelerde, endotelyal hücrelerde ve akciğer, meme, pankreas, kolon, böbrek kanserleri gibi bazı solid tümörlerde ekspresyonu mevcuttur [23-24, 39-41]. PD-L1’in tümör hücrelerindeki ekspresyonu iki mekanizma ile açıklanmaktadır:

1. Fosfoinozitid 3 kinaz/protein kinaz B (PI3K/AKT), ekstrasellüler sinyal regülatuar protein kinaz/mitojen aktive edici kinaz (Erk/MAPK) gibi çeşitli genetik onkogenik sinyal yollarının aktivasyonu sonucu PD-L1 ekspresse edilir.
2. Daha dinamik bir yolak olan tümör mikroçevresindeki bağımsız inflamatuvar sinyaller (IFN- γ gibi) ile PD-L1 ekspresyonu sağlanır [42, 43]. Bu tür ekspresyonlar daha çok tümörün invaziv olduğu ve T hücrelerinden zengin olan alanlardaki tümör hücrelerinde görülür [43, 44].

PD-L1 ligandı olan tümör hücreleri, aktive T hücrelerindeki PD-1 reseptörüne bağlanarak, tümör mikroçevresindeki dendritik hücreler aracılığıyla lenf nodunda, hem kazanılmış hem de doğal immün sistemi inhibe ederler (Resim 2).



Resim 2: PD-L1 aracılı immün sistem inhibisyonu [27]

2.5. Çocukluk Çağı ve Erişkin Tümörlerde PD-L1 Ekspresyonu

PD-L1, birçok solid tümörde eksprese edilen (Resim 3) transmembran yüzeyli bir glikoproteindir ve ekspresyonu sıklıkla kötü prognoz ile ilişkilidir [51, 55- 57].



Resim 3: Çeşitli kanser türlerinde PD-L1 ekspresyonu

Literatürde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili erişkin solid tümörlerde çok fazla araştırma yapılmış olmasına rağmen, pediatrik solid tümörlerde PD-L1 ekspresyonu hakkında oldukça az çalışma bulunmakta olup çalışmalar arasında çelişkili sonuçlar mevcuttur.

Yapılan bu az sayıdaki çalışmada pediatrik tümörlerden; Hodgkin lenfoma, nöroblastom, rabdomiyosarkom, Ewing sarkomu, osteosarkom, glioblastoma multiforme, Wilms tümörü gibi çok çeşitli tümörlerde PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmiştir.

Nöroblastomlu 41 pediatrik hastada yapılan bir çalışmada, olguların %12'sinde (n=5) yüksek PD-L1 ekspresyonu tespit edilmiş olup PD-L1 ekspresyonu kötü OS ile ilişkilendirilmiştir [9]. Chowdhury ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise; yüksek riskli nöroblastom, rabdomiyosarkom, Ewing sarkomu ve osteosarkom dahil olmak üzere 115 pediatrik solid tümörlü vakanın 66'sında (%57) yüksek membranöz PD-L1 ekspresyonu bildirilmiştir. 43 nöroblastomlu olgu içerisinde 31 olguda (%72) artmış PD-L1 ekspresyonu gösterilmiş olup yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren tümörlerin, göstermeyenlere kıyasla daha iyi OS oranına sahip oldukları saptanmıştır [10]. Pediatrik 451 olguda yapılan başka bir araştırmada ise; nöroblastom, glioblastoma multiforme, Burkitt lenfoma ve diğer solid tümörlerde PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Toplam 118 nöroblastomlu olgunun 17'sinde (%14) pozitif PD-L1 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda herhangi bir evrede ya da herhangi bir risk grubunda artmış PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır [11]. Aoki ve arkadaşlarının 18 nöroblastomlu hastada yaptıkları bir çalışmada ise, hiçbir olguda pozitif PD-L1 ekspresyonu gözlemlenmemiştir [19]. 2018 yılında nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ile ilgili Saletta ve arkadaşları tarafından yapılan en son çalışmada; 254 olgunun 48'inde (%19) pozitif PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. Bu çalışmada

diğer çalışmaların aksine; PD-L1 ekspresyonu pozitif nöroblastomlu hastaların, diğer olgulara göre daha iyi bir OS oranına sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Routh ve arkadaşlarının 81 Wilms tümörlü hastada yaptıkları araştırmada olguların %14'ünde (n=11) artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmış olup; PD-L1 ekspresyonunun, potansiyel olarak prognostik bir belirteç ve terapötik bir hedef olabileceği belirtilmiştir [8]. Pinto ve arkadaşları tarafından 20 Wilms tümörlü hastada yapılan bir başka çalışmada ise, hiçbir olguda pozitif PD-L1 ekspresyonu saptanmamıştır [59].

PD-L1 ekspresyonunun prognoz ve sağkalım üzerine etkisi konusunda literatürde çelişkili sonuçların yer almasında; çalışmalarda farklı skorlama sistemlerinin kullanılması, hasta popülasyonunun heterojenitesi, antikor boyama kitleri, boyama prosedürleri ve antijen alım teknikleri arasındaki farklılıkların rol alması muhtemeldir.

Pediyatrik tümörlerde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili çalışmalar, araştırmalarda kullanılan PD-L1 antikorları, boyama ve skorlama yöntemlerinin listesi Tablo 11'de özetlenmiştir [66].

Tablo 11: Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili literatürdeki çalışmalar [66]

Study	First Author	Diagnosis	Antibody	IHC Method	Cutoff ^a (%)	PD-L1 Positive, No. (%)
Pediatric						
	Routh ¹⁷	Wilms tumors	B7-H1 (clone 5H1) [†]	Manual	> 5	11 of 81 (14)
	Uehara ¹⁸	Neuroblastoma	NS	NS	NS	5 of 41 (12)
	Aoki ¹⁹	Neuroblastoma	PD-L1 (E1L3N; Cell Signaling)	BenchMark XT (Ventana)	> 5	0 of 18 (0)
		Sarcomas				1 of 3 (33)
	Chowdhury ²⁰	Neuroblastoma	CD274 (ab58810; Abcam)	Bond-RMAX (Leica)	> 5	31 of 43 (72)
		Sarcomas				35 of 59 (59)
	Saletta [‡]	Neuroblastoma	PD-L1 (E1L3N; Cell Signaling)	Bond-RX (Leica)	> 1	48 of 254 (19)
		Sarcomas				7 of 96 (7)
Adult						
	Boland ⁵	Squamous cell carcinoma	B7-H1 (clone 5H1)	Manual	> 1	42 of 214 (20)
	Karim ⁶	Cervical carcinoma	B7-H1 (clone 5H1)	Manual	NS	22 of 115 (19)
	Thompson ⁷	Renal-cell carcinoma	B7-H1 (clone 5H1)	Manual	> 5	73 of 306 (24)
	Cooper ⁸	Non-small-cell carcinoma	PD-L1 (clone 22C3, Merck)	Autostainer Plus (Dako)	> 1	223 of 678 (33)
	Madore ⁹	Melanoma	PD-L1 (clone 22C3, Merck)	Autostainer Plus (Dako)	> 1	20 of 38 (53)
	Mu ²⁷	NSCLC	NS	Manual	> 1	58 of 109 (53)
	Leite ²⁸	Renal cell carcinoma	anti-PD-L1 (Abcam)	Bond-III (Leica)	> 1	65 of 115 (57)
	Qin ²⁹	Breast cancer	PD-L1 (E1L3N; Cell Signaling)	Discovery XT (Ventana)	> 5	189 of 870 (22)
	Yang ³⁰	Pulmonary adenocarcinoma	Proteintech Group	Manual	> 5	65 of 163 (40)

Abbreviations: IHC, immunohistochemistry; NS, not specified; NSCLC, non-small cell lung cancer; PD-L1, programmed death-ligand 1.

^aPercentage of tumor cells showing PD-L1 membrane staining.

[†]Not commercially available.

[‡]This article.

Erişkin tümörlerde; PD-L1 ekspresyonu, akciğer kanseri, pankreas kanseri, kolorektal kanserler, mide kanseri, serviks kanseri, over kanseri, malign melanom, lenfoma ve baş boyun tümörlerinde gösterilmiştir. Literatürde özellikle küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili oldukça fazla sayıda çalışma mevcuttur.

Wendy A. Cooper ve arkadaşları, erken evre küçük hücre dışı akciğer kanserli (KHDAK) hastalarda (n=678) yaptıkları çalışmada, adenokarsinomda; %5,1, skuamöz hücreli karsinomda; %8,1 ve büyük hücreli karsinomda; %12,1 oranında pozitif PD-L1 ekspresyonu saptamışlardır ve yüksek PD-L1 ekspresyonu olan hasta gruplarının daha uzun OS oranına sahip olduğu bildirilmiştir [68]. Takaaki ve arkadaşları tarafından KHDAK'li hastalarda (n=74) yapılan başka bir çalışmada; %74 oranında pozitif PD-L1 ekspresyonu bildirilmiş olup, PD-L1 ekspresyonu yüksek olanların OS oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür [30].

KHDAK'lerinde pozitif PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasında anlamlı ilişki bulunmayan çalışmalar da mevcuttur [31-34]. Amerantunga ve arkadaşları tarafından KHDAK'li hastalarda yapılan çalışmada; tümör hücrelerindeki pozitif PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır [35].

Literatürde PD-L1 ekspresyonu, erişkinlerde diğer kanser türlerinde de (pankreas kanseri [36], kolorektal kanserler [37], mide kanseri [46], serviks kanseri [50], over kanseri [53], renal hücreli karsinom ve malign melanom) araştırılmış olup çoğunlukla kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

Günümüzde PD-1 ve PD-L1 inhibitörü ajanlar bazı kanserlerin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır [12, 13]. PD-1/PD-L1 blokajı, özellikle kötü prognozlu ve mevcut tedavilere refrakter hastalar için uygun bir tedavi seçeneği olabilir. Erişkinlerde bu amaçla geliştirilen ilaçlardan anti PD-1 ajanı olan 'pembrolizumab' ve 'nivolumab'; skuamöz ve non-skuamöz akciğer kanseri, melanom, renal hücreli karsinom, baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde tümöral dokuda PD-1 düzeyine

bakılarak kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır [28]. Anti PD-L1 ajanı olan ‘atezolizumab’ da metastatik üroepitelyal karsinom, küçük hücre dışı akciğer kanseri, mesane kanseri tedavisinde tümöral dokuda PD-L1 düzeyi değerlendirilerek tedavide kullanılmak üzere FDA onayı almıştır (Tablo 12).

Tablo 12: Erişkinlerde anti PD-1 ve anti PD-L1 ajanlarının klinik kullanımı [28]

Pembrolizumab	PD-1	Non-small-cell lung cancer Melanoma	FDA approved
Nivolumab	PD-1	Head and neck cancer Non-small-cell lung cancer Melanoma Renal cell cancer Head and neck cancer Hodgkin lymphoma	FDA approved
Pidilizumab	PD-1	Diffuse large B-cell lymphoma Multiple myeloma	Phase II – NCT02530125 Phase I/II – NCT02077959
PDR001	PD-1	Neuroendocrine tumors	Phase II – NCT02955069
Atezolizumab	PD-L1	Non-small-cell lung cancer Bladder cancer	FDA approved
Durvalumab	PD-L1	Head and neck cancer Non-small-cell lung cancer	Phase III – NCT02369874 Phase III – NCT02453282
Avelumab	PD-L1	Non-small-cell lung cancer Breast cancer Ovarian cancer	Phase III – NCT02576574 Phase III – NCT02926196 Phase III – NCT02580058

Abbreviations: FDA, Food and Drug Administration; PD-1, programmed cell death-1; PD-L1, programmed death-ligand 1.

Erişkin kanserlerde elde edilen bu umut verici sonuçlara rağmen, pediatrik kanselerde PD-1/PD-L1 ekspresyonunun yaygınlığı ve PD-1/PD-L1'e yönelik geliştirilen antikorların potansiyel kullanımı henüz araştırma aşamasındadır. Şu ana kadar çocukluk çağı tümörlerinde sadece Hodgkin lenfoma tedavisinde, anti PD-1 ajanı olan ‘pembrolizumab’, tümöral dokuda PD-1 düzeyine bakılarak kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır [28]. Diğer çocukluk çağı tümörlerinde anti

PD-1/anti PD-L1 ajanların kullanımı konusundaki çalışmalar henüz faz I-II aşamasındadır (Tablo 13).

Tablo 13: Pediatrik tümörlerde anti PD-1 ve anti PD-L1 ajanlarının klinik kullanımı [28]

ClinicalTrials.gov identifier	Population	Agent	Other drugs	Design	Sponsor/comments
NCT02304458	Relapsed solid tumors	Nivolumab	+/-Ipilimumab	Phase I/II	COG
NCT02332668	Melanoma, PD-L1 positive solid tumors or lymphoma	Pembrolizumab	-	Phase I/II	35 institutions
NCT02359565	Recurrent high-grade glioma	Pembrolizumab	-	Phase I/II	PBTC
NCT02813135	Recurrent solid tumors	Nivolumab	Cyclophosphamide	Basket trial	European study
NCT02541604	Recurrent solid tumors	Atezolizumab	-	Phase I/II	Hoffmann-LaRoche
NCT03006848	Recurrent osteosarcoma	Avelumab	-	Phase II	St Jude
Abbreviations: COG, Children's Oncology Group; PBTC, Pediatric Brain Tumor Consortium; PD-L1, programmed death-ligand 1; PD-1, programmed cell death-1.					

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve Morfolojik Parametreler

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Onkoloji bölümünde 2006-2017 yılları arasında takip edilmiş yaşları 0-18 yaş arasında değişen toplam 65 olgu alınması planlanmıştır. Fakat üç olgunun tümöral doku örneğinin yetersiz olması ve iki olgunun doku preparatlarının mikroskopik incelemesinde yoğun nekrotik alanların bulunmasından dolayı değerlendirilememiş olup beş olgu (dördü nöroblastom, biri Wilms tümörü) çalışmadan çıkarılmıştır. Sonuç itibariyle, çalışmaya nöroblastom (n=34), Wilms tümörü (n=17) ve diğer renal tümörlere [konjenital mezoblastik nefroma (n=2), renal rabdoid tümör (n=2), renal hücreli karsinom (n=4), berrak hücreli sarkom (n=1)] sahip toplam 60 olgu dahil edilmiştir. Olgulara ait yaş, cinsiyet, tümör tipi, tümör çapı, histolojik tip, hastalığın klinik evresi, prognostik parametreler, lenf nodu tutulumu, uzak organ metastazı, sağkalım gibi bilgilere hasta takip dosyalarından ulaşılmıştır.

Tümörlerde PD-L1 ekspresyon derecesi ve PD-L1 ekspresyonu ile hastalık evresi, prognozu ve prognostik faktörler arasındaki ilişki araştırılması planlanmıştır. Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ile; hastanın yaşı, tümörün TPOG risk grubu, Shimada sınıflamasına göre histolojisi, metastaz bölgesi, mitozis karyoreksis indeks (MKİ) değeri, laktat dehidrogenaz düzeyi, PET BT'deki SUVmax değerleri, MYCN gen amplifikasyonu, bakılmışsa flow sitometrik DNA, 1p delesyonu, 11q kaybı, 17q kazanımı gibi prognostik faktörler arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Wilms tümörlü hastalarda, PD-L1

ekspresyonu ile; evre, tümör ağırlığı, anaplazi varlığı, tümör histolojisi, metastaz durumu gibi prognostik faktörler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

Diğer primer renal tümörlü (konjenital mezoblastik nefroma, renal rabdoid tümör, renal hücreli karsinom, berrak hücreli sarkom) hastalarda ise, PD-L1 ekspresyonu ile; evre, metastaz durumu arasındaki ilişkiye bakılması hedeflenmiştir.

Nöroblastom, Wilms tümörü ve diğer primer renal tümörlü hastalarda, OS ve EFS süreleri hesaplanmış olup; OS ve EFS süreleri ile PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

Hastaların sağkalım analizi değerlendirilirken, her olgu için tanı tarihi başlangıç noktası olarak alındı. Bitiş noktası olarak nüks ya da exitus olan olgularda, hastalık tanısı konduktan sonra nüks ya da exitus tarihi, diğer olgular için bitiş tarihi '31.03.2018' seçildi. Aradaki süre ay olarak hesaplandı.

Hastaların tümöral doku örnekleri Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarında PD-L1 ekspresyonu açısından değerlendirildi.

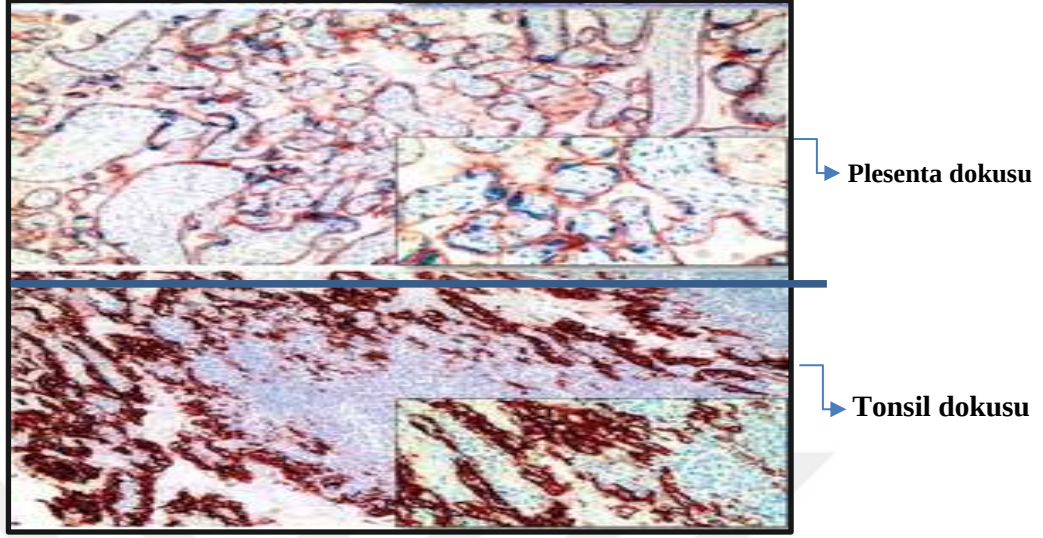
Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde 01 Aralık 2017 tarihinin 11/2017-546 nolu karar ile yerel etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

3.2. Olguların Hazırlanması

Olguların seçimi sırasında, her bir olgunun hemotoksilen&eoizin boyalı tümör preparatları incelenerek tümör hücrelerinin en yoğun ve nekrozun en az olduğu her bir olguya ait iki ayrı lam seçilmiştir. PD-L1 immünohistokimyasal boyama, modifiye doku mikrodizini yöntemi ile hazırlanan lamlarda yapılmıştır. Modifiye doku mikrodizini için seçilen lamlar X10'luk objektif büyütmede incelenerek, mikroskopik alanlar işaretlenmiştir. İşaretlenmiş alanlar kalıcı parafin bloklarından 3 mm'lik deri punch biyopsi aleti ile çıkarılmıştır. Çıkarılan dokular, satır ve sütünlarda hangi olgunun bulunduğunu gösteren haritalar hazırlanarak karışıklık önlenmiştir. Hazırlanan harita eşliğinde 4 satır ve 5 sütun içerecek şekilde ve bir blokta toplam 20 adet doku olacak şekilde tekrar bloklanmıştır. Rehber doku olarak plasenta dokusu kullanılmıştır (Resim 4).

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama

Kullanıma hazır anti-PD-L1 (klon SP142) rabbit monoklonal primer antikoru ile hazırlanan 4 µm kalınlığındaki formalin fikse kesitler VENTANA BenchMark ultra cihazında OptiView DAB IHC Algılama Seti ve OptiView Amplifikasyon kiti ile boyanmıştır. PD-L1 ekspresyonu her olgu için iki farklı gözlemci tarafından değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır (Resim 4).



Resim 4: Anti-PD-L1 (klon SP142) rabbit monoklonal antikoru ile boyanma (x40)
[29]

3.4. İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi

PD-L1 boyalı lamalar, vakanın klinik özellikleri bilinmeden iki farklı gözlemci tarafından değerlendirilmiştir. PD-L1 ekspresyonu, daha önceki çalışmalara benzer bir şekilde tümör hücrelerinde, membranöz boyanma anlamlı kabul edilerek ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Sitoplazmik, fibriler ve Schwannian boyanmalar anlamlı kabul edilmemiştir. Tümör hücrelerindeki (TH) boyanma skoru değerlendirilirken boyanma yoksa: 0, %1-5'i boyanmışsa: +1, %5-50'si boyanmışsa: +2, %50 ve üzeri boyanma: +3 skoru verilmiştir (Tablo 14). +1, +2 ve +3 skoru alan tümör hücreleri PD-L1 ekspresyonu açısından pozitif olarak kabul edilmiştir.

Tablo 14: Tümör hücreleri (TH) boyanma skoru ve yüzdesi

TH skoru	Boyanma Yüzdesi (TH)
0	<1
+1	≥ 1 ve < 5
+2	≥ 5 ve < 50
+3	≥ 50

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 20 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL Paket) programında yapılmıştır. Tanımlayıcı analizler için ortalama, standart sapma (SS), mean, frekans ve yüzde analizleri yapılmıştır. Kategorik değişkenler olgu sayıları, frekans dağılımları yüzde (%) biçiminde ifade edilmiş olup, kendi aralarında ki-kare testleri ile karşılaştırılmışlardır. Hastaların klinikopatolojik özelliklerinin sağkalım üzerindeki etkisini incelemek için Kaplan Meier testi kullanılmıştır ve Long- Rank analizi ile karşılaştırma yapılmıştır. Dağılımın normal olmadığı durumlarda iki sürekli değişken arasındaki ilişkinin belirlenmesi açısından spearman kolerasyon analizinden yararlanılmıştır. Farklılıklar, p değeri 0.05 den küçük olduğunda ($p < 0.05$) anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Tümör Karakteristikleri

Örnekleme yer alan 60 vakanın 31'i (%51,7) erkek, 29'u (%48,3) kız hastadan oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması $47,6 \pm 42,6$ aydır. Kız olguların yaş ortalamaları $39,50 \pm 36,66$ ay, erkek olguların yaş ortalamaları $54,76 \pm 45,53$ aydır. Tüm hastaların medyan takip süresi 79 aydır (min 6 ay max 143 ay).

Örnekleme yer alan olguların 34'ü (%56,7) nöroblastom, 17'si (%28,3) Wilms tümörü, dördü (%6,7) renal hücreli karsinom, ikisi (%3,3) konjenital mezoblastik nefroma, ikisi (%3,3) renal rabdoid tümör ve bir olguda (%bir,7) berrak hücreli sarkom tanılıydı.

4.2. Nöroblastomlu Hastaların Demografik Verileri

Çalışmaya 34 nöroblastomlu hasta dahil edildi. Olguların demografik özelliklerinden Tablo 15'te detaylı olarak bahsedilmektedir.

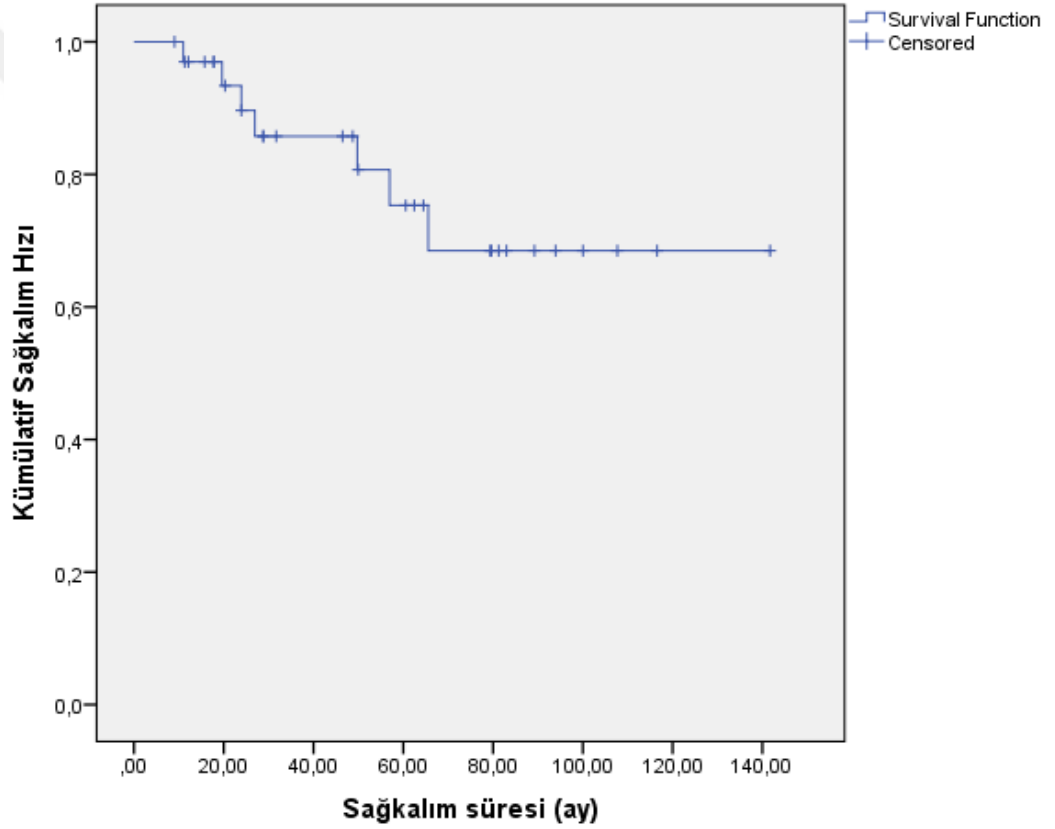
Tablo 15: Nöroblastomlu hastaların karakteristik özellikleri

Sayı (n)	34					
Yaş (ay)	<u>Ortalama</u>			<u><18 ay</u>		<u>≥18 ay</u>
	30,7 ± 27,9 ay			15 (%44)		19 (%56)
Cinsiyet	<u>Kız</u>			<u>Erkek</u>		
	14 (%41,2)			20 (%58,8)		
Evre	<u>Evre 1</u>		<u>Evre 2</u>		<u>Evre 3</u>	<u>Evre 4</u>
	3 (%8,8)		1 (%2,9)		9 (%26,5)	21 (%61,8)
Biyopsi	<u>Kemoterapi öncesi</u>			<u>Kemoterapi sonrası</u>		
	32 (%94)			2 (%)6		
PET BT SUVmax değeri	<u><2.5 (düşük)</u>			<u>>2.5 (yüksek)</u>		<u>Bakılmamış</u>
	6 (%23,1)			20 (%76,9)		8
Metastaz	<u>Var</u>			<u>Yok</u>		
	20 (%59)			14 (%41)		
Metastaz yeri	<u>Kemik iliği</u>	<u>Kemik</u>	<u>Karaciğer</u>	<u>Lenf nodu</u>	<u>Akciğer</u>	<u>Diğer (kranium, deri, pankreas, over, testis)</u>
	13(%28,9)	10(%22,3)	6(%13,4)	5(%11,1)	3(%6,7)	8(%17,6)
TPOG risk grubu	<u>Düşük risk</u>			<u>Orta risk</u>		<u>Yüksek risk</u>
	5 (%14,7)			13 (%38,2)		16 (%47,1)
Shimada sınıflaması	<u>İyi histoloji</u>			<u>Kötü histoloji</u>		
	26 (%76,5)			8 (%23,5)		
MKİ	<u><%2</u>			<u>%2-4</u>		<u>>%4</u>
	21 (%61,8)			7 (%20,6)		6 (%17,6)
Primer bölge	<u>Abdomen</u>			<u>Pelvik</u>		<u>Arka mediasten</u>
	26 (%76,5)			2 (%5,8)		6 (%17,6)
NSE düzeyi Ferritin düzeyi HVA ve VMA düzeyi LDH düzeyi	<u>Yüksek</u>			<u>Normal</u>		
	30 (%88)			4 (%12)		
	11 (%32,4)			23 (%67,6)		
	27 (%79,4)			7 (%20,6)		
	12 (%35,3)			22 (%64,7)		
MYCN gen amplifikasyonu 1p delesyonu 11q kaybı 17q kazanımı	<u>Pozitif</u>			<u>Negatif</u>		<u>Bakılmamış</u>
	8 (%23,5)			26 (%76,5)		0
	18 (%75)			6 (%25)		10
	9 (%37,5)			15 (%62,5)		10
	17 (%70,8)			7 (%29,2)		10
Flow sitometrik DNA	<u>Diploid</u>			<u>Hiperdiploid</u>		<u>Bakılmamış</u>
	16 (%66,7)			8 (%33,3)		10
Relaps/rezistan hastalık	<u>Var</u>			<u>Yok</u>		
	9 (%26,4)			25 (%73,6)		
Exitus	<u>Var</u>			<u>Yok</u>		
	7 (%20,6)			27 (%79,4)		

4.3. Nöroblastomlu Hastaların İstatistiksel Verileri

4.3.1. Nöroblastomlu hastaların OS süreler

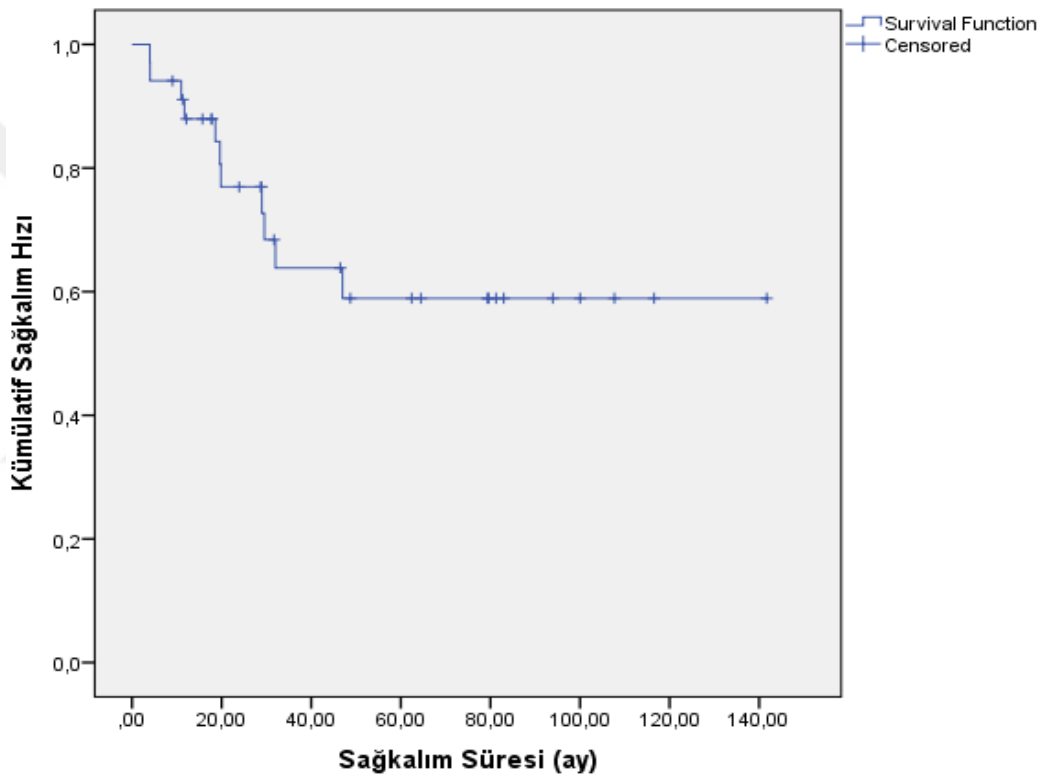
Nöroblastomlu hastaların ortalama OS süresi $110,1 \pm 10,1$ aydır (%95 GA=90,1-130,0 ay). Olguların; 2 yıllık OS oranı %89,6 ve 5 yıllık OS oranı %75,3 bulunmuştur. Kaplan Meier OS eğrisi grafik 1’de gösterilmiştir.



Grafik 1: Nöroblastomlu hastaların OS eğrisi

4.3.2. Nöroblastomlu Hastaların EFS Süreleri

Nöroblastomlu hastaların ortalama EFS süresi $92,8 \pm 11,6$ aydır (%95 GA= 70,0-115,6 ay). Olguların; 2 yıllık EFS oranı %76,9 ve 5 yıllık EFS oranı %58,9 bulunmuştur. Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 2’de gösterilmiştir.



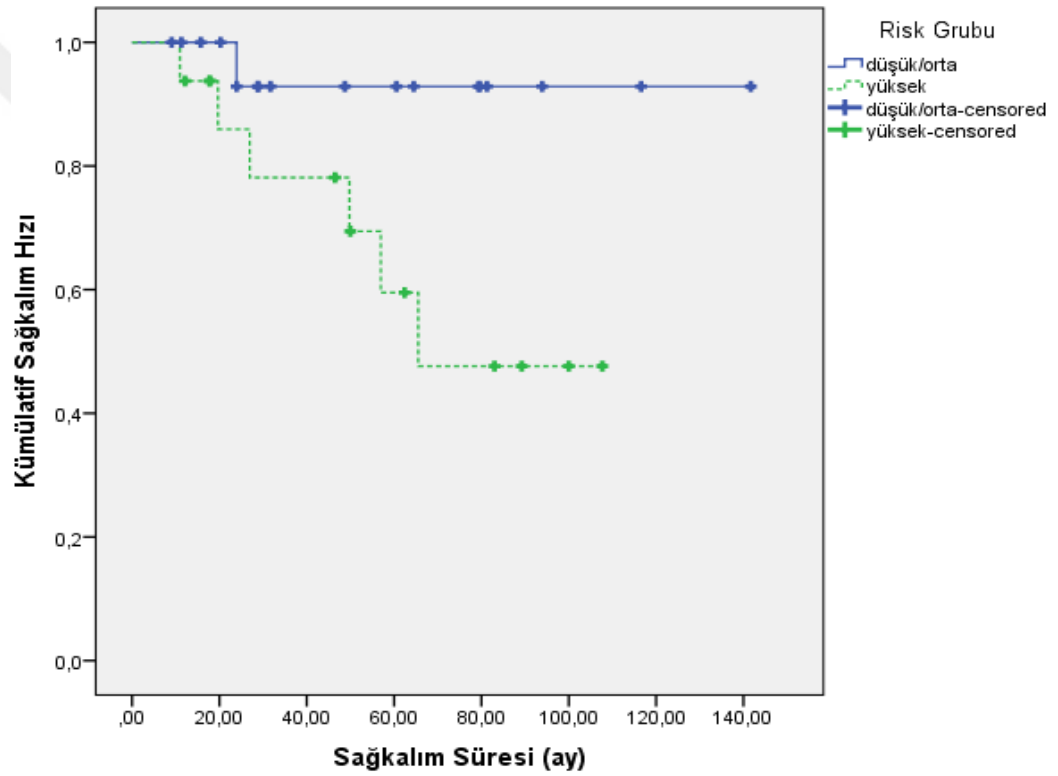
Grafik 2: Nöroblastomlu hastaların EFS eğrisi

4.3.3. Nöroblastomlu Hastaların TPOG Risk Gruplarına Göre OS Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, TPOG risk grupları arasında OS süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Düşük/orta riskli grubun OS oranlarının, yüksek riskli gruba göre daha iyi olduğu tespit edildi ($p=0,040$).

Düşük/orta riskli gruptaki olguların ortalama OS süresi $133,2 \pm 8,1$ ay (%95 GA=117,4-149,2 ay) iken; yüksek riskli gruptakilerin ortalama OS süresi $73,4 \pm$

10,3 ay (%95 GA=90,1-130,1 ay) olarak tespit edildi. Düşük/orta riskli gruptaki olguların; 2 yıllık OS oranı %92,6 ve 5 yıllık OS oranı %92,9; yüksek riskli gruptaki olguların ise 2 yıllık OS oranı %85,9 ve 5 yıllık OS oranı %59,5 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 3'te gösterilmiştir.



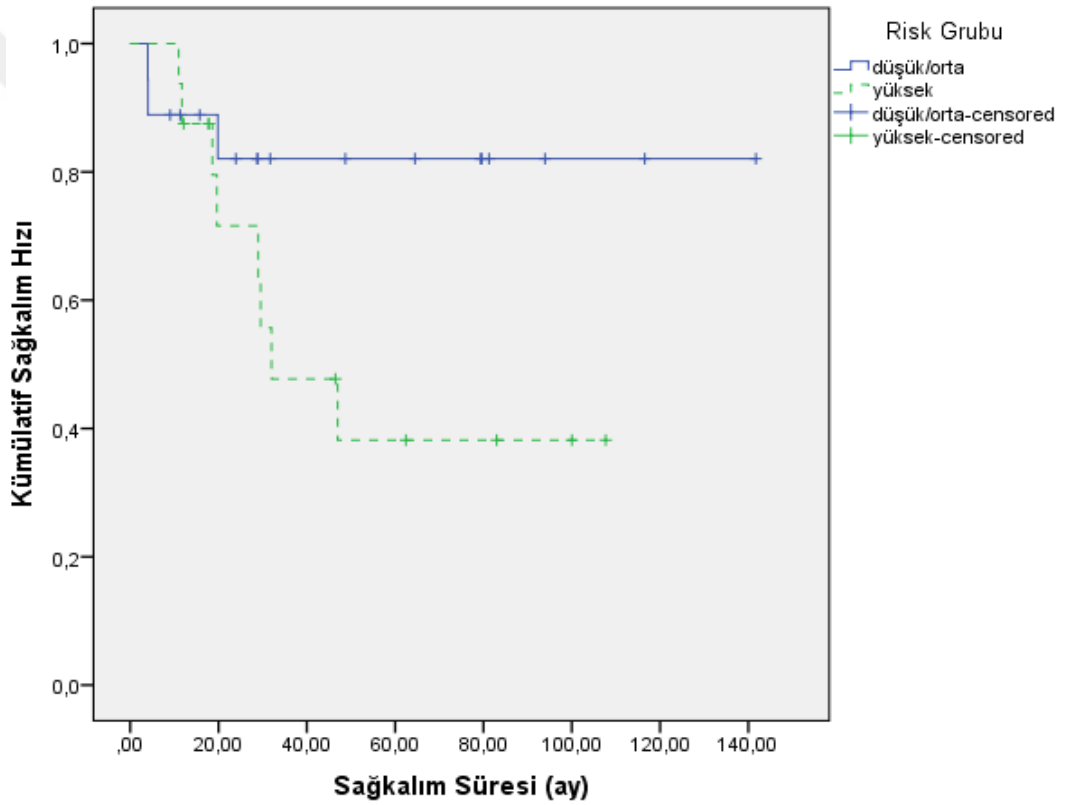
Grafik 3: Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre OS eğrileri

4.3.4. Nöroblastomlu Hastaların TPOG Risk Gruplarına Göre EFS Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, TPOG risk grupları arasında EFS süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,080$).

Düşük/orta riskli gruptaki olguların ortalama EFS süresi $118,1 \pm 12,4$ ay (%95 GA= 93,7-142,4 ay) iken; yüksek riskli gruptakilerin ortalama EFS süresi

57,3 $\pm$ 11,4 ay (%95 GA=34,9-79,7 ay) olarak tespit edildi. Düşük/orta riskli gruptaki olguların; 2 yıllık EFS oranı %82,1 ve 5 yıllık EFS oranı %82,1; yüksek riskli gruptaki olguların ise 2 yıllık EFS oranı %71,6 ve 5 yıllık EFS oranı %38,2 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 4’te gösterilmiştir.

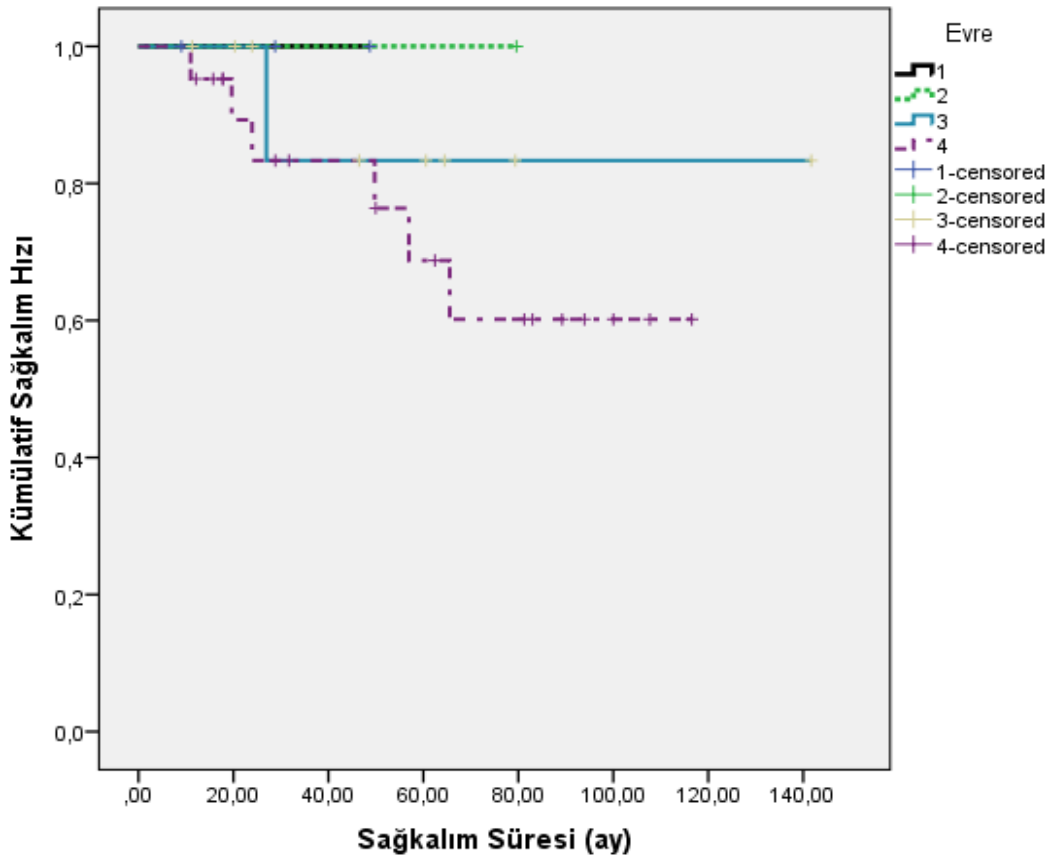


Grafik 4: Nöroblastomlu hastaların TPOG risk gruplarına göre EFS eğrileri

4.3.5. Nöroblastomlu Hastaların Evrelere Göre OS Analizi

Nöroblastomlu hastalarda, evre ile OS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,680).

Evre 1 ve evre 2 olan nöroblastomlu hastaların tamamı halen hayattadır ve 5 yıllık OS oranları %100'dür. Evre 3 hastaların ortalama OS süresi $122,6 \pm 17,5$ ay (%95 GA=88,4-156,8 ay) iken; evre 4 hastaların ortalama OS süresi $86,7 \pm 9,8$ ay (%95 GA=67,4-106,8 ay) olarak tespit edildi. Evre 3 olguların; 2 yıllık OS oranı %100 ve 5 yıllık OS oranı %83,3; evre 4 olguların ise 2 yıllık OS oranı %83,3 ve 5 yıllık OS oranı %68,8 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların evrelere göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 5'te gösterilmiştir.

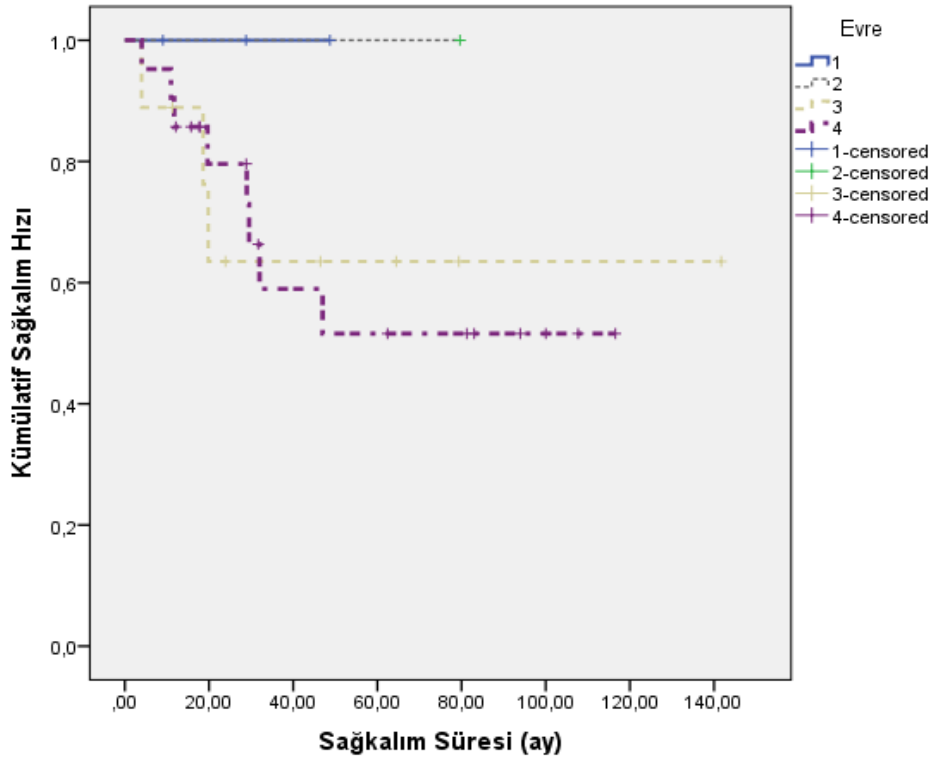


Grafik 5: Nöroblastomlu hastaların evrelere göre OS eğrileri

4.3.6. Nöroblastomlu Hastaların Evrelere Göre EFS Analizi

Nöroblastomlu hastalarda, evre ile EFS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,670$).

Evre 1 ve evre 2 olan nöroblastomlu hastaların hiçbirinde takip süresi boyunca herhangi bir olay gözlemlenmemiştir ve 5 yıllık EFS oranları %100'dür. Evre 3 olan grupta ortalama EFS süresi $95,3 \pm 21,5$ ay (%95 GA=53,2-137,4 ay) iken; evre 4 olan grubun ortalama EFS süresi $72,3 \pm 11,6$ ay (%95 GA=49,5-95,1 ay) olarak tespit edildi. Evre 3 olguların; 2 yıllık EFS oranı %63,5 ve 5 yıllık EFS oranı %63,5; evre 4 olguların ise 2 yıllık EFS oranı %79,6 ve 5 yıllık EFS oranı %51,6 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların evrelere göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 6'da gösterilmiştir.

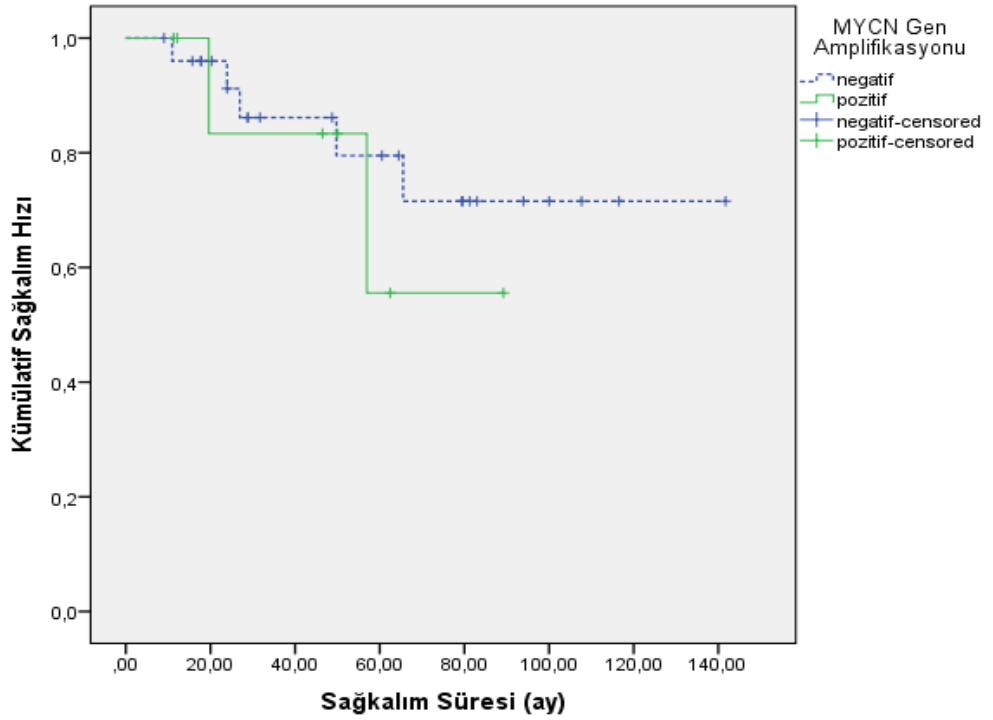


Grafik 6: Nöroblastomlu hastaların evrelere göre EFS eğrileri

4.3.7. Nöroblastomlu Hastaların MYCN Gen Amplifikasyonuna Göre OS Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, MYCN gen amplifikasyonu ile OS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,574$).

MYCN negatif olan nöroblastomlu hastaların ortalama OS süresi $112,9 \pm 11,2$ ay (%95 GA=90,9-134,7 ay) iken; MYCN pozitif olanların ortalama OS süresi $68,7 \pm 11,6$ ay (%95 GA=46,0-91,3 ay) olarak tespit edildi. MYCN negatif olan olguların; 2 yıllık OS oranı %91,2 ve 5 yıllık OS oranı %79,5; MYCN pozitif olguların ise 2 yıllık OS oranı %83,3 ve 5 yıllık OS oranı %55,6 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 7’de gösterilmiştir.

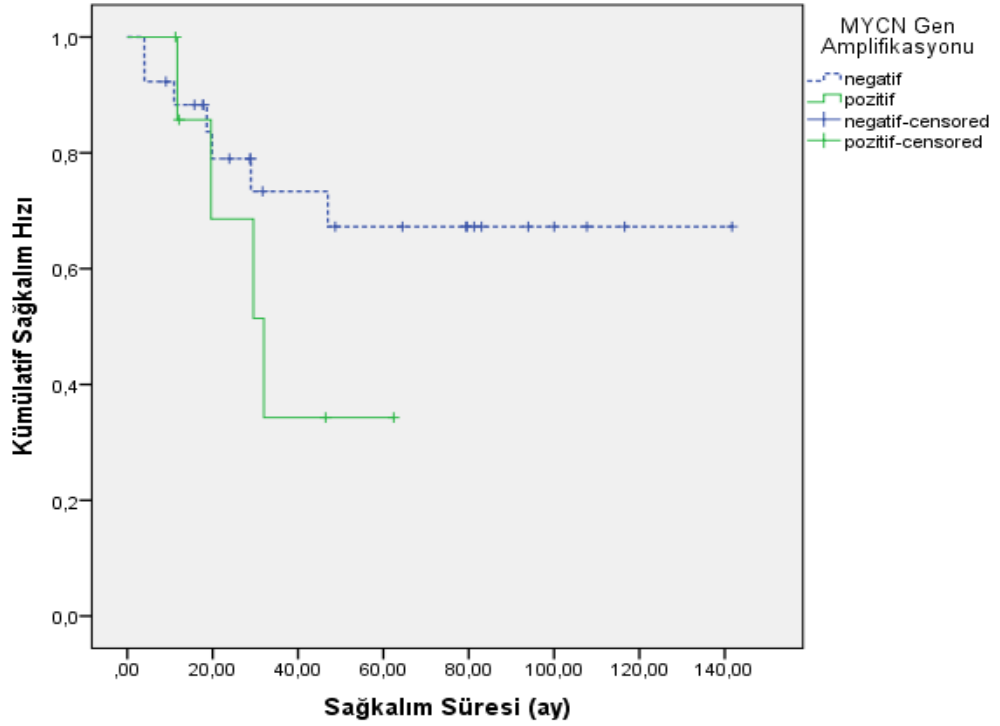


Grafik 7: Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre OS eğrileri

4.3.8. Nöroblastomlu Hastaların MYCN Gen Amplifikasyonuna Göre Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, MYCN gen amplifikasyonu ile EFS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,211$).

MYCN negatif olan nöroblastomlu hastalarda ortalama EFS süresi $102,3 \pm 12,5$ ay (%95 GA=77,9-126,7 ay) iken; MYCN pozitif olan grubun ortalama EFS süresi $37,0 \pm 7,9$ ay (%95 GA=21,6-52,4 ay) olarak tespit edildi. MYCN negatif olan olguların; 2 yıllık EFS oranı %79,0 ve 5 yıllık EFS oranı %67,2; MYCN pozitif olguların ise 2 yıllık EFS oranı %68,6 ve 5 yıllık EFS oranı %34,3 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 8’de gösterilmiştir.

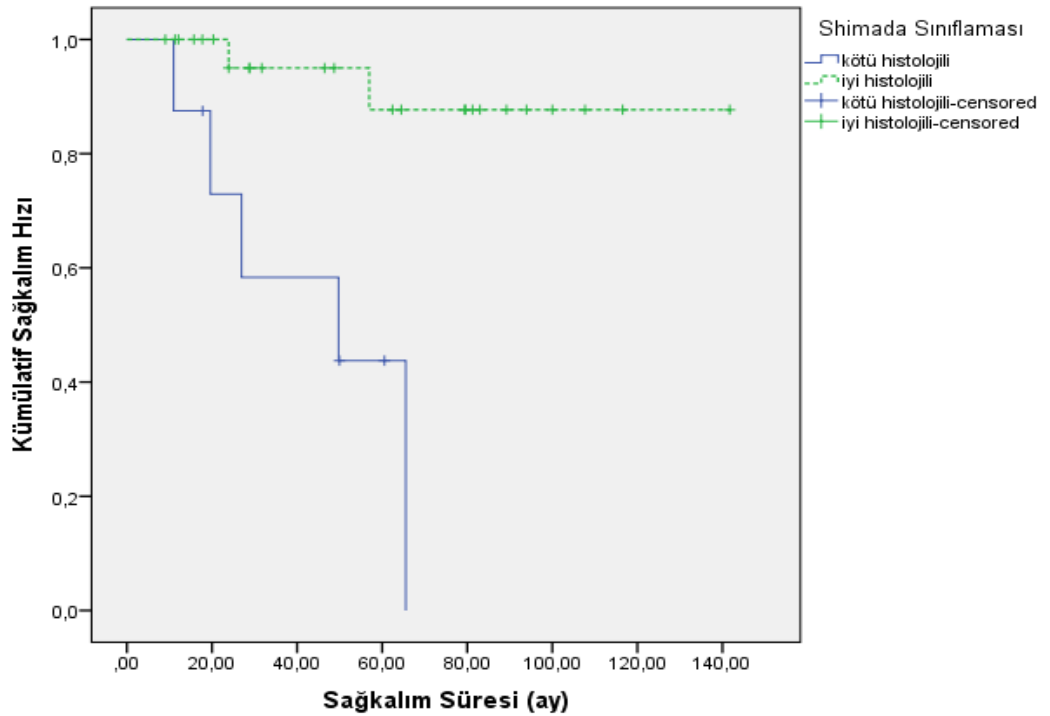


Grafik 8: Nöroblastomlu hastaların MYCN gen amplifikasyonuna göre EFS eğrileri

4.3.9. Nöroblastomlu Hastaların Shimada Sınıflamasına Göre OS Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, Shimada sınıflaması ile OS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, iyi histolojili grubun kötü histolojili olan gruba göre OS oranının daha iyi olduğu görülmüştür ($p=0,001$).

Shimada sınıflamasına göre kötü histolojili olan gruptaki hastaların ortalama OS süresi $44,1 \pm 9,1$ ay (%95 GA=26,3-61,9 ay) iken; iyi histolojili gruptakilerin ortalama OS süresi $129,6 \pm 8,0$ ay (%95 GA=113,8-145,4 ay) olarak tespit edildi. Kötü histolojili gruptaki olguların; 2 yıllık OS oranı %72,9 ve 5 yıllık OS oranı %43,8; iyi histolojili gruptaki olguların ise 2 yıllık OS oranı %95 ve 5 yıllık OS oranı %87,7 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 9’da gösterilmiştir.

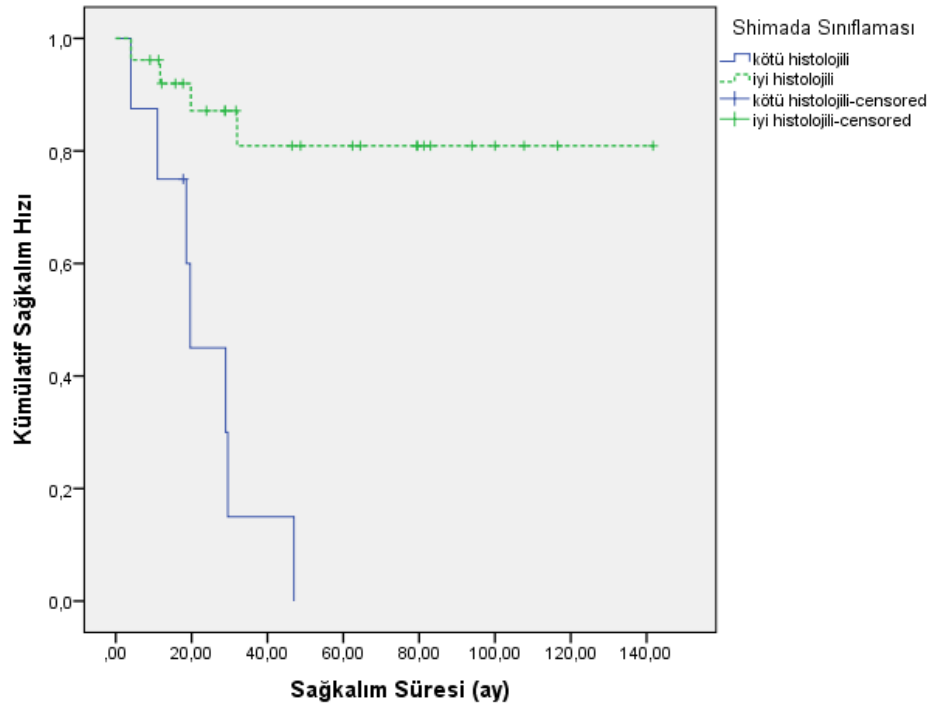


Grafik 9: Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre OS eğrileri

4.3.10. Nöroblastomlu Hastaların Shimada Sınıflamasına Göre EFS Oranları

Nöroblastomlu hastalarda, Shimada sınıflaması ile EFS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, iyi histolojili grubun EFS oranı, kötü histolojili olan gruba göre daha iyi olarak değerlendirilmiştir (p=0,001).

Shimada sınıflamasına göre kötü histolojili olan gruptaki hastaların ortalama EFS süresi $23,4 \pm 5,1$ ay (%95 GA=13,4-33,5 ay) iken; iyi histolojili grubun ortalama EFS süresi $118,2 \pm 10,7$ ay (%95 GA=97,2-139,2 ay) olarak tespit edildi. Kötü histolojili gruptaki olguların; 2 yıllık EFS oranı %45 ve 5 yıllık EFS oranı %5; iyi histolojili gruptaki olguların ise 2 yıllık EFS oranı %87,1 ve 5 yıllık EFS oranı %80,9 olarak bulundu. Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 10’da gösterilmiştir.



Grafik 10: Nöroblastomlu hastaların Shimada sınıflamasına göre EFS eğrileri

4.4. Wilms Tümörü Olan Hastaların Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya 17 Wilms tümörlü hasta dahil edildi. Olguların demografik özelliklerinden Tablo 16’da detaylı olarak bahsedilmektedir.

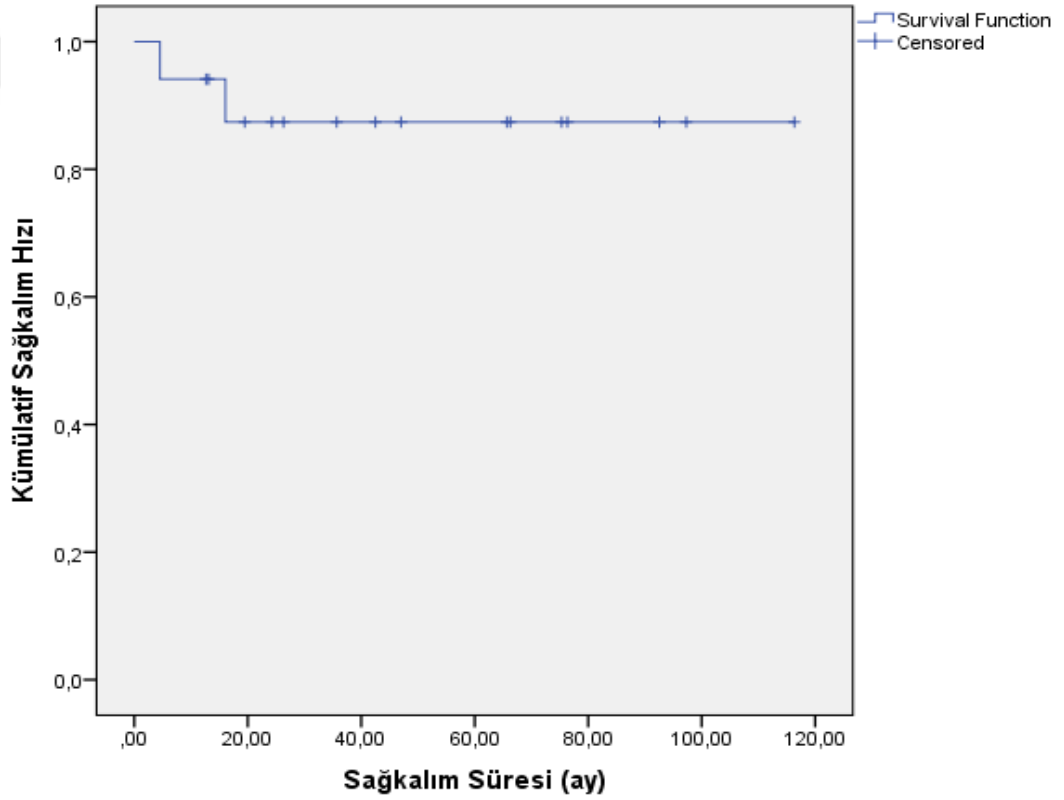
Tablo 16: Wilms tümörü olan hastaların karakteristik özellikleri

Sayı (n)	17			
Yaş (ortalama)	42,5 ± 39,7 ay			
Cinsiyet	<u>Kız</u>		<u>Erkek</u>	
	11 (%64,8)		6 (%35,2)	
Evre	<u>Evre 1</u>	<u>Evre 2</u>	<u>Evre 3</u>	<u>Evre 4</u>
	3 (%17,6)	3 (%17,6)	5 (%29,4)	6 (%35,4)
Biyopsi	<u>Kemoterapi öncesi</u>		<u>Kemoterapi sonrası</u>	
	6 (%35,3)		11 (%64,7)	
Metastaz	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	5 (%29,4)		12 (%70,6)	
Metastaz yeri	Akciğer=5 (%100)			
Patoloji	<u>İyi</u>		<u>Kötü</u>	
	15 (%88,2)		2 (%11,8)	
Anaplazi	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	2 (%11,8)		15 (%88,2)	
Tümör ağırlığı	<u><550 gr</u>		<u>≥550 gr</u>	
	11 (%64,7)		6 (%35,3)	
Relaps/rezistan hastalık	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	1 (%5,9)		16 (%94,1)	
Exitus	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	2 (%11,8)		15 (%88,2)	

4.5. Wilms Tümörlü Hastaların İstatistiksel Verileri

4.5.1. Wilms Tümörlü Hastaların OS Süreleri

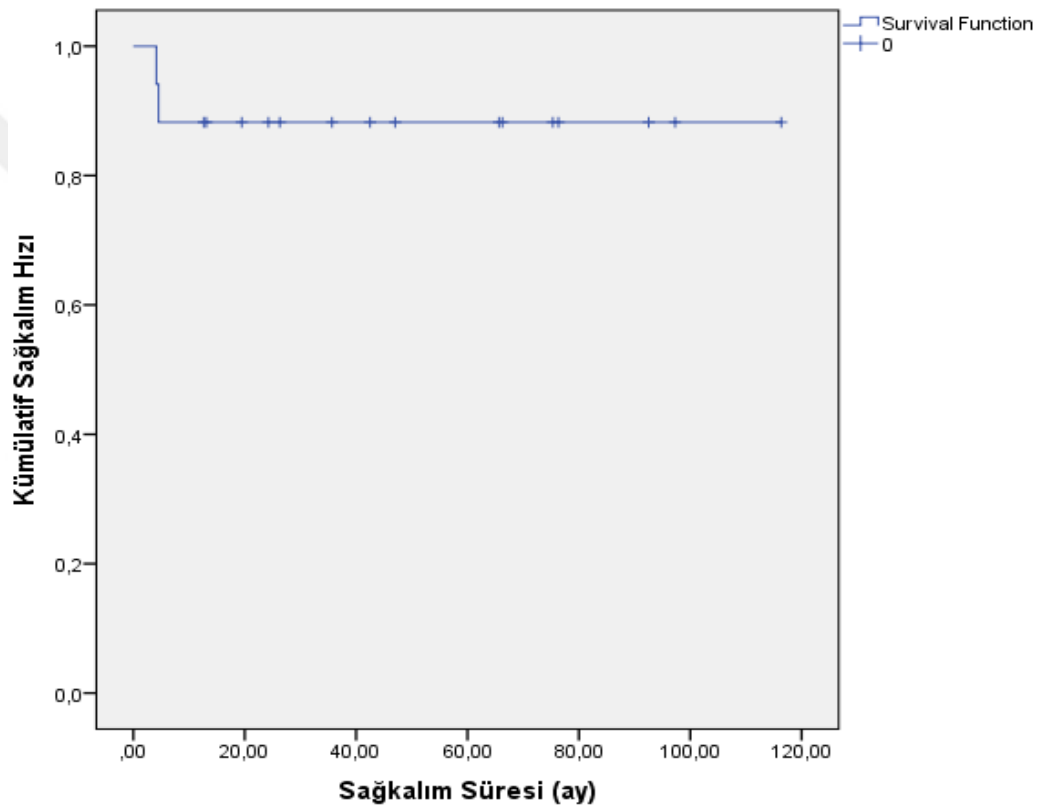
Wilms tümörlü hastaların ortalama OS süresi $104,2 \pm 9,3$ aydır (%95 GA= 85,7-120,3 ay). Olguların, 2 yıllık OS oranı %88,2 ve 5 yıllık OS oranı %88,2 saptanmıştır. Kaplan Meier OS eğrisi grafik 11’de gösterilmiştir.



Grafik 11: Wilms tümörlü hastaların OS eğrisi

4.5.2. Wilms Tümörlü Hastaların EFS Süreleri

Wilms tümörlü hastaların ortalama EFS süresi $103,0 \pm 8,8$ aydır (%95 GA= 84,4-120,3 ay). Olguların, 2 yıllık EFS oranı %87,4 ve 5 yıllık EFS oranı %87,4 bulunmuştur. Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 12’de gösterilmiştir.



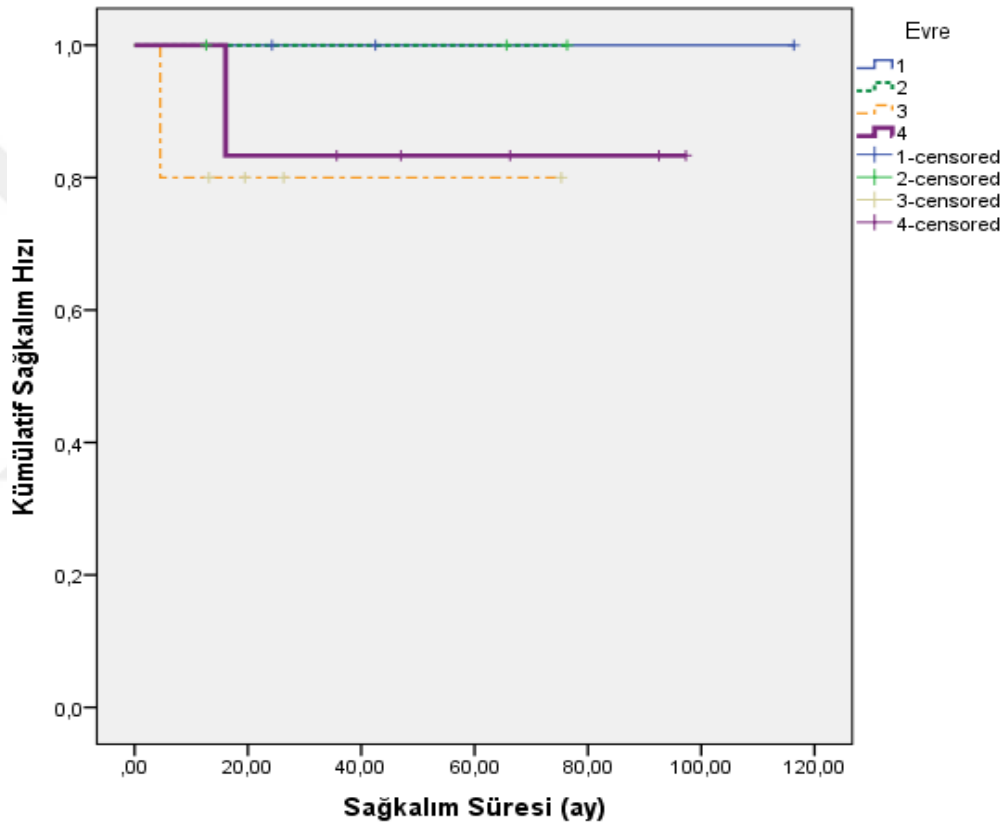
Grafik 12: Wilms tümörlü hastaların EFS eğrisi

4.5.3. Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre OS Analizi

Wilms tümörlü hastalarda, evre ile OS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,741$).

Evre 1 ve evre 2 Wilms tümörlü hastaların tamamı halen hayattadır ve 5 yıllık OS oranları %100’dür. Evre 3 hastaların ortalama OS süresi $61,1 \pm 12,7$ ay (%95 GA=36,3-85,9 ay) iken; evre 4 hastaların ortalama OS süresi $83,7 \pm 12,4$ ay

(%95 GA=59,5-107,9 ay) olarak tespit edildi. Evre 3 olguların; 2 yıllık OS oranı %80 ve 5 yıllık OS oranı %80; evre 4 olguların ise 2 yıllık OS oranı %83,3 ve 5 yıllık OS oranı %83,3 olarak bulundu. Wilms tümörlü hastaların evrelere göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 13'te gösterilmiştir.



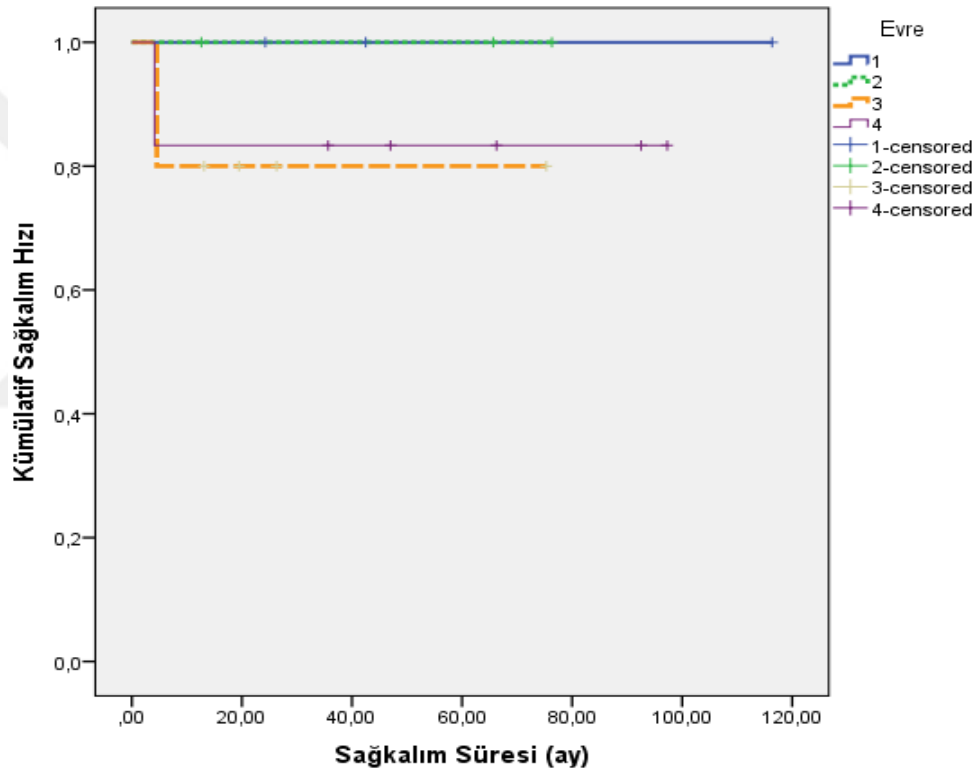
Grafik 13: Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre OS Eğrileri

4.5.4. Wilms Tümörlü Hastaların Evrelere Göre EFS Analizi

Wilms tümörlü hastalarda, evre ile EFS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,765$).

Evre 1 ve evre 2 Wilms tümörlü hastaların tamamı halen hayattadır ve 5 yıllık EFS oranları %100'dür. Evre 3 olan gruptaki hastaların ortalama EFS süresi

61,1 $\pm$ 12,7 ay (%95 GA=36,3-86,0 ay) iken; evre 4 olan gruptakilerin ortalama EFS süresi 81,8 $\pm$ 14,2 ay (%95 GA=54,0-109,5 ay) olarak tespit edildi. Evre 3 olguların; 2 yıllık EFS oranı %80 ve 5 yıllık EFS oranı %80; evre 4 olguların ise 2 yıllık EFS oranı %82,4 ve 5 yıllık EFS oranı %82,4 olarak bulundu. Wilms tümörlü hastaların evrelere göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 14’te gösterilmiştir.

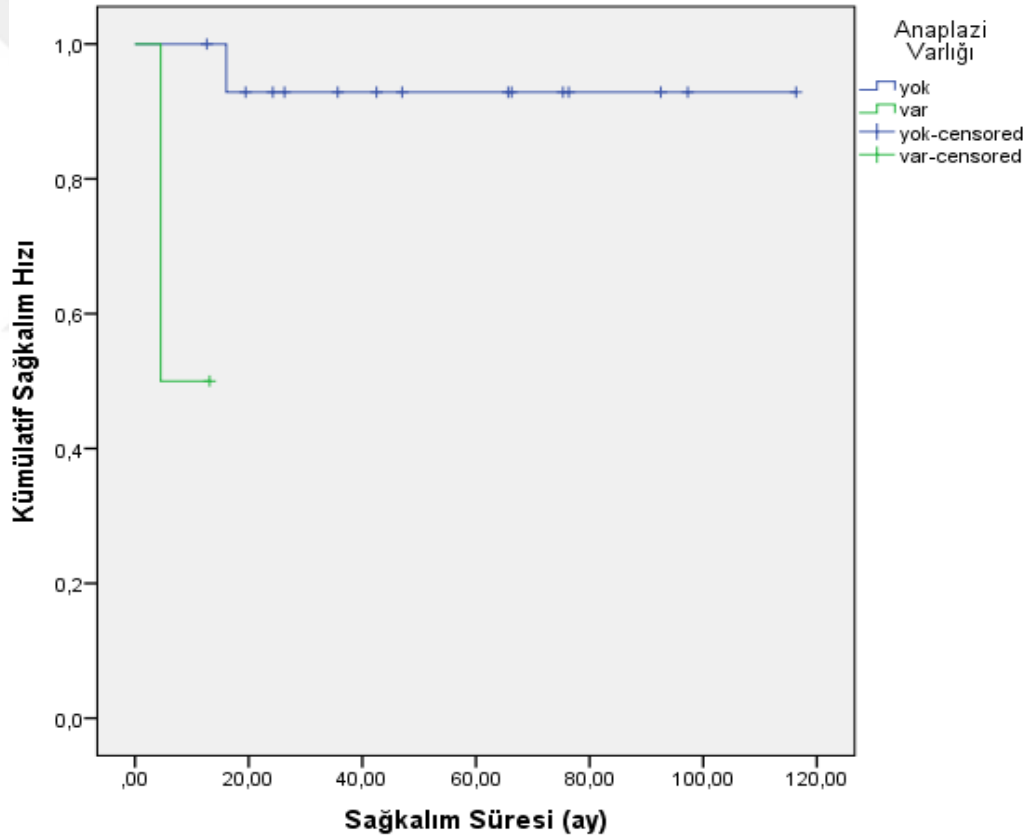


Grafik 14: Wilms tümörlü hastaların evrelere göre EFS eğrileri

4.5.5. Wilms Tümörlü Hastaların Anaplazi Durumuna Göre OS Oranları

Wilms tümörlü hastalarda, anaplazi varlığı ile OS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, tümöral anaplazi içermeyen hastaların, anaplazi içerenlere göre, OS oranlarının daha iyi olduğu görülmüştür (p=0,006).

Anaplazi negatif hastaların ortalama OS süresi $109,2 \pm 6,9$ ay (%95 GA=95,6-122,7 ay) iken; anaplazi pozitif hastaların ortalama OS süresi $8,8 \pm 3,0$ ay (%95 GA=2,9-14,8 ay) olarak tespit edildi. Anaplazi negatif olguların; 2 yıllık OS oranı %92,9 ve 5 yıllık OS oranı %92,9; anaplazi pozitif olguların ise 2 yıllık OS oranı %50 olarak bulundu. Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre Kaplan Meier OS eğrisi grafik 15’te gösterilmiştir.

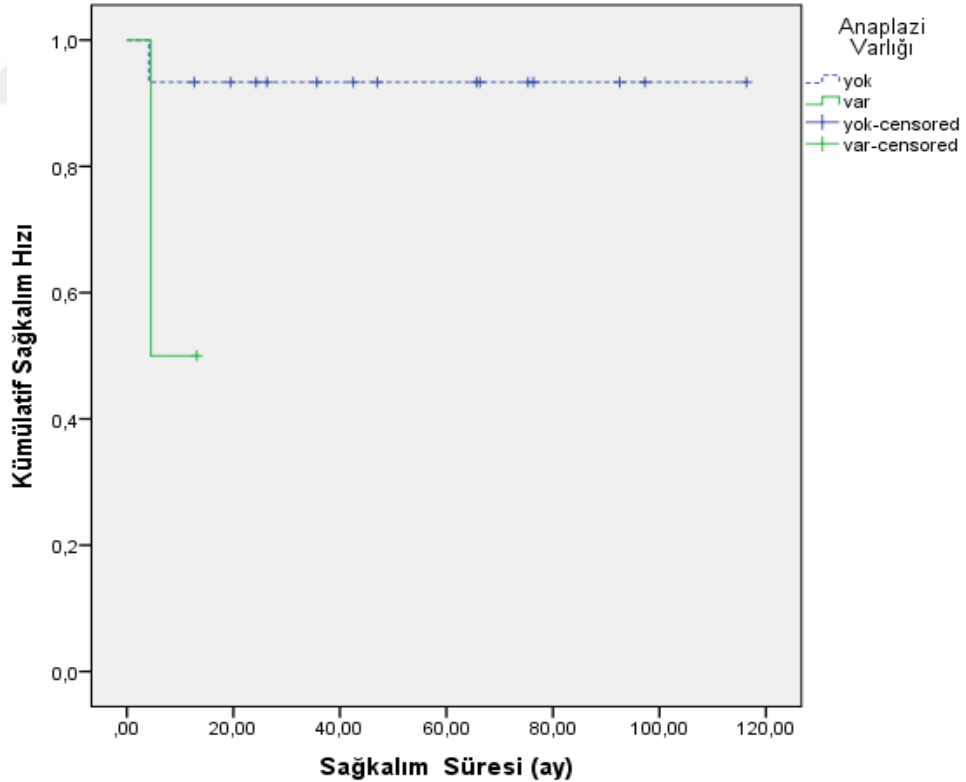


Grafik 15: Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre OS eğrileri

4.5.6. Wilms Tümörlü Hastaların Anaplazi Durumuna Göre EFS Oranları

Wilms tümörlü hastalarda, anaplazi varlığı ile EFS süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,101$).

Anaplazi negatif hastaların ortalama EFS süresi $108,8 \pm 7,2$ ay (%95 GA=94,6-123,0 ay) iken; anaplazi pozitif hastaların ortalama EFS süresi $8,8 \pm 3,0$ ay (%95 GA=2,9-14,8 ay) olarak tespit edildi. Anaplazi negatif olguların; 2 yıllık EFS oranı %93,3 ve 5 yıllık EFS oranı %93,3; anaplazi pozitif olguların ise 2 yıllık EFS oranı %50 olarak bulundu. Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre Kaplan Meier EFS eğrisi grafik 16'da gösterilmiştir.



Grafik 16: Wilms tümörlü hastaların anaplazi durumuna göre EFS eğrileri

4.6. Renal Hücreli Karsinom Hastaların Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya dört renal hücreli karsinomlu hasta dahil edildi. Olguların demografik özelliklerinden Tablo 17’de detaylı olarak bahsedilmektedir.

Tablo 17: Renal hücreli karsinom hastaların karakteristik özellikleri

Sayı (n)	4			
Yaş (ortalama)	138,6 ± 59,4 ay			
Cinsiyet	<u>Kız</u>		<u>Erkek</u>	
	1 (%25)		3 (%75)	
Evre	<u>Evre 1</u>	<u>Evre 2</u>	<u>Evre 3</u>	<u>Evre 4</u>
	0	2 (%50)	0	2 (%50)
Biyopsi	<u>Kemoterapi öncesi</u>		<u>Kemoterapi sonrası</u>	
	3 (%75)		1 (%25)	
PET BT SUVmax değeri	<u><2.5 (düşük)</u>		<u>≥2.5 (yüksek)</u>	
	1 (%25)		3 (%75)	
Metastaz	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	2 (%50)		2 (%50)	
Metastaz yeri	<u>Akciğer</u>		<u>Lenf nodu</u>	
	2 (%66,7)		1 (%33,3)	
Relaps/rezistan hastalık	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	0		4 (%100)	
Exitus	<u>Var</u>		<u>Yok</u>	
	2 (%50)		2 (%50)	

4.7. Konjenital Mezoblastik Nefromalı Hastaların Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya iki konjenital mezoblastik nefromalı hasta dahil edildi. Olguların demografik özelliklerinden Tablo 18’de detaylı olarak bahsedilmektedir.

Tablo 18: Konjenital mezoblastik nefromalı hastaların karakteristik özellikleri

Sayı (n)	2	
Yaş (ortalama)	15 ± 5 ay	
Cinsiyet	<u>Kız</u>	<u>Erkek</u>
	1 (%50)	1 (%50)
Biyopsi	<u>Kemoterapi öncesi</u>	<u>Kemoterapi sonrası</u>
	2 (%100)	0
Metastaz	<u>Var</u>	<u>Yok</u>
	0	2 (%100)
Relaps/rezistan hastalık	<u>Var</u>	<u>Yok</u>
	0	2 (%100)
Exitus	<u>Var</u>	<u>Yok</u>
	0	2 (%100)

4.8. Renal Rabdoid Tümörlü Hastaların Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya iki renal rabdoid tümörlü hasta dahil edildi. Olguların demografik özelliklerinden Tablo 19’da detaylı olarak bahsedilmektedir.

Tablo 19: Renal rabdoid tümörlü hastaların karakteristik özellikleri

Sayı (n)	2		
Yaş (ortalama)	56 ± 46 ay		
Cinsiyet	<u>Kız</u>	<u>Erkek</u>	
	1 (%50)	1 (%50)	
Biyopsi	<u>Kemoterapi öncesi</u>	<u>Kemoterapi sonrası</u>	
	1 (%50)	1 (%50)	
Metastaz	<u>Var</u>	<u>Yok</u>	
	2 (%100)	0	
Metastaz yeri	<u>Karaciğer</u>	<u>Akciğer</u>	<u>Kranium</u>
	2 (%50)	1 (%25)	1 (%25)
Relaps/rezistan hastalık	<u>Var</u>	<u>Yok</u>	
	1 (%50)	1 (%50)	
Exitus	<u>Var</u>	<u>Yok</u>	
	2 (%100)	0	

4.9. Berrak Hücreli Sarkomu Olan Hastanın Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya bir berrak hücreli sarkom tanılı hasta dahil edildi. Olgumuzun demografik özelliklerinden Tablo 20’de detaylı olarak bahsedilmektedir.

Tablo 20: Berrak hücreli sarkomlu hastanın karakteristik özellikleri

Sayı (n)	1
Yaş	30 ay
Cinsiyet	Erkek
Evre	1
Biyopsi	Kemoterapi sonrası
Metastaz	Yok
Relaps/rezistan hastalık	Yok
Exitus	Yok

4.10. Nöroblastomlu Hastalarda PD-L1 Ekspresyonu

PD-L1 pozitif boyanma (%1 ve üzeri membranöz boyanma) (Resim 6), 34 nöroblastomlu hasta içinde sadece iki olguda saptandı (Tablo 21).

Nöroblastomlu bir olguda ise %1’in altında membranöz PD-L1 boyanma gözlemlenmiş olup PD-L1 ekspresyonu açısından negatif kabul edilmiştir (Resim 5).

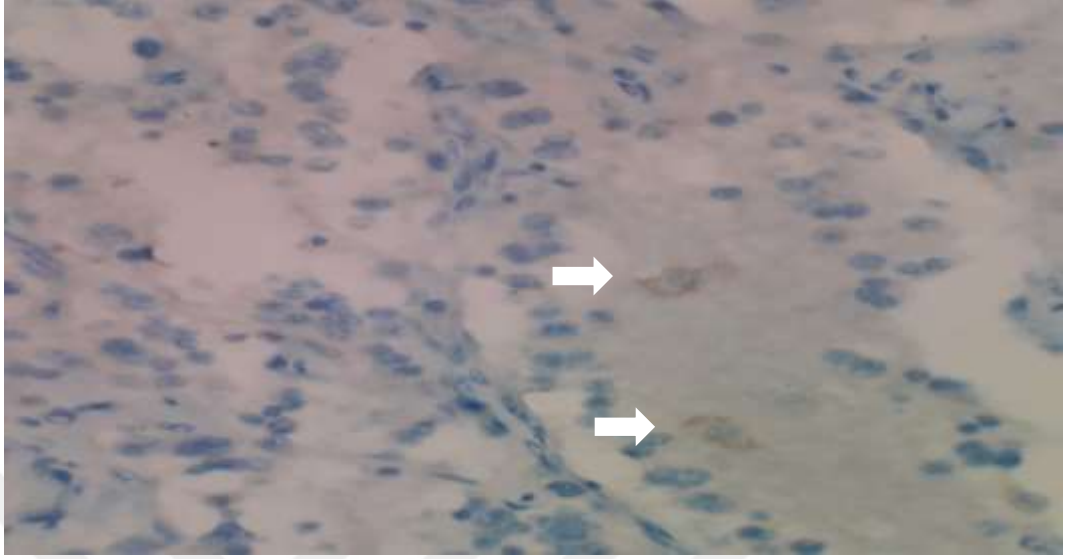
Tablo 21: Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ve klinikopatolojik özellikler

	<i>PD-L1 negatif</i>	<i>PD-L1 pozitif</i>
Cinsiyet (n=34)		
Kız	14 (%100)	0
Erkek	18 (%90)	2 (%10)
Yaş (ay)		
<18 ay	14 (%93,3)	1 (%6,7)
≥18 ay	18 (%94,7)	1 (%5,3)
Evre		
1, 2, 3, 4S	13 (%100)	0
4	19 (%90,5)	2 (%9,5)
Biyopsi		
KT öncesi	30 (%93,7)	2 (%6,3)
KT sonrası	2 (%100)	0
TPOG risk grubu		
Düşük risk	5 (%100)	0
Orta risk	13 (%100)	0
Yüksek risk	14 (%87,5)	2 (%12,5)
Shimada sınıflaması		
İyi histoloji	26 (%100)	0
Kötü histoloji	6 (%75)	2 (%25)
Mitozis karyoreksis indeks		
<%2	20 (%95,2)	1 (%4,8)
%2-4	7 (%100)	0
>%4	5 (%83,3)	1 (%16,7)
MYCN gen amplifikasyonu		
Negatif	24 (%92,3)	2 (%7,7)
Pozitif	8 (%100)	0

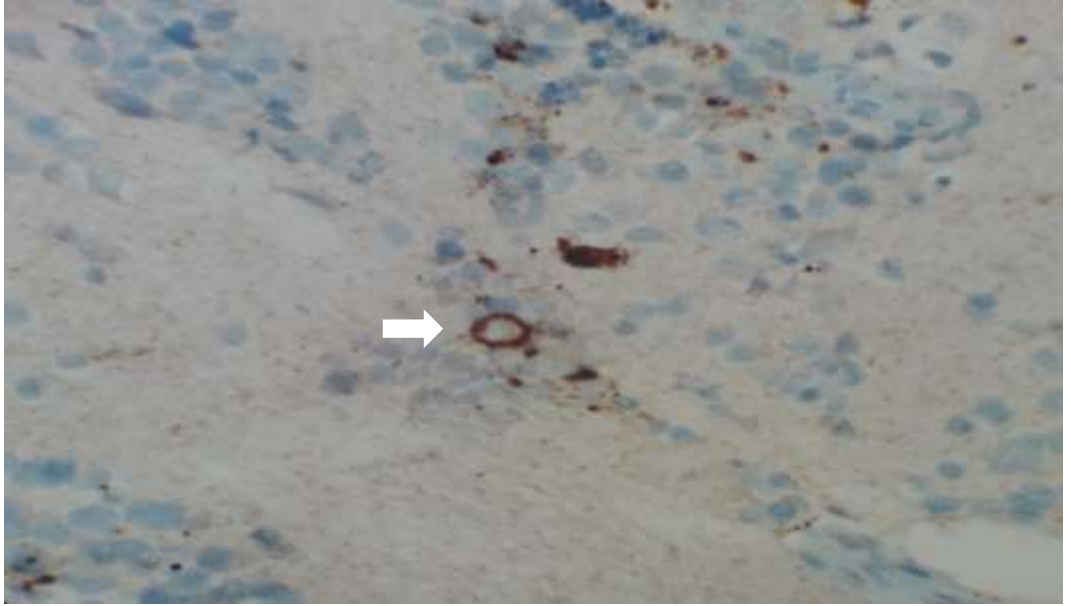
PD-L1 pozitif boyanma saptanan olguların detaylı özelliklerinden Tablo 22’de bahsedilmektedir.

Tablo 22: PD-L1 pozitif olan iki hastanın demografik özellikleri

	1. olgu	2. olgu
<u>Yaş (ay)</u>	24	14
<u>Cinsiyet</u>	Erkek	Erkek
<u>Evre</u>	4	4
<u>Biyopsi</u>	KT öncesi	KT öncesi
<u>SUVmax değeri</u>	Yüksek	Yüksek
<u>Primer bölge</u>	Arka mediasten	Abdomen
<u>Metastaz</u>	Var	Var
<u>Metastaz yeri</u>	Kemik iliği	Kemik, kemik iliği, lenf nodu
<u>TPOG risk grubu</u>	Yüksek Risk	Yüksek Risk
<u>Shimada sınıflaması</u>	Kötü Histoloji	Kötü Histoloji
<u>MKI değeri</u>	Düşük	Yüksek
<u>NSE düzeyi</u>	Yüksek	Yüksek
<u>HVA ve VMA düzeyi</u>	Yüksek	Yüksek
<u>Ferritin düzeyi</u>	Normal	Yüksek
<u>LDH düzeyi</u>	Normal	Yüksek
<u>MYCN gen amplifikasyonu</u>	Negatif	Negatif
<u>Flow sitometrik DNA</u>	Bakılmamış	Diploid
<u>1p delesyonu</u>	Bakılmamış	Pozitif
<u>11q kaybı</u>	Bakılmamış	Negatif
<u>17q kazanımı</u>	Bakılmamış	Negatif
<u>Relaps/rezistan hastalık</u>	Yok	Yok
<u>Exitus</u>	Yok	Var
<u>Son durum</u>	Yaşıyor (izlem: 15 aydır) Remisyonunda	Hastalıklı exitus (11.ay)



Resim 5: Nöroblastomda tümör hücrelerinde %1'den az PD-L1 boyanma (X100)



Resim 6: Nöroblastomda tümör hücrelerinde %1 - %5 arası PD-L1 boyanma (X100)

Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ile OS arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla yapılan spearman korelasyon analizinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 23) Hiç boyanma olmaması

durumunda OS oranı %73,9 iken, %1-5 arasında boyama olması durumunda %50 olduğu görülmektedir.

Tablo 23: Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasındaki ilişki

PD-L1 ekspresyonu	Hasta sayısı	Exitus	OS (%)
Hiç boyama yok	23	6	%73,9
%1'in altında boyanma	1	0	%100
%1-5 arasında boyanma	2	1	%50
Toplam	26	7	%73,1

4.11. Nöroblastom Dışı Tümörlerde PD-L1 Ekspresyonu

Wilms tümörü, konjenital mezoblastik nefroma, renal rabdoid tümör, renal hücreli karsinom ve berrak hücreli sarkoma sahip hastaların hiçbirinde PD-L1 açısından pozitif boyanma saptanmıştır. Bu nedenle PD-L1 ekspresyonu ile hastaların prognostik faktörleri, evreleri ve prognozları arasındaki ilişkisi değerlendirilememiştir.

5. TARTIŞMA

Çocukluk çağı kanserlerinde, hastaların sağkalım ve prognozu üzerinde etkili olabilecek klinik, patolojik ve genetik birçok faktör bulunmaktadır. Altta yatan etyoloji hastaların büyük kısmında halen aydınlatılmış değildir. Sağkalım oranı, malignite türüne bağlı olarak % 68 ile % 98 arasında değişmekte olup son yıllarda belirgin olarak artmıştır [47]. Tedavi edilen hastalar ileri yaşlarda mevcut tedavilerin geç yan etkilerine de maruz kalmaktadırlar. Özellikle yaşam oranlarındaki artış nedeniyle, daha etkili ama daha az toksik terapötiklerin geliştirilmesinin gerekliliği gündeme gelmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda çocukluk çağı kanserlerinde, çeşitli genetik mutasyonların bulunmasıyla hedefe yönelik tedavide önemli gelişmeler sağlanmıştır. Bu ajanlar özellikle ileri evre ya da metastatik kanserli hastaların tedavisinde ön plana çıkmaktadır. Gelişen tedavi yöntemlerine rağmen ideal tedavi yönteminin seçilmesi halen önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ek olarak genetik mutasyonları hedef alan tedavi yöntemlerine zamanla direnç de gelişebilmektedir. Tümörün konak immün sistemi ile ilişkisinin aydınlatılması sonucunda immünoterapi bazı kanserlerin tedavisinde ön plana çıkmıştır. İmmünoterapi, ilk olarak 1990 yılında mesane kanserinde BCG kullanımının FDA onayı alması ile kanser tedavisinde yerini almıştır. İmmün sistemin tümör hücre eradikasyonu yapması esasına dayanmaktadır. Daha hızlı çoğalan hücreler üzerine direkt sitotoksik etki gösteren kemoterapinin aksine; konaktaki immün supresyonu ortadan kaldırarak etki göstermektedir. Bu sayede tümör hücreleri yabancı cisim

olarak algılanmakta ve immün cevap aktive edilebilmektedir. PD-1/ PD-L1 immün checkpoint yolağını hedefleyen antikorlar da geleneksel kemoterapötik ilaçlara göre daha az toksisite ile hastaların sağkalım düzeylerini artırabilir [48]. Fakat hastanın prognozu, tedaviye cevabı, tedavi toksisitesi ve hastalık rekürrensini öngörmek için PD-1/PD-L1 ekspresyonunu gösteren bazı geçerli belirteçlere ihtiyaç vardır. Bu belirteçler ile immünoterapiye daha iyi cevap verebilecek ve ilaç toksitesinden daha az etkilenecek hasta popülasyonu rahatlıkla seçilebilecektir. Bu amaçla çalışmamızda PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdik. Ek olarak hastaların prognozları üzerine etkili olabilecek faktörlerden bir kısmını da analiz ettik.

Çalışmaya dahil edilen 34 nöroblastomlu olgunun 5 yıllık OS ve EFS oranları sırasıyla; %75,3 ve %58,9 bulunmuştur. Nöroblastomlu hastaların TPOG risk grubuna göre OS oranları karşılaştırıldığında, düşük/orta riskli grubun OS oranlarının, yüksek riskli gruba göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p=0,040$), EFS oranlarının ise yüksek riskli olgularda daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p=0,080$). Shimada sınıflamasına göre iyi histolojili grubun OS ve EFS oranlarının, kötü histolojili olan gruba göre ($p=0,001$) daha iyi olduğu görülmüştür. MYCN negatif olan olguların 5 yıllık OS oranı (%79,5), MYCN pozitif olguların 5 yıllık OS oranından (%55,6) belirgin yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p=0,574$). İstatistiksel olarak fark saptanmamasında olgu sayısının azlığı rol oynamış olabilir.

Çalışmaya dahil edilen 17 Wilms tümörlü olgunun 5 yıllık OS ve EFS oranları sırasıyla; %88,2 ve %87,4 bulunmuştur. Wilms tümörlü hastalarda,

anaplazi durumuna göre OS oranları karşılaştırıldığında, anaplazi negatif hastaların 5 yıllık OS oranlarının, anaplazi pozitif hastalara göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p=0,006$), EFS oranlarının ise anaplazi pozitif olgularda daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p=0,101$).

Çalışmamızda tümör dokusunda PD-L1 ekspresyon pozitifliği, 34 nöroblastomlu hasta içerisinde sadece iki olguda saptanmıştır. Bu olgularda %1 ile %5 arasında boyanma gözlemlenmiştir. Bir olguda ise %1'in altında zayıf boyanma saptanmış olup, PD-L1 ekspresyonu açısından negatif kabul edilmiştir.

Çalışmaya başlarken bir amacımız da PD-L1 ekspresyonu ile prognostik faktörler arasındaki ilişkiyi araştırmaktı. PD-L1 pozitif olgu sayımızın ($n=2$) çok az olması sebebiyle, PD-L1 ekspresyonu ile prognostik faktörler arasındaki ilişkiyi istatistiksel değerlendirmek çok doğru olmasa da; 21 evre 4 nöroblastomlu olgudan ikisinde (%9,5) artmış PD-L1 ekspresyonu saptadık. Her iki olguda yüksek riskli idi [%12,5 (2/16)]. Olgu sayımız az olmasına rağmen, yüksek riskli grupta PD-L1 ekspresyonu artmıştı ve OS oranları bu grupta daha düşük bulundu. Shimada sınıflamasına göre kötü histolojik tipte olan 8 olgunun ikisinde (%25) pozitif PD-L1 ekspresyonu saptandı. MYCN pozitif olan olguların hiçbirinde pozitif PD-L1 ekspresyonu görülmedi; MYCN negatif olan 26 olgunun ise ikisinde (%7,7) artmış PD-L1 ekspresyonu bulundu.

Yetişkin kanserlerde PD-L1 ekspresyonu konusunda literatürde oldukça fazla sayıda çalışma bulunmasına rağmen [57, 62] pediatrik kanserlerde PD-L1

ekspresyonu ile ilgili sınırlı, küçük çalışmalar mevcuttur [8-10]. Üstelik yapılan çalışmalarda da çelişkili sonuçlar elde edilmiştir [8-10, 19, 59, 66].

Literatürde PD-L1 ekspresyonunun, kötü histolojik tipte ya da ileri evre tümörlerde artmış olduğunu gösteren ve kötü OS ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur [8-10]. Ancak PD-L1 ekspresyonu ile OS oranı, tümörün evresi ve histolojik tipi arasında herhangi bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [11]. Nöroblastomlu 41 pediatrik hastada yapılan bir çalışmada, ileri evre tümörlü 5 olguda (%12) yüksek PD-L1 ekspresyonu tespit edilmiş olup PD-L1 ekspresyonu kötü OS ile ilişkilendirilmiştir [9]. Chowdhury ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise; yüksek riskli nöroblastom, rabdomiyosarkom, Ewing sarkomu ve osteosarkom dahil olmak üzere 115 pediatrik solid tümörlü vakanın 66'sında (%57) yüksek membranöz PD-L1 ekspresyonu bildirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 43 nöroblastomlu hasta içerisinde 31 olguda (%72) artmış PD-L1 ekspresyonu gösterilmiş olup yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren tümörlerin, göstermeyenlere kıyasla daha iyi OS oranına sahip oldukları saptanmıştır [10]. Pediatrik 451 olguda yapılan başka bir araştırmada ise; nöroblastom, glioblastoma multiforme, Burkitt lenfoma ve diğer solid tümörlerde PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen toplam 118 nöroblastomlu olgunun 17'sinde (%14) pozitif PD-L1 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda herhangi bir evrede ya da herhangi bir risk grubunda artmış PD-L1 ekspresyonu ile OS oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır [11]. Az sayıda (n=18) nöroblastomlu olguda yapılan bir çalışmada ise, hiçbir olguda pozitif PD-L1 ekspresyonu gözlemlenmemiştir [19]. Dondero ve

arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise, 19 metastatik nöroblastomlu olgunun 3'ünde (%15,7) artmış PD-L1 ekspresyonu gösterilmiştir [63].

Literatürde sadece nöroblastomlu hastalarda prognostik faktörlerle PD-L1 ekspresyonunun karşılaştırıldığı tek bir çalışma mevcuttur [66]. Saletta ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada; 254 nöroblastomlu olgunun 48'inde (%19) pozitif PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. Çalışmada ek olarak, hastaların prognostik faktörleriyle (hasta yaşı, metastaz durumu, MYCN gen amplifikasyonu, MKİ, Shimada sınıflaması) PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişki de karşılaştırılmıştır. Evre 4 olan 91 nöroblastomlu olgunun 19'unda (%20,9); yüksek riskli 74 nöroblastomlu olgunun 13'ünde (%17,6) artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. Shimadaya göre kötü histolojili 88 olgunun 16'sında (%18,2); MYCN gen amplifikasyonu negatif olan 119 olgunun 38'inde (%31,9) ve MYCN pozitif olan 34 olgunun sadece ikisinde (%5,9) pozitif PD-L1 ekspresyonu bildirilmiştir. MYCN gen amplifikasyonu negatif olan olgularda istatistiksel olarak anlamlı artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmış olup, MYCN gen amplifikasyonu dışında diğer prognostik faktörler ve PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır [66]. Ayrıca diğer çalışmaların aksine bu çalışmada; PD-L1 ekspresyonu pozitif nöroblastomlu hastaların, diğer hastalara göre daha iyi bir OS oranına sahip oldukları gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, kuvvetli PD-L1 boyanan nöroblastomlu olgularda (%3,1) artmış relaps riski bildirilmiştir [66].

Wilms tümörü, konjenital mezoblastik nefroma, renal rabdoid tümör, renal hücreli karsinom ve berrak hücreli sarkoma sahip olguların hiçbirinde PD-L1

pozitif boyanma saptanmamıştır. Routh ve arkadaşlarının 81 Wilms tümörlü hastada yaptıkları araştırmada olguların %14'ünde (n=11) artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmış olup; PD-L1 ekspresyonunun, potansiyel olarak ileri evredeki olgular için prognostik bir belirteç ve terapötik bir hedef olabileceği belirtilmiştir [8]. Pinto ve arkadaşları tarafından 20 Wilms tümörlü hastada yapılan bir başka çalışmada ise; hiçbir olguda pozitif PD-L1 ekspresyonu saptanmamıştır [59].

Çalışmamızda incelediğimiz tümöral doku örnekleri; olguların bir kısmında kemoterapi öncesi, bir kısmında ise kemoterapi sonrası elde edilmiştir. Toplamda biyopsi öncesi kemoterapi almayan 44 olgu (%73,3), kemoterapi alan 16 olgu (%26,7) mevcuttur. Nöroblastomlu olguların 32'si biyopsi öncesi kemoterapi almamış olup, ikisi ise almıştır. Wilms ve diğer renal tümörlü hastalarda ise, olguların 12'si biyopsi öncesi kemoterapi almamış olup, 14'ü ise almıştır. Literatürdeki araştırmalarda da genellikle biyopsi öncesi kemoterapi alan ya da almayan olgular çalışmaya birlikte dahil edilmiştir [9-11, 66]. 254 nöroblastomlu hastada yapılan bir çalışmada; toplam 186 hasta kemoterapi almış olup, hastaların 122'si (%65,6) biyopsi öncesi kemoterapi almamış; 64'ü (%34,4) ise almıştır. Biyopsi öncesi kemoterapi almayan olgularda [%27,9 (34/122)]; kemoterapi alan olgulara göre [%15,6 (10/64)] daha yüksek oranda PD-L1 ekspresyon pozitifliği saptanmıştır [66]. Kemoterapi sonrası alınan doku örneklerinde, tümör hücreleri hem sayıca daha az hem de daha zayıf immunojeniteye sahip olabileceklerinden; bizim de çalışma sonunda elde ettiğimiz düşük orandaki pozitif PD-L1 ekspresyonu buna bağlı olabilir. Dolayısıyla PD-L1 ekspresyonu değerlendirmek açısından ideal

olanı; çalışmalarda kemoterapi alan ve almayan olguları ayrı ayrı değerlendirmektedir.

Literatürdeki çalışmalarda PD-L1 ekspresyon oranındaki değişkenlikler; farklı skorlama sistemlerinin kullanılması, hasta popülasyonunun heterojenitesi, antikor boyama kitleri, boyama prosedürleri ve antijen alım teknikleri arasındaki farklılıklar ile de ilişkili olabilir. Örneğin; tümör dokusunda PD-L1 boyanma pozitifliği değerlendirilirken, bazı çalışmalarda ortalama H-skoru cut-off değeri olarak kullanılırken; bazı çalışmalarda boyanma yüzdesinin ortalama değerinin %5 ve üzerinde olması cut-off değeri olarak kabul edilmiştir [8-10, 19]. Bizim çalışmamızda istatistiksel analizlerde sağkalım üzerinde fark yaratan değeri olan, pozitif PD-L1 ekspresyonu açısından tümör hücrelerinde %1 ve üzerinde boyanma anlamlı olarak kabul edilmiştir. Birkaç çalışmada rastgele bir eşik değeri olan % 5 ve üzeri boyanma anlamlı kabul edilmesine rağmen, daha önce yayınlanmış gen ekspresyon analizini PD-L1 pozitifliği ile ilişkilendiren verilerde, % 1'lik bir cut-off değeri bile sitokinler, IFN- γ ve diğer bağışıklık belirteçlerinde önemli değişiklikler olduğu gösterilmiştir [13, 20, 52, 61, 66]. Ayrıca, son yapılan araştırmalarda PD-1 / PD-L1 antikor tedavisine verilen yanıt bazında cut-off noktası % 1'e düşürülmüştür [5, 20, 49, 52, 58, 60, 66].

Çalışmalarda PD-L1 ekspresyonunun immünohistokimyasal değerlendirilmesinde farklı antikorların kullanılması (rekombinant/poliklonal antikorlar) da farklı sonuçlar elde edilmesinde önemli bir rol oynayabilir. Farklı klon anti PD-L1 antikorları, aynı tümörde farklı sonuçlar verebilir [64]. Majzner ve arkadaşları, pediatrik solid tümörlü hastada yaptıkları çalışmada PD-L1 antikorunu

olarak klon 28-8'i kullanmışlardır [11]. Routh ve arkadaşlarının Wilms tümörlü hastalarda yaptıkları araştırmada ise PD-L1 antikoru olarak klon 5H1 kullanılmıştır [8]. Bu çalışmalarda anti PD-L1 antikoru bizim çalışmamızda kullandığımız klondan (SP 142) farklıdır. Çalışmalar arasında karşılaştırma yapılırken bu durumun da göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Bir diğer nokta ise; PD-L1 antikorunun intratümöral ve intertümöral olarak gösterdiği heterojenite ve PD-L1 ekspresyonunun kanser tedavilerinden ve genetik mutasyonlardan etkilenebileceğidir [45, 64, 65]. Bununla birlikte, çocukluk çağı tümörleri mutasyon yükü düşük ancak yüksek dereceli immünojenik neoplaziler olmadıklarından; tümör numunelerinde tümör ile ilişkili antijenlere daha düşük oranda bir yanıt ortaya çıkabilir. Bu nedenle de literatürde, çocukluk çağı tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu, erişkin olgulara göre daha düşük bulunmaktadır [54].

Literatürde modifiye doku mikrodizini kesitlerinde PD-L1 ekspresyonu değerlendirildiğinde, PD-L1'in tümör içerisinde oldukça heterojen bir dağılım gösterdiği izlenmektedir. PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmede bir diğer yöntem olan, tam doku kesiti yöntemi ile modifiye doku mikrodizindeki ekspresyon oranı karşılaştırıldığında orta derecede uyum olduğu saptanmıştır. Retrospektif olarak yapılan çalışmamızda bizim kullandığımız yöntem, elimizdeki doku azlığı nedeniyle modifiye doku mikrodizin yöntemidir. Literatürde çocukluk çağı tümörlerinde PD-L1 ekspresyonunu değerlendiren çalışmalarda, çoğunlukla modifiye doku mikrodizin yöntemi kullanılmıştır [11, 66]. Modifiye doku mikrodizin yöntemi ile yapılan immünohistokimyasal değerlendirmelerde PD-L1

ekspresyonu açısından yanlış negatiflikler olabilmekte, tam doku kesitlerindeki değerlendirmelerde daha yüksek oranda PD-L1 ekspresyonu saptanmaktadır. Bu nedenle, PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesinde, tam doku kesitlerinin kullanılması daha uygundur. Ancak tam doku kesitlerinin elde edilebilmesi için prospektif planlanmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı ise olgu sayımızın oldukça az olmasıdır. 2006 yılından önce tanı almış hastaların patoloji dokularına ulaşamaması ve patoloji dokularına ulaşılan hastalardan alınan örneklerin bir kısmının oldukça küçük ve yetersiz olmasından ötürü bazı olgular çalışmaya dahil edilememiştir.

Sonuç olarak; özellikle erişkin ve çocuk immün sistemdeki farklılıklar nedeniyle, çocukluk çağı tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu, erişkinlerdeki kadar yüksek değildir. Ancak bu konuda kesin kanıya varmak için daha geniş popülasyonda yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamıza dahil edilen olgu sayısı 60'tir. Doku örneği, 44 olgunun (%73,3) kemoterapi öncesi, 16 olgunun (%26,7) kemoterapi sonrası temin edilmiştir.
2. Çalışmamıza 34 (%56,7) nöroblastom, 17 (%28,3) Wilms tümörü, dört (%6,7) renal hücreli karsinom, iki (%3,3) konjenital mezoblastik nefroma, iki (%3,3) renal rabdoid tümör ve bir (%1,7) berrak hücreli sarkom tanılı hasta dahil edilmiştir.
3. Çalışmamızda sağkalım analizi yaptığımız vaka sayısı 51'dir (34'ü nöroblastom, 17'si Wilms tümörü). Sağkalım analizine olguların medyan takip süresi 79 aydır (min 6 ay max 143 ay).
4. Çalışmaya dahil edilen 34 nöroblastomlu olgunun, 5 yıllık OS ve EFS oranları sırasıyla; %75,3 ve %58,9 olarak bulunmuştur.
5. Çalışmaya dahil edilen nöroblastomlu olguların, TPOG risk grupları arasında OS oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup; düşük/orta riskli grubun OS oranlarının, yüksek riskli gruba göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir ($p=0,040$).
6. Çalışmaya dahil edilen nöroblastomlu olguların, Shimada sınıflamaları arasında OS ve EFS oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup; iyi histolojili grubun kötü histolojili olan gruba göre OS ve EFS oranlarının daha iyi olduğu görülmüştür ($p=0,001$).

7. Nöroblastomlu hastalarda, MYCN gen amplifikasyonu ile OS ve EFS süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış olmasına rağmen ($p=0,574$); MYCN negatif olan olguların; 5 yıllık OS oranı %79,5, MYCN pozitif 5 yıllık OS oranı %55,6 olarak bulunmuştur.
8. Çalışmaya dahil edilen 17 Wilms tümörlü olgunun, 5 yıllık OS ve EFS oranları sırasıyla; %88,2 ve %87,4 olarak bulunmuştur.
9. Wilms tümörlü hastalarda, tümördeki anaplazi varlığı ile OS süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmış olup, anaplazi negatif olguların, anaplazi pozitif olanlara göre OS oranlarının daha iyi olduğu görülmüştür ($p=0,006$).
10. Nöroblastomlu hastalarda PD-L1 ekspresyonu, iki olguda (%5,8) pozitif (+1), 32 olguda (%94,2) negatif bulunmuştur.
11. Nöroblastomlu hastalardan; evre 4 olan 21 olgunun ikisinde (%9,5) ve yüksek riskli olan 16 olgunun ikisinde (%12,5) artmış PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır.
12. Nöroblastomlu hastalarda, Shimada sınıflamasına göre kötü histolojik tipte tümörü olan 8 olgunun ikisinde (%25) pozitif PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır.
13. Nöroblastomlu hastalarda, MYCN negatif olan olguların 5 yıllık OS oranı (%79,5), MYCN pozitif olguların 5 yıllık OS oranından (%55,6) belirgin yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır ($p=0,574$).

14. Nöroblastomlu olgularda, hiç boyanma olmaması durumunda OS oranı %73,9 iken, %1-5 arasında boyama olması durumunda %50 olduğu görülmüştür.
15. Wilms tümörü, konjenital mezoblastik nefroma, renal rabdoid tümör, renal hücreli karsinom ve berrak hücreli sarkoma sahip olguların tamamında PD-L1 ekspresyonu negatif saptanmıştır.

7. KAYNAKÇA

1. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 2010; 236: 219–242.
2. Li XC, Rothstein DM, Sayegh MH. Costimulatory pathways in transplantation: Challenges and new developments. *Immunol. Rev* 2009; 229: 271–293.
3. Keir M, Butte M, Freeman G, Sharpe A. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Ann Rev. Immunol* 2008; 26: 677–1381.
4. Latchman Y, Wood C, Chernova T, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001; 2: 261– 269.
5. Tseng S, Otsuji M, Gorski K, et al. B7-DC, a new dendritic cell molecule with potent costimulatory properties for T cells. *J Exp Med* 2001; 193: 839–885.
6. Riella LV, Watanabe T, Sage PT, et al. Essential role of PDL1 expression on nonhematopoietic donor cells in acquired tolerance to vascularized cardiac allografts. *Am J Transplant* 2011; 11: 832-840.
7. Mazanet M M, Hughes C C. *J Immunol.* 2002;169:3581–3588.
8. Routh JC, Ashley RA, Sebo TJ, Lohse CM, Husmann DA, Kramer SA, Kwon ED. B7-H1 expression in Wilms tumor: Correlation with tumor biology and disease recurrence. *J Urol* 2008;179:1954–1960.

9. Uehara S, Nakahata K, Kawatsu M, Zenitani M, Miyamura T, Hashii Y, Okuyama H. The PDL1 expression increases after consecutive multimodal therapies in neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62:S334.
10. Chowdhury F, Dunn S, Mitchell S, Mellows T, Ashton-Key M, Gray JC. PD-L1 and CD8(+)PD1(+) lymphocytes exist as targets in the pediatric tumor microenvironment for immunomodulatory therapy. *Oncoimmunology* 2015;4:e1029701.
11. Majzner RG, et al. Assessment of programmed death-ligand 1 expression and tumor-associated immune cells in pediatric cancer tissues. *Cancer*. 2017 Jun 13. doi: 10.1002/cncr.30724.
12. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443-54.
13. Herbst RS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 2014;515(7528):563–567.
14. Van Dam LS, de Zwart VM, Meyer-Wentrup FA. The role of programmed cell death-1 (PD-1) and its ligands in pediatric cancer. *Pediatr Blood Cancer* 2014;62:190–197.
15. Harmer M. TNM classification of malignant tumors. Ed.3. Geneva: International Union Against Cancer 1974.
16. Robert M. Kliegman, Bonita M.D. Stanton, Joseph St. Geme, Nina F Schor, Richard E. Behrman, Nelson Textbook of Pediatrics, 2015.

17. Nuclear Medicine in the Treatment of Endocrine and Neuroendocrine Tumors. Alasbimn journal Year 5, Number 18, October 2002.
18. Shimada H, Ambros IM, Dehner LP. The international neuroblastoma pathology classification (The Shimada System). Cancer 1999; 86:364-72.
19. Aoki T, Hino M, Koh K, et al: Low frequency of programmed death ligand 1 expression in pediatric cancers. Pediatr Blood Cancer 63:1461-1464, 2016.
20. Altungoz O, Aygun N, Tumer S et al. Correlation of modified Shimada classification with MYCN and 1p36 status detected by fluorescence in situ hybridization in neuroblastoma. Cancer Genet Cytogenet 2007; 172:113-9.
21. Goto S, Umehara S, Gerbing R et al. Histopathology (International Neuroblastoma Pathology Classification) and MYCN status in patients with peripheral neuroblastic tumors. Cancer 2001; 92:2699-708.
22. Oğuz F. ve ark, Böbrek Toplayıcı Tübül Kanseri: Olgu Sunumu, Fırat Tıp Dergisi 2011, Cilt 16, Sayı 4, Sayfa 211-214).
23. Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. Clin Cancer Res. 2007;13(7):2151-7.
24. Drieser RA, Hirt C, Viehl CT, Frey DM, Nebiker C, Huber X, et al. Clinical impact of programmed cell death ligand 1 expression in colorectal cancer. Eur J Cancer. 2013;49(9):2233-42.

25. Yiyang Liu, The Place of FDG PET/CT in Wilms tumor: Value and Limitations, *Front. Oncol.*, 06 September 2016.
26. Chen Bingguan, New Progress in Immunotherapy of Lung Cancer, 2014-08-15.
27. Kim C. Ohaegbulam, Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway, *Trends in Molecular Medicine*/Volume 21, Issue 1, p24–33, January 2015.
28. Lars M wagner, Val R Adams; Targeting the PD-1 pathway in pediatric solid tumors and brain tumors; *OncoTargets and Therapy* 2017;10 2097–2106.
29. Sun WY, Lee YK, Koo JS. Expression of PD-L1 in triple-negative breast cancer based on different immunohistochemical antibodies. *J Transl Med.* 2016 Jun 10;14(1):173. doi: 10.1186/s12967-016-0925-6.
30. Tokito T, Azuma K, Kawahara A, Ishii H, Yamada K, Matsuo N, et al. Predictive relevance of PD-L1 expression combined with CD8⁺ TIL density in stage III non-small cell lung cancer patients receiving concurrent chemoradiotherapy. *Eur J Cancer.* 2016;55:7-14.
31. Schmidt LH, Kummel A, Gorlich D, Mohr M, Brockling S, Mikesch JH, et al. PD-1 and PD-L1 Expression in NSCLC Indicate a Favorable Prognosis in Defined Subgroups. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136023.
32. Zhang Y, Wang L, Li Y, Pan Y, Wang R, Hu H, et al. Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2 independently predict poor

prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. *Onco Targets Ther.* 2014;7:567-73.

33. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression is associated with a favourable immune microenvironment and better overall survival in stage I pulmonary squamous cell carcinoma. *European Journal of Cancer.* 2016;57:91-103.
34. Kim MY, Koh J, Kim S, Go H, Jeon YK, Chung DH. Clinicopathological analysis of PD-L1 and PD-L2 expression in pulmonary squamous cell carcinoma: Comparison with tumor-infiltrating T cells and the status of oncogenic drivers. *Lung Cancer.* 2015;88(1):24-33.
35. Ameratunga M, Asadi K, Lin X, Walkiewicz M, Murone C, Knight S, et al. PD-L1 and Tumor Infiltrating Lymphocytes as Prognostic Markers in Resected NSCLC. *PLoS One.* 2016;11(4):e0153954.
36. Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(7):2151-7.
37. Drieser RA, Hirt C, Viehl CT, Frey DM, Nebiker C, Huber X, et al. Clinical impact of programmed cell death ligand 1 expression in colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 2013;49(9):2233-42.
38. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family

member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000;192(7):1027-34.

39. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:677-704.
40. Azuma K, Ota K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Harada T, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2014;25(10):1935-40.
41. Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin Cancer Res.* 2007;13(2 Pt 2):709s-15s.
42. Parsa AT, Waldron JS, Panner A, Crane CA, Parney IF, Barry JJ, et al. Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat Med.* 2007;13(1): 84-8.
43. Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med.* 2012;4(127):127ra37.
44. Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515(7528):568-71.

45. Akbay EA, Koyama S, Carretero J, Altabef A, Tchaicha JH, Christensen CL, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov.* 2013;3(12):1355-63.
46. Wu C, Zhu Y, Jiang J, Zhao J, Zhang XG, Xu N. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta Histochem.* 2006;108(1):19-24.
47. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Neyman N, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (Eds.). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/, based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2013.
48. Sznol M, Chen L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:1021–1034.
49. Cooper WA, Tran T, Vilain RE, et al: PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. *Lung Cancer* 89:181-188, 2015.
50. Karim R, Jordanova ES, Piersma SJ, Kenter GG, Chen L, Boer JM, et al. Tumor-expressed B7-H1 and B7-DC in relation to PD-1+ T-cell infiltration and survival of patients with cervical carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2009;15(20):6341.

51. Ishidki T, Chikuma S, Iwai Y, Fagarasan S, Honjo T. A rheostat for immune responses: The unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nat Immunol* 2013;14:1212–1218.
52. Madore J, Vilain RE, Menzies AM, et al: PD-L1 expression in melanoma shows marked heterogeneity within and between patients: Implications for anti PD-1/PD-L1 clinical trials. *Pigment Cell Melanoma Res* 28:245-253, 2015
53. Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(9):3360-5.
54. Watson IR, Takahashi K, Futreal PA, et al: Emerging patterns of somatic mutations in cancer. *Nat Rev Genet* 14:703-718, 2013.
55. Jin HT, Ahmed R, Okazaki T. Role of PD-1 in regulating T-cell immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010;350:17–37.
56. Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Immunol Rev* 2008;8:467–477. 17. Oestreich KJ, Yoon H, Ahmed R, Boss JM. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. *J Immunol* 2008;181:4832–4839.
57. Afreen S, Dermine S. The immunoinhibitory B7-H1 molecule as a potential target in cancer: Killing many birds with one stone. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2014;7:1–17.

58. Mu CY, Huang JA, Chen Y, et al: High expression of PD-L1 in lung cancer may contribute to poor prognosis and tumor cells immune escape through suppressing tumor infiltrating dendritic cells maturation. *Med Oncol* 28:682-688, 2011.
59. Pinto N, Park JR, et al. Patterns of PD-1,PD-L1 and PD-L2 expression in pediatric solid tumors. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64:e26613.
60. Leite KR, Reis ST, Junior JP, et al: PD-L1 expression in renal cell carcinoma clear cell type is related to unfavorable prognosis. *Diagn Pathol* 10: 189, 2015.
61. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, et al: Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti PD-1 therapy. *Clin Cancer Res* 20:5064-5074, 2014.
62. Ohigashi Y, Sho M, Yamada Y, et al. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11: 2947-2953.
63. Dondero A, Pastorino F, Della Chiesa M, et al: PD-L1 expression in metastatic neuroblastoma as an additional mechanism for limiting immune surveillance. *OncoImmunology* 5:e1064578, 2015.
64. McLaughlin J, Han G, Schalper KA, Carvajal-Hausdorf D, Pelekanou V, Rehman J, et al. Quantitative Assessment of the Heterogeneity of PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2016;2(1):46-54.

65. Ilie M, Hofman V, Dietel M, Soria JC, Hofman P. Assessment of the PD-L1 status by immunohistochemistry: challenges and perspectives for therapeutic strategies in lung cancer patients. *Virchows Arch.* 2016;468(5):511-25.
66. Federica S. at all., Programmed Death-Ligand 1 expression in a large cohort of pediatric patients with solid tumor and association with clinicopathologic features in neuroblastoma; 2018 JCO™ Precision Oncology:1, 1-12.
67. Philip A. Pizzo M, David G. Poplack MD, Principles and Practice of Pediatric Oncology, 2015.
68. Wendy A. Cooper TT, Ricardo E Vilian, Jason Madore, Christina I. Selinger, Maija Kohonen-Corish, Poyee Yip, Bing Yu, Sandra A. O'Toole, Brain C. McCaughan, Jennifer H. Yearley, Lisa G. Horvath, Steveb Kao, Michael Boyer, Richard A. Scolyer. PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. *Lung Cancer.*

8. ÖZET

NÖROBLASTOM, WILMS VE DİĞER RENAL TÜMÖRLERDE PD-L1 EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Programmed death 1 (PD-1) (hücresel ölüm proteini-1) reseptörü; natural killer (NK) hücreleri, aktive edilmiş monosit ve dendritik hücrelerin bazı alt gruplarının yanı sıra T hücreleri ve B hücreleri yüzeyinde yer alan bir koreseptördür. PD-1 reseptörünün, PD-L1 (hücresel ölüm ligandı-1) ve PD-L2 (hücresel ölüm ligandı-2) olmak üzere iki ligandı mevcuttur. PD-1/ PD-L1 yolağının en önemli rolü; T hücre fonksiyonlarının inhibe edilmesidir. Bu inhibitör etkileşimler, ikincil lenfoid dokularda enflamasyonun başlangıç aşamasında sadece T hücre fonksiyonlarını baskılamakla kalmaz, aynı zamanda efektör T hücre yanıtlarını modüle eder. Bu yolak immun eradikasyondan korunmak için kronik enflamasyona neden olan tümörler ve virüsler tarafından kullanılmaktadır. Çalışmamızda nöroblastom, Wilms tümörü ve diğer renal tümörlü hastaların doku örneklerinde PD-L1 ekspresyon derecesini ve PD-L1 ekspresyonu ile evre, prognostik faktörler ve prognoz arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tanı almış toplam 60 olgunun tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunu incelendi. Çalışma sonucunda tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu, 60 hastadan sadece iki olguda pozitif saptandı. PD-L1 ekspresyon pozitifliği saptanan iki olguda nöroblastom ile takipliydi. Wilms tümörü ve diğer renal tümörlerin hiçbirinde PD-L1 ekspresyonu saptanmadı. Sonuç olarak; özellikle erişkin ve çocuk immun sistemdeki farklılıklar nedeniyle,

çocukluk çağı tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu, erişkinlerdeki kadar yüksek değildir. Ancak bu konuda kesin kanıya varmak için daha geniş popülasyonda yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelime: Hücresel ölüm proteini-1 / Hücresel ölüm ligandı-1 / Hücresel ölüm ligandı-2 / ekspresyon / prognoz



9. SUMMARY

ASSESSMENT OF PD-L1 EXPRESSION IN NEUROBLASTOMA, WILMS AND OTHER RENAL TUMORS

Programmed death 1 receptor (PD-1) is a co-receptor that is expressed on the surface of natural killer cells, activated monocytes and some subgroups of dendritic cells in addition to B and T cells. PD-1 receptor has two ligands in for PD-L1 (programmed death ligand 1) and PD-L2 (programmed death ligand 2). The most common role of the PD-1/PD-L1 pathway is inhibition of T cell functions. This inhibitory effect not only inhibits T cell functions at the beginning phase of inflammatory response at secondary lymphoid tissues but also modulates the effector T cell functions. This pathway is used by viruses and cancer cells that causes chronic inflammation to prevent from immune eradication. In our study we aimed to evaluate degree of PD-L1 expression in the tissue specimens of patients with neuroblastoma, Wilms tumor and other renal tumors and assess the association between level of PD-L1 expression with stage, prognostic factors and prognosis. We examined the PD-L1 expression in tumor cells in total sixty cases who has diagnosed at Gazi University Faculty of Medicine. As a result of our study, expression of PD-L1 in tumor cells was positive in only two patients from sixty patients. Two patients with PD-L1 expression positivity were followed up with neuroblastoma. PD-L1 expression was not detected in any of the patients with Wilms tumor and other renal tumors. As a result; PD-L1 expression in childhood tumors is not as high as in adults, especially due to differences between adult and

child immunization systems. However, we need more prospective studies to be done in the wider population to reach a certain conclusion.

Keywords: Programmed death 1 (PD-1) / Programmed death ligand 1 (PD-L1) / Programmed death ligand 2 (PD-L2) / expression / prognosis.



10. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSİZ OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU									
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu							
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara							
	TELEFON	0312 202 69 58							
	FAKS	0312 202 46 73							
	E-POSTA	tipetikkurulu@gazi.edu.tr							
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nöroblastom, Wilms ve Diğer Renal Tümörlerde PD-L1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi							
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI	Prof. Dr. Ceyda KARADENİZ							
	UNVANI/ADI/SOYADI								
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/ BULUNULUŞU/MERKEZ	Çocuk Sağ. ve Hast. AD. / G.Ü.T.F.							
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)								
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, tükürük, dokü, radyasyon, görünür ışık, biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyasyon koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene, tetkik, tıbbi ve tedavi işlemleri sırasında röntgeni elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar/uzmanlık Testi							
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	☒	ÇOK MERKEZLİ	☐	ULUSAL	☒	ULUSLARARASI	☐	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dil					
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	25.10.2017	1	Türkçe	☒	İngilizce	☐	Diger	☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	25.10.2017	1	Türkçe	☒	İngilizce	☐	Diger	☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı				Açıklama				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒							
	BİYOKİMYA MATERYAL TRANSFER FORMU	☐							
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:	546							
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından karşı edildigi takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.								
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Bağ ve Biyoteknik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Yönetmeliği							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI		Prof. Dr. Canan ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Ünvanlık Abon	Kurumun	Ünvan	Ünvan	Araştırma ile ilgili	Kurum *	İmza		
Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji AD	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Hüdâ ERASER BAŞKAN YARD.	ADÜ Tıp AD	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

11. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı soyadı: Seher ŞENER

Doğum tarihi ve yeri: 09.10.1989 / ADANA

Yabancı dili: İngilizce

E-posta adresi: kzl_seher@hotmail.com

Telefon: 0535 795 86 68

Eğitim/İş Bilgileri:

Mezun olduğu üniversite / fakülte: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mezuniyet tarihi: 2013

Görev yeri: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü (2014-2018)

Akademik ünvan: Araştırma görevlisi

Bilimsel Bildiriler:

- Şener YZ, Şener S, Erbil AA, Nadir Bir Nötropenik Ateş Etkeni: Mycobacterium Tuberculosis, 5. Türk Tıbbi Onkoloji Kongresi, Antalya, 2014, Türkiye
- Şener S, Şişmanlar T, Aslan Tana A, Güleriyüz Derinöz O, İnsidental Ve Geç Saptanmış Situs İnversus Totalis Olgusu, 13. Çocuk Acil Tıp ve Yoğun Bakım Kongresi, İzmir, 2016, Türkiye

- Şener S, Yayla Cura BC, Tezer H, Bakteriyel Menenjit Komplikasyonu: Subdural Ve Epidural Ampiyem, 61.Türkiye Milli Pediatri Kongresi, Antalya, 2017, Türkiye
- Şener YZ, Şener S, Aktaş BY, Petekkaya İ, Laryngeal Neuroendocrine Carcinoma with Skin Metastasis, International Journal for Case Reports, 2017, Vol.1 No.1:3

Bilimsel Toplantılar:

- 61.Türkiye Milli Pediatri Kongresi, Antalya, 2017, Türkiye