

TC  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

131757

ANJİOGENEZ (VEGF), MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU (CD34),  
p53 VE TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN WILMS TÜMÖRÜNDE EVRE,  
HİSTOLOJİK TİPLER VE PROGNOZ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM BAKANLIĞI  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

131757

DR. M. YASEMİN İREN ÖZLÜK  
UZMANLIK TEZİ

*Yasemin*

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İŞİN KILIÇASLAN

İSTANBUL 2003

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.  
(Proje No: T-38/23072002)

***İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitim sürem ve tez çalışmam sırasında***

***ilgi ve katkılarını esirgemeyen Üriner ve Erkek Genital Sistem Bilim Dalı Başkanı***

***değerli hocam Sn. Prof. Dr. Veli Uysal'a,***

***tezimin her aşamasında bana destek olan tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Işın Kılıçaslan'a,***

***uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım***

***Anabilim Dalı Başkanlığı yapmış olan***

***Sn. Prof. Dr. Ferhunde Dizdaroğlu ve Sn. Prof. Dr. Mehmet Ağan başta olmak üzere***

***tüm değerli hocalarıma,***

***yardımları ve desteği için Sn. Uzm. Dr. Mine Güllüoğlu'na,***

***klinik verilere ulaşmamda bana yardımcı olan***

***Onkoloji Enstitüsü öğretim üyesi Sn. Prof. Dr. İnci Ayan'a ve***

***Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn. Prof. Dr. Leyla Ağaoğlu'na,***

***istatistiksel değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Sn. Uzm. Dr. Hakan Çamlıca'ya,***

***tez çalışmamın teknik aşamalarında bana yardımcı olan Sn. Prof. Dr. Öner Doğan'a,***

***Sn. Süeda Ertosun'a, Sn. Selime Filiz'e, Sn. Fatma Ay'a, Sn. Ömral Yılmaz'a,***

***tüm patoloji çalışanlarına ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarıma,***

***ayrıca yaşamımın iyi-kötü her döneminde yanımda olan aileme, eşime ve tez çalışmam sırasında***

***hayatıma giren tatlı gülümsemesi ile neşe ve moral kaynağım biricik oğluma***

***teşekkürlerimle.....***

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
Epidemiyoloji-Etyopatogenez.....	4
Genetik.....	5
Klinik.....	7
Makroskopik özellikler.....	8
Mikroskopik özellikler.....	8
Anaplazi.....	13
Evreleme.....	17
Tedavi.....	19
Prognoz.....	20
<b>ÇALIŞMADA KULLANILAN BELİRLEYİCİLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER</b>	
p53.....	24
CD34-VEGF (anjiogenez).....	26
Telomeraz.....	28
<b>MATERYAL-METOD</b> .....	<b>31</b>
Vaka gruplarının belirlenmesi.....	31
İmmünohistokimyasal yöntem.....	33
İmmünreaktivitenin değerlendirilmesi .....	36
İstatistiksel yöntem.....	37
<b>BULGULAR</b> .....	<b>38</b>
Vakaların dökümünü gösteren tablolar.....	43
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>63</b>
<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>80</b>
<b>RESİMLER</b> .....	<b>83</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>93</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>95</b>

## KISALTMALAR

- WT: Wilms tümörü  
NB: Nefroblastom  
Bl. baskın: Blastemal baskın  
Ep. baskın: Epitelyal baskın  
NWTS: National Wilms Tumor Study  
RB: Retinoblastom  
PNET: Primitif nöroektodermal tümör  
KN: Kistik nefrom  
KPDN: Kistik parsiyel diferansiye nefroblastom  
NK: Nefrojenik kalıntı  
NBS: Nefroblastomatozis  
ILNK: İntralober nefrojenik kalıntı  
PLNK: Perilober nefrojenik kalıntı  
FH: Uygun histoloji  
UH: Uygun olmayan histoloji  
MDY: Mikrodamar yoğunluğu  
MDYmax: Mikrodamar yoğunluğu maksimum değeri  
VEGF: Vascular endothelial growth factor  
TGF- $\alpha$ : Transforming growth factor -  $\alpha$   
TGF- $\beta$ : Transforming growth factor -  $\beta$   
TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor -  $\alpha$   
TLM: Telomeraz  
hTERT: İnsan telomeraz reverse transcriptaz  
hTERC: İnsan telomeraz RNA komponent  
TRAP: Telomeric repeat amplification  
KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri  
KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri  
KT: Kemoterapi  
RT: Radyoterapi  
H&E: Hematoksilen-Eozin

## GİRİŞ

Wilms Tümörü (WT), diğer adı ile nefroblastom (NB), nefron diferansiasyonunun çeşitli evrelerini taklit eden, nonrenal hücre tiplerinin de eşlik edebildiği, blastemal, stromal ve epitelyal hücrelerden oluşan trifazik bir tümördür (1). Bu komponentlerin yaygınlığına göre mikst tip (klasik trifazik tip), blastemal baskın tip, epitelyal baskın tip ve stromal baskın tip olmak üzere belli başlı dört grupta incelenir.

Çocukluk çağı böbrek tümörleri arasında en sık görülen WT hakkındaki çalışmalar arasında prognoz ile ilişkili olanlar, hasta çocuklara en uygun tedavi protokollerinin belirlenmesi, böylece daha uzun ve kaliteli yaşam sağlanması bakımından en önemli araştırmalar olarak kabul edilebilir. Yapılan çalışmaların sonucunda klasik kabul edilen en önemli kötü prognostik parametreler arasında iki yaşın üzerinde olmak, ileri evre ve anaplazi varlığı sayılabilir (2).

Tümör hücrelerinde multipolar mitotik figürlerin, nükleusta en az üç kat büyümenin ve hiperkromazinin bir arada var olması esasına dayanan anaplazi, genellikle %5 oranında görülmekte ve kötü prognostik gösterge olarak kabul edilmektedir (3, 4, 5). Fokal ve diffüz olmak üzere iki şekilde görülür. Diffüz anaplazi kötü prognozla ilişkilidir (4, 6, 7).

Evreleme birçok pediatrik tümörde olduğu gibi Wilms tümöründe de tedavi ve prognoz açısından major belirleyicidir. National Wilms Tumor Study-5'te (NWTS-5) daha önceki çalışmalar dikkate alınarak pratik evreleme sistemi geliştirilmiştir (1, 7, 8, 9).

Yapılan çalışmalarda yaş, anaplazi ve evre dışında tümör çapı, ağırlık ve histolojik tip gibi parametrelerin de sağkalım üzerine olan etkileri araştırılmıştır (3, 9, 10, 11, 12). Wilms tümöründe histopatolojik ve klinik bulgular dışında, çeşitli immünhistokimyasal işaretleyiciler, tanıdan ziyade metastaz ve sürvi çalışmalarında yardımcı yöntemler olarak kullanılmıştır.

Çalışmamızda histopatolojik ve klinik parametrelerden yaş, cinsiyet, tümör tarafı, tümör çapı, ağırlık, histolojik tip, anaplazi, evre ve sağkalım değerlendirildi. Bunlara ek olarak son yıllarda alternatif tümör tedavilerinden gen tedavileri ve antianjiogenik tedaviler gibi yeni seçeneklerin geliştirilmesine ve prognostik parametrelerin belirlenmesine yönelik çalışmalara katkı sağlamak amacı ile p53 proteini, CD34 ve VEGF (vascular endothelial growth factor) gibi anjiogenez belirleyicileri ve son yıllarda kanserler üzerindeki çalışmalarda sıkça karşımıza çıkan telomeraz enzim aktivitesi araştırıldı.

## GENEL BİLGİLER

Çocuklarda 15 yaş altında neonatal komplikasyonlar ve kazalardan sonra kanserler en sık ölüm nedenleri arasında sayılmaktadır. Çocukluk çağı kanserleri arasında %8 oranında görülen Wims tümörü (WT), diğer adı ile nefroblastom (NB), yine bu yaş grubunda altıncı sırada yer alan böbrek tümörlerinin de %85'ini oluşturmaktadır (Tablo-1, Tablo-2) (1, 13, 14, 15).

Tablo 1-Sıklık sırasına göre çocukluk çağı tümörleri

- 
- 1- Lösemiler
  - 2- Beyin ve sinir sistemi tümörleri
  - 3- Lenfomalar
  - 4- Sempatik sinir sistemi tümörleri
  - 5- Yumuşak doku sarkomları
  - 6- Böbrek tümörleri
  - 7- Kemik tümörleri
  - 8- Retinoblastom
  - 9- Gonadal germ hücreli tümörler
  - 10- Gonad dışı germ hücreli tümörler
  - 11- Karaciğer tümörleri
  - 12- Melanomlar
-

**Tablo 2- Çocukluk çağı böbrek tümörleri**

1- Wilms tümörü (Nefroblastom)	%85
2- Mezoblastik nefrom	%5
3- Berrak hücreli sarkom	%4
4- Rabdoid tümör	%2
5- Diğer (Böbrek hücreli karsinom, lenfoma, renal nöroepitelyom, anjiyomiyolipom...)	%4

## **EPİDEMİYOLOJİ-ETYOPATOGENEZ**

Wilms tümörü, nefron diferansiasyonunun çeşitli evrelerini taklit eden, iskelet kası gibi nonrenal hücre tiplerinin de eşlik edebildiği, blastemal, stromal ve epitelyal hücrelerden oluşan trifazik bir tümördür (1). En sık 2 ile 5 yaşları arasında görülür. Vakaların %90'dan fazlası 6 yaş altında tanı alır (1, 2, 16, 17, 18). Erişkinlerde de görülebilirse de oldukça nadirdir (13). National Wilms Tumor Study (NWTS)<sup>1</sup> grubu vakalarının yaklaşık %15'i hayatın ilk yılı içinde görülür. Erkeklerde ortalama görülme yaşı 36,5 ay, kızlarda ise 42,5 aydır (18). Sol böbreği daha çok tutar (5). Belirli bir gelişimsel anomalisi olan vakalar hariç Wilms tümöründe etyoloji ve patogenez bilinmemektedir (2). Velasco ve ark. (19) Wilms tümöründe tümörojenik sürecin pluripotent bir hücreden başladığını ve multipl diferansiasyonlar gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Droz ve ark'nın (20) yaptıkları immünohistokimyasal çalışma Wilms tümörünün metanefrojenik mezenkimden geliştiği görüşünü kanıtlamaktadır.

<sup>1</sup> WT'de evreleme ve tedavide standart bir yol izleyebilmek için 1969'da A.B.D.'de kurulan çok merkezli bir çalışma grubu.

Pritchard-Jones ve ark. (13) Wilms tümörünün en çok görüldüğü yaş aralığından yola çıkarak patogeneizde tümörojenik potansiyel taşıyan hedef hücre popülasyonunun yaşamın erken dönemlerinden başlayarak önce artış, daha ileri yaşlara doğru ise azalış gösterdiğinin düşünülebileceğini öne sürmektedirler.

Tümörün tüm coğrafik bölgelerde benzer sıklıkta görülmesi çevresel risk faktörlerinin erişkin epitelyal tümörlerinin aksine etyopatogeneizde küçük bir rolü olduğunu gösterir. Aradaki farklılıklar coğrafi özelliklerden ziyade ırklar ile ilişkilidir (17). Wilms tümörünün görülme sıklığının etnik gruplara göre değişkenlik göstermesi etyolojisinde genetik predispozisyonun önemli bir yeri olduğunu düşündürür (21). Ailevi rekürrens vakaların %1'inde görülmektedir. Bilateralite yaklaşık %5 oranındadır (18). Kalıtsal veya kalıtsal olmayan bazı konjenital malformasyonların Wilms tümörü ile birlikteliği tümörün biyolojisi hakkında merak uyandıran unsurlardandır. Başlıcaları arasında Drash Sendromu (sporadik aniridi, hemihipertrofi, glomerülonefrit, hermafroditizm), Beckwith-Wiedemann sendromu (makroglossi, karın duvarı kapanma anomalileri, jigantizm) ve atnalı böbrek sayılabilir (18, 22, 23).

## **GENETİK**

Wilms tümörünün genetik karakterinin çoğunlukla spontan mutasyon içerdiği, ayrıca kalıtsal olma özelliği de gösterdiği düşünülmektedir. Retinoblastomda tespit edilen tümör süpresör geninin her iki kopyasında fonksiyon kaybı ile karakterize çift mutasyon modeli WT için de önerilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar göstermiştir ki WT'de genetik retinoblastomdakinden oldukça karmaşıktır (13, 24).

Wilms tümörü ile ilgili sitogenetik çalışmalar normal karyotipten kompleks kromozomal yeniden düzenlenmeye kadar değişen, trizomilerin ve delesyonların çok çeşitlilik gösterdiği oldukça geniş bir spektrum ortaya çıkarmıştır. Kötü prognoz açısından her bir kromozomal anormallik değerlendirildiğinde her çalışma grubunda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bown ve ark. (25) kompleks karyotip, 1p veya 11q delesyonlarının kötü prognoz ile ilişkili olmadığını, del (16) t (1:16) ve 16q kaybının tümör agresifliği ile ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Waber ve ark. (26) yaptıkları çalışmada WT hücre kültüründe p53 tümör süpresör geninde delesyon saptamışlar ancak hiçbir vakada nokta mutasyon, H-ras, K-ras, N-ras, mdm-2 ve retinoblastom (RB) geninde değişiklikler saptamamışlardır. p53 geninde saptadıkları delesyonun artefakt olabileceğini belirtmektedirler. Wilms tümörü patogenezinde başka genetik olayların rol oynadığını savunmaktadırlar.

Webber ve ark. (27) kötü prognoz ile seyreden, hepsi anaplazi içeren 22 vakada kompleks translokasyonlar tespit etmişlerdir. Sonuç olarak malign klonda genetik instabilitenin tedaviye dirençten sorumlu olabileceği üzerinde durmuşlardır. Genetik çeşitliliğin öneminin anlaşılması için çalışmaların artırılmasının gerektiği belirtilmektedir.

## KLİNİK

Abdominal kitle sıklıkla tek başvuru nedenidir. Ateş, karın ağrısı, iştahsızlık, bulantı ve kusma görülebilir. Mikroskopik hematüri hastaların 1/3'ünde tespit edilirken, makroskopik hematüri nadirdir (22).

Bazı vakalarda renin salınımına bağlı olarak hipertansiyon mevcuttur. Renin dışında Wilms tümörlü hastaların kanında müsin, hiyalüronik asit, von Willebrand faktör, eritropoietin gibi pek çok madde saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda bu maddelerin hiçbirinin, germ hücreli tümörlerde yaygın olarak kullanılan  $\alpha$ -fetoprotein gibi tümör belirleyicisi olarak kullanılabilme özelliklerinin olmadığı gösterilmiştir (28).

İntravenöz piyelografi, Wilms tümörünün diğer abdominal kitle nedenlerinden ayırımında en yararlı radyolojik prosedürdür. Kaliks distorsiyonu ve kontrast maddenin tümörün etrafında tutulumu söz konusudur. Ultrason ve bilgisayarlı tomografi kitlenin kistik/solid ayırımında ve çevre organ tutulumunun değerlendirilmesinde yardımcıdır. En sık metastaz yerinin akciğer olduğu düşünüldüğünde akciğerlerin direkt grafiler ve tomografi ile incelenmesi gereklidir. Tümörün yayılımını artıracığından iğne biyopsisi yapılmamalıdır (22). Bilateralite ve multisentrisitenin gösterilmesi diğer birçok çocukluk çağı böbrek tümöründen önce Wilms tümörünü akla getirmelidir (2).

## **MAKROSKOPİK ÖZELLİKLER**

Wilms tümörleri genellikle renal parenkimden keskin sınır ile ayrılan, tek, yuvarlak kitle şeklinde görülür (1, 2, 18). Multisentrisite %7, bilateralite ise %5,4 oranındadır (16). Böbreğin ve tümörün toplam ağırlığı NWTS'ye göre 60 ile 6350 g arasında değişmektedir. Ortalama ağırlık 550 g'dır (2). Tümör çapları ortalaması bir çalışmada 11,3 cm olarak verilmiştir (27). Kesit yüzeyi yumuşak, bombeleşme eğiliminde, uniform, gri-beyaz renkte olup beyin dokusuna benzer görünümündedir. Tümör stromadan zengin ise daha sert ve lobüle bir görünüm kazanır. Hemoraji, nekroz odakları ve kist formasyonları eşlik edebilir. Kalsifikasyon beklenen bir bulgu değildir (2, 18).

Wilms tümörü korteks ve medulla dahil böbrekte her bölgeden gelişebilir. Renal parenkimi iterek, çevre dokuları basıya uğratarak büyüme özelliğindedir. Nadiren ekzofitik gelişim göstererek ekstrarenal Wilms tümörünü taklit eder (2). İnguinal bölge, retroperiton ve gonadlarda da WT gelişebilir (29). Tümörün yumuşak ve kolay dağılır özelliği, kesit almayı zorlaştırarak tümör hücrelerinin etrafa yayılmasına ve sonuç olarak yanlış evrelemeye neden olabilir (2).

## **MİKROSKOPİK ÖZELLİKLER**

WT histolojik paternlerinin zenginliği bakımından teratomlara benzer bir tümördür. Blastemal, epitelyal ve stromal hücre tipleri pek çok lezyonda bulunur. Bunların her biri çeşitli hücre tiplerine farklı derecelerde diferansiasyon gösterebilirler. Her hücre tipinin oranları tümörden tümöre değişir. Blastemal, epitelyal ve stromal tip hücreleri içeren trifazik tümörler karakteristik olmakla birlikte bifazik ve monofazik lezyonlar da görülebilir.

Komponentlerin çoğu nefrogenezin farklı evrelerini sergilemeler de bazılarında iskelet kası gibi heterolog elemanlar bulunabilir (2). Heterolog elemanların varlığında teratoid WT ile nadir görülen renal teratomun ayırımında güçlük olabilir. Renal teratom olarak bildirilen pek çok vaka dikkat çekici nitelikte çeşitlilik gösteren teratoid WT olabilir. Teratoid WT diyebilmek için teratoid elemanların tümörün %50'sinden fazlasını oluşturması gerekir (30, 31). Ayırıcı tanı, teratomda germ hücreleri, ekstraembriyonik hücre tipleri ve nonrenal somatik organ yapılarının varlığına dayanır (18).

Mikroskopik olarak, komponentleri oluşturan hücrelerin oranına ve dizilim özelliklerine göre WT çok çeşitli şekillerde görülür. Eğer bir komponent tümörün 2/3'ünden fazlasını oluşturuyor ise tümör söz konusu komponentten baskın tipte WT olarak adlandırılır (29).

WT mikroskopik özelliklerine göre belli başlı 4 grupta incelenir:

1. Mikst tip (klasik trifazik tip)
2. Blastemal baskın tip: diffüz, serpentin, nodüler, bazaloid
3. Epitelyal baskın tip: tubuler, papiller, glomerüloid, tubulopapiller
4. Stromal baskın tip

**Blastemal patern:** Blastemal hücreler küçük, çekirdek/sitoplazma oranı çekirdek lehine artmış, herhangi bir yöne diferansiasyon göstermeyen hücrelerdir. Diffüz, serpentin, nodüler ve bazaloid olmak üzere dört ayrı formda görülebilir. Tümörler genellikle birden çok formu içerirler. Metastaz bölgelerinde bu özellikler ayırıcı tanıda yardımcı olabilir (2).

Diffüz blastemal patern komşu bağ dokusuna ve damarlara invazyon yapma eğilimindedir. Keskin sınırlı tümörlerin aksine böbrek dışına yayılır. Ancak tedaviye iyi yanıt verdiklerinden 'uygun olmayan' histolojili grupta yer almazlar. Monomorfik görünümü nedeni ile metastazlarında çocukluk çağının küçük mavi hücreli tümörleri ile karışabilirler (1). Serpentin blastemal patern oldukça sık görülür ve tanı koydurucudur. Blastemal hücrelerin kordonlar şeklinde dizilmesi ile oluşur. Hücreler kohezif olduğundan diffüz paternin aksine agresiflik göstermez. Blastemal hücrelerin serpentin paterne benzeyen ancak iyi sınırlı nodüller şeklinde gelişen formu ise nodüler blastemal paterndir. Bazaloid blastemal patern ise diğer paternlerdeki hücrelerin etrafında belirgin epitelyal bir tabaka olması ile tanınır (2).

**Epitelyal patern:** Çoğu epitelyal yapı; tubuler, glomerüloid, papiller ve transizyonel olmak üzere normal nefrogenezin çeşitli evrelerini taklit eder. Tubuler diferansiasyon en sık görülen epitelyal paterndir. Tubuler yapıların baskın olduğu tümörler hızlı büyüyüp dev kitleler oluştursalar da düşük evreli tümörlerdir. Bunların dışında müsinöz, skuamöz, nöral ve nöroendokrin hücreler gibi heterolog hücre tipleri de görülebilir (1).

**Stromal patern:** Miksoid ve iğsi hücreler hemen hemen tüm tümörlerde mevcuttur. İskelet kası en sık görülen heterolog hücre tipi olup genellikle çok iyi diferansiasyon gösterir.

Fetal rabdomyomatöz nefroblastom (FRNB) ve teratoid nefroblastom (TNB) heterolog diferansiasyonun baskın olduğu lezyonlar için kullanılan terimlerdir. FRNB 4 yaşın üzerindeki kişilerde görülmeyen, klasik Wilms tümöründen daha büyük boyutlara ulaşabilen ve ona göre daha az agresif olan bir tümördür (32).

## **Kistik Nefrom ve Kistik Parsiyel Diferansiye Nefroblastom**

Klasik Wilms tümöründe kistlerin görülmesi mümkün ise de tümör nadiren sadece kistik boşluklardan ve ince septalardan oluşur. Kistik olan tümörler geniş solid komponent içermezler ve matür hücreler içeren formu kistik nefrom (KN), embriyonel hücreler içeren formu ise kistik parsiyel diferansiye nefroblastom (KPDN) olarak adlandırılır. Her iki tümör de keskin sınırlı olup kistler arasındaki septalarda hiçbir normal renal element içermezler. KN, KPDN ve solid WT histogenetik açıdan nöroblastom-ganglionöromda görülen diferansiyasyon spektrumuna eş kabul edilirler. Ganglionörom ve nöroblastom spektrumun iki ucunda yer almaktadır. Ganglionöroblastom ise bu ikisi arasında geçiş tümörüdür.

Tümörün cerrahi olarak tamamen çıkartılabildiği durumlarda KN ve KPDN ayırımı önemli değildir. Kistik WT, kistik boşlukları distorsiyona uğratan solid, ekspansil kısımlar içermesi ile KN ve KPDN'den ayrılır (1, 33, 34).

## **Prekürsör Lezyonlar: Nefrojenik kalıntılar ve Nefroblastomatozis**

Nefrojenik kalıntı (NK): WT gelişimini indüklemeye potansiyeli taşıyan persiste nefrojenik hücrelerden oluşan odak şeklinde tanımlanır.

Nefroblastomatozis (NBS): Diffüz veya multifokal nefrojenik kalıntıları ifade eder.

WT'de bilateralite ve multisentrisite sık karşılaşılan bir bulgudur. NWTS vakalarının yaklaşık %6'sı bilateral olup, önemli bir kısmı ise unilateral ancak multisentriktir. Bu multisentrisitenin birden çok prekürsör lezyonun varlığını işaret ettiği düşünülmektedir (6).

Nefrojenik kalıntılar intralober (ILNK) ve perilober (PLNK) olmak üzere kabaca iki grupta incelenir. Özellikleri Tablo-3'te verilmiştir (35):

**Tablo 3- PLNK ve ILNK arasındaki morfolojik farklılıklar**

<b>Özellik</b>	<b>PLNK</b>	<b>ILNK</b>
<b>Lob içi pozisyonu</b>	Periferik	Rastgele
<b>Kalıntının kenarları</b>	İyi sınırlı, düzgün	Düzensiz, belirsiz
<b>İçeriği</b>	Blastemal (erken lezyon), epitelyal ve sklerozan (geç lezyon)	Stroma baskın, blastemal ve epitelyal de olabilir
<b>Dağılımı</b>	Genellikle çok sayıda, bazen lob periferinde diffüz	Genellikle tek, nadiren çok sayıda

PLNK ve ILNK'lar herhangi bir maturasyon veya büyüme göstermeden bulunabilirler. Daha sık olarak regresif değişiklikler içerirler. Bütünüyle hiperplazi gösterebilecekleri gibi klonal olarak da proliferere olabilirler (35, 36).

Nefrogenez, aylar içerisinde meydana gelen tekrarlayan birtakım olaylar ile karakterize farklı moleküler mekanizmalar içeren oldukça kompleks bir olaydır. Bundan dolayı nefrojenik kalıntıların oluşumu çeşitli moleküler bozukluklara bağlı olabilir. PLNK ve ILNK muhtemelen tek prekürsör değildirler. Familial WT'li pek çok vakada detaylı örnekleme rağmen prekürsör lezyon bulunamamıştır (36).

Nefroblastomatozis (NBS), multipl veya diffüz nefrojenik kalıntıların varlığını tanımlar. Tek ILNK veya PLNK varlığı şeklinde (perilober NBS, intralober NBS) olabileceği gibi ILNK ve PLNK'nin birlikte buldukları kombine NBS, ve renal parenkimin diffüz olarak tutulduğu üniversal (panlobler) NBS olarak çeşitli formlarda da görülebilir (29, 35).

## **ANAPLAZİ**

Nükleer büyüklük ve multipolar mitotik figürler ile karakterize olan anaplazi yaklaşık %5 vakada görülür (4). NWTS-2 sırasında anaplazinin kötü prognostik bir parametre olduğu sonucuna varılmıştır (5). Takip eden NWTS çalışmalarında WT'yi uygun olan (FH) ve uygun olmayan (UH) histolojili olmak üzere gruplandırırken anaplazi tek kriter olarak belirlenmiştir. Çocukluk çağıının kötü seyirli diğer iki tümörü, böbreğin berrak hücreli sarkomu ve rabdoid tümör de uygun olmayan histolojili grupta yer alırlar ancak WT'nin varyantı değil ayrı neoplastik antiteler olarak kabul edilirler (4). Ayrıca Wilms tümörü içinde gelişen böbrek hücreli karsinom alanları da uygun olmayan histoloji (UH) grubunda yer alır (37).

Anaplazi tanısı şu sitolojik kriterlerin her üçünün de bir arada bulunması esasına dayanır (3):

1. Belirgin olarak büyük ve genellikle multipolar mitotik figürler
2. Nükleusta aynı tip komşu hücreye göre en az 3 kat büyüme
3. Büyümüş olan nükleusta hiperkromazi

Anaplazik hücreyi diğerlerinden ayıran herhangi bir ultrastrüktürel veya immünohistokimyasal yöntem bulunamamıştır (38, 39). Zaman zaman anaplazi tanısı konurken birtakım güçlükler ile karşılaşılabilir. Nükleer büyümeden söz ederken iki eksen üzerinde en az 3 kat büyüme söz konusudur. Tanı güçlüğü ile karşılaşılan hallerde eritrositler yardımcıdır. Büyüklükleri tipik diploid bir WT hücresine yakındır. Multinükleasyon, kötü fiksasyon, kötü boyanma, ezilme artefaktı ve kalın kesit tanısı daha da güçleştirir. Neoplastik iskelet kası hücreleri sıklıkla çok sayıda çekirdek içerirler ve belirgin atipi gösterebilirler. İskelet kasında görülen anaplazi prognostik olarak anlamlı değildir. Gerçek anaplaziyi ayırmak için multipolar mitotik figürlerin varlığı gereklidir. Anaplaziyi taklit eden diğer artefaktlar arasında megakaryositler, yabancı cisim, kalsifikasyon, boya kalıntısı ve bazofilik ekstrasellüler mürin sayılabilir (3, 40).

Multipolar mitotik figürler anaplazi tanısında en önemli yapılardır. Kromozom içeriğinde belirgin artış olmayan mitotik şekiller anaplazi olarak kabul edilmezler. Tripolar, X ve Y-şeklindeki mitozlar tanı güçlüğüne neden olurlar. Kromozom içeriğinin fazla olması ve komşu segmenttekine benzer yoğunlukta olması anaplazi tanısı için gereklidir (3).

Fokal ve diffüz anaplazi tanımlamaları ilk kez kantitatif olarak yapılmış, ancak NWTS-2 ve NWTS-3 çalışmalarında prognostik olarak anlamlı olmadığına görülmesi üzerine değiştirilmiştir(4, 6, 7).

**Fokal anaplazi** primer tümörde bir veya daha fazla odakta anaplastik nükleer değişikliklerin varlığı ancak tümör dışı veya böbrek dışı bölgelerde anaplazi veya belirgin nükleer atipi görülmemesi şeklinde tanımlanır. Odakların dörde kadar tek mikroskopik kesite sığması, etraflarında anaplazi ve belirgin atipi<sup>2</sup> içermeyen tümör dokusu, veya tümörsüz doku olması kaydı ile anaplazi multifokal anaplazi olarak kabul edilir.

**Diffüz anaplazi** anaplazik alanların fokal anaplazi tanımlamasına uymadığı durumlarda söz konusudur. Bu durumlar şöyle sıralanabilir:

- fokal anaplazi tanımından daha az sınırlı anaplazinin varlığı
- anaplastik hücrelerin böbrek içi ve dışı damarlar içinde, renal sinüste, ekstrakapsüler invazif kısımlarda veya metastatik bölgelerde görülmesi
- anaplazinin fokal oluşu ancak diğer tümör alanlarında anaplaziye yaklaşan düzeyde nükleer atipinin bulunması
- biopside veya inkomplet tümör örneğinde anaplazi varlığı
- aynı bölgeden alınıp alınmadığı bilinmeyen birden fazla kesitin kenarında anaplazi varlığı

Anaplazi iki yaşın altındaki hastalarda oldukça nadirdir. Anaplazi sıklığı yaş arttıkça artar. Bu nedenle daha ileri yaştaki çocuklarda iyi örnekleme yapılmalıdır. Ayrıca kızlarda, beyaz ırk dışındakilerde ve ileri evre tümörlerde de artmış sıklıkta görülür (5, 40).

Anaplazinin saptanabilmesi için tümörden örnekleme yaparken büyük çapın her santimetresi için bir kesit almaya özen gösterilmelidir. Multisentrik tümörlerde aynı kural her bir tümör için uygulanmalıdır (5, 40).

---

<sup>2</sup> Anaplazi kriterlerini taşımayan, ancak nükleer büyüme veya atipik olmayan mitozun varlığı gibi durumlar. ('nuclear unrest' olarak da ifade edilebilir) (40)

Fokal ve diffüz anaplazi tanımlamalarına bakıldığında operasyon materyalinin makroskopik incelemesinin büyük önem taşıdığı görülmektedir. Alınan kesitlerin birbirinin devamı olup olmadığını anlamak ve anaplazinin cerrahi sınıra yakınlığı hakkında yorum yapabilmek için rezeksiyon materyalinin birbirine paralel ikişer cm'lik dilimler halinde kesilerek kodlanması, diagram, fotoğraf veya benzeri grafik yöntemlerin kullanılması ile kesit alınan bölgelerin işaretlenmesi şeklinde uygulanan haritalama yöntemi önerilmektedir (1, 7).

Lenf nodu metastazlarında ve uzak metastazlarda anaplazi olasılığı yüksektir. Primer tümörde görülmediği halde metastazlarda anaplazinin varlığı pek de nadir değildir (40).

Zuppan ve ark. (3) anaplazik hücrelerin artmış genetik mutabilitenin ve multipl mitotik bozuklukların göstergesi olarak kabul edilebileceğini savunmaktadırlar. Bunun anaplazinin kantitatif değerlendirilmesinin istatistiksel olarak anlamlı olmamasını açıklayabileceği kanısındadırlar. Douglass ve ark.'nın (41) yaptıkları bir çalışma ile hiperdiploididen ziyade kromozomal yeniden düzenlenmenin tedaviye direnç ile korele olduğunu saptamaları da bu görüşe destek oluşturmaktadır.

## **EVRELEME**

Evreleme birçok pediatrik tümörde tedavi ve prognoz açısından major belirleyicidir. NWTS-5'te daha önceki çalışmalar dikkate alınarak pratik evreleme sistemi geliştirilmiştir. Tablo-5 evreleme kriterlerini özetlemektedir. (1, 7, 8, 9).

### **Çocukluk Çağı Böbrek Tümörlerinde Evreleme (Ağustos 1995, NWTS-5)**

#### **Evre I: böbrekte sınırlı ve tümü ile çıkartılmış tümör**

- Böbrek kapsülü intakt, kapsül penetrasyonu yok
- Renal sinüsteki ven / lenfatiklerde invazyon yok
- Nodal/hematojen yayılma yok

#### **Evre II: böbrek dışına yayılmış ama tümü ile çıkartılmış tümör**

- Renal kapsül infiltrate ancak sınırlar temiz
- Renal sinüste ven / lenfatiklerde tümör mevcut
- Renal vende tümör mevcut ancak sınırlar temiz
- Biopsi (ince iğne aspirasyonu hariç) / intraoperatif ekilme
- Rezidüel tümör, nodal / hematojen yayılım yok

#### **Evre III: rezidüel tümör / batına sınırlı non hematojen metastaz**

- Abdominal nod tutulumu
- Peritonda kontaminasyon / tümör implantları
- Batında rezidüel tümör
- Rezeksiyon sınırlarında tümör

#### **Evre IV: hematojen metastaz / batın dışı yayılım**

#### **Evre V: bilateral tümör**

(eğer mümkün ise ileri evrede olan tümöre göre alt evreleme yapılabilir.)  
(ör/evre V, alt evre I)

Renal sinüs ve kapsül evrelemede kullanılmaları bakımından önemlidirler.

**Renal Sinüs:** Böbreğin medial yüzünde major damar yapılarını ve pelvikalisiyel sistemi içeren konkav bölgedir. Tümör hücrelerinin renal parenkimden metastatik bölgelere göçünde önemli bir yol oluşturur. Bu nedenle tüm tümör nefrektomileri dikkat ile incelenmelidir. Renal sinüste bulunan korteks kısmı kapsül içermez. Hiler düzlem, önceki NWTS uygulamalarında Evre I ile II'yi ayıran major öge iken böbreğin medial alt ve üst kutuplarını birleştiren, herhangi bir belirleyici anatomik yapı içermeyen rastgele bir bölge olması nedeni ile NWTS-5'te evrelemeden çıkartılmıştır. Renal sinüs invazyonu, bu bölgede bulunan ven veya lenfatikler içerisinde tümör varlığı ile değerlendirilir. Tümör hücrelerinin damar duvarına tutunması kesin kriterdir. Lümeninde boşlukta duran hücreler konma artefaktını düşündürmelidir. Sinüsteki pelvikalisiyel sistemde duvar veya lümen tutulumunu içeren yumuşak doku infiltrasyonu evre I olarak kabul edilir (1).

**Kapsül:** Evrelemede renal kapsül (tümör kapsülü değil) önemlidir. Birkaç tabakanın birleşmesi ile oluşur:

- ⇒ İntrarenal psödokapsül (renal parenkim içerisindeki komprese veya reaktif bağ dokusu)
- ⇒ Renal kapsül
- ⇒ Perirenal psödokapsül (perirenal yağ dokusunda komprese veya reaktif bağ dokusu)
- ⇒ Perirenal fasya (Gerota fasyası)

Bazı tümörler peritümöral granülasyon dokusu içermektedirler. İnflamatuvar psödokapsül çevre dokulara yapışıklıklara neden olarak tümör invazyonunu taklit eder. Perirenal hemoraji, tümör nekrozu, piyelonefrit veya preoperatif tümör rüptürü sonucu gelişebilir (1).

Evre I ve Evre II tümörler vakaların büyük çoğunluğunu oluştururlar (Tablo-4) (13).

**Tablo 4- Evrelerin sıklıkları**

	SIKLIK (%)
EVRE I VE II	60
EVRE III	20-25
EVRE IV	10-15
EVRE V	5

## **TEDAVİ**

Türkiye’de Pediatrik Onkoloji Çalışma Grubu tarafından dünya literatürleri ışığında hazırlanan WT Çalışma Protokolü’ne (1998) göre WT’nin tedavisi nefrektomiye aşağıdaki tedavi modalitelerinin eklenmesi şeklinde yapılmaktadır (42):

**Tablo 5- Evrelere göre tedavi protokolleri**

Evre I FH/UH Evre II FH	KT (Vinkristin + Aktinomisin-D)
Evre II (tru-cut biopsili) FH	KT (Vinkristin + Aktinomisin-D) + RT
Evre III FH	KT (Vinkristin + Aktinomisin-D + Adriamisin) + RT
Evre IV FH	KT (Vinkristin + Aktinomisin-D + Adriamisin) + RT (metastaz bölgelerine göre)
Evre II- IV UH	KT (Vinkristin + Aktinomisin-D + Adriamisin + VP16) + RT

FH: uygun histolojili, UH: uygun olmayan histolojili, KT: kemoterapi, RT: radyoterapi

## **PROGNOZ**

Cerrahi ve anestetik yöntemlerin geliştirilmesi ve bunların radyoterapi ve kemoterapi ile birleştirilmesi Wilms tümöründe 1915'te %10 olan kür şansını 1985'te %90'a ulaştırmıştır (8, 38, 43). Günümüze kadar yapılan NWTS çalışmalarında başlangıçta prognostik olarak anlam taşıyan bazı parametrelerin önemini kaybetmesi, daha agresif tedavi edici ajanların kullanılması ile açıklanabilir (44).

Prognozu kötü yönde etkileyen en anlamlı faktörler şöyle sıralanabilir (2):

1. Başvuru sırasında hastanın iki yaşın üstünde olması
2. İleri evre
3. Uygun olmayan histoloji

### **Yaş**

NWTS-1'e (45, 46) göre iki yaş altında olmak uygun histolojili grup ile sınırlandırılmış iken, Breslow ve ark.'nın (11) NWTS-2 kapsamında vardıkları sonuç küçük yaştaki çocukların tümörlerinin daha iyi seyirli olmalarının yaşın diğer anlamlı prognostik değişkenler (intrarenal damar invazyonu, renal vende tümör trombüsü varlığı, operasyon sırasında tümörün hasarlanması) ile olan ilişkisine bağlı olduğudur. Bu iki çalışmanın sonuçlarının çelişmesinin, NWTS-2'de hem uygun histolojili hem de uygun olmayan histolojili grupların birlikte değerlendirilmeye alınmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (10). NWTS-3'e göre relaps ve ölüm oranları yaş ve evre ile birlikte artış göstermektedir. Ayrıca yaş ve evre de birbirleri ile ilişkili bulunmuştur. Ancak bu sonucun yaşın prognoz üzerine olan etkisini açıklamadığı belirtilmektedir. Şöyle ki abdominal rekürrens oranının her evrede kendi içinde yaş ile artış gösterdiği saptanmıştır (10).

NWTS-3'te NWTS-2 ile çelişen diğer bir sonuç NWTS-3'te NWTS-2'nin aksine **tümör boyutunun** da relaps ve ölüm ile ilişkili bulunmasıdır. Çalışmacılar yine de yaş ve tümör boyutunun riski direkt olarak arttırdığını söylemenin zor olduğu kanısındadırlar. Gerçek prognostik faktörlerin tümör hücrelerinin agresifliği, tanı konmadan önce gelişmiş mikrometastazlar ve batında rezeke edilmemiş tümör varlığı olduğunu ve ileri yaşta tanı konulmasının tümörün yayılmasına yol açabilecek bir tanı gecikmesi nedeni ile olabileceğini düşünmektedirler. Özet olarak NWTS-3'te yaş ve tümör boyutunun evre ile birlikte hastaların alt gruplarını oluşturmada kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (10).

Green ve ark. (12) Evre I uygun histolojili vakaları, Weeks ve ark 'nın (47) çalışmalarına benzer şekilde alt gruplara ayırarak prognoz açısından incelemişlerdir. Alt gruplama yaparken kullanılan parametrelerin (inflamatuar psödokapsül, renal sinüs invazyonu, tümör kapsülü invazyonu ve intrarenal damar invazyonu) iki yaş altında ve 550 g'dan hafif tümörlerde azalmış sıklıkta görülmesini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ( $p<0,05$ ). NWTS-1 ile sonraki çalışmaların yaşın prognoza olan etkisi bakımından çelişmesi NWTS-2 ve NWTS-3'te tedavi protokollerinin agresif kemoterapi içermesidir - ki bu sayede ileri yaştaki hastaların relapsız yaşam süreleri uzamıştır.

Breslow ve ark. (9) metastazın hasta yaşı ile korele olduğunu belirlemişlerdir. Vakaların bir yaşın altında olanlarında metastaz görülme sıklığı %1 iken, altı yaş ve üstündekilerde %24 olarak saptanmıştır.

## Evre

NWTS-3'ün sonuçlarına göre evrelere göre sağkalım oranları Tablo-6'da gösterilmiştir (8). Evre V tümörlerde ise üç yıllık sağkalım %76 oranındadır (10).

**Tablo 6- Evrelere göre dört yıllık sağkalım oranları**

	4 yıllık sağkalım (%)
Evre I	96,5
Evre II	92,2
Evre III	86,9
Evre IV	73

Weeks ve ark. (47) yaptıkları çalışmada Evre I uygun histolojili vakaları kendi içlerinde ikinci bir evreleme yaparak değerlendirmenin relaps açısından anlamlı olduğu sonucuna varmışlardır. Çalışmalarında değerlendirmeye aldıkları parametreler şunlardır: **1. Tümör kapsül invazyonu 2. İnflamatuvar psödokapsül varlığı 3. Renal sinüs invazyonu 4. İntrarenal damarlarda tümör varlığı.** Bunlar içinde **inflamatuvar psödokapsül varlığı** en anlamlı bulunan parametredir. Aynı çalışmada Evre I vakalarda histolojik komponentler, sitolojik atipi ve mitotik aktivite relaps ile anlamlı ilişkili bulunmamıştır. Yaş ve tümör boyutu da prognoz ile ilişkisiz saptanmıştır.

## Anaplazi

Faria ve ark. (4) anaplazinin varlığından ziyade dağılımının kötü prognozdan sorumlu olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu çalışma kapsamındaki sekiz vaka Evre IV/uygun histolojili grupta yer almakta olup nüks etmemişlerdir. Bu vakaların metastatik ve rezidü tümör alanlarında tedaviye yanıtı hücreler içermesi ve dirençli hücrelerin böbrekte sınırlı olması muhtemeldir. Sonuç olarak anaplastik evrenin tümör evresinden daha yüksek prognostik anlam taşıdığı düşünülmüştür. Bu nedenle fokal ve diffüz anaplazi ayırımının yapılmasının prognoz ve tedavi açısından önemli olduğu sonucuna varmışlardır.

Anaplazi NWTs kapsamındaki vakalar içinde %4,5 oranında görülür. Anaplazi iki yaşın altındaki hastalarda %2 oranında görülürken bu oran yaş arttıkça artarak, altı yaşında %15'e ulaşır. Anaplazi yedi yaş üzerinde ise %12 oranında görülür (18).

NWTs-1 ve NWTs-2'de anaplazi içeren olguların tedaviye cevabının içermeyenlere göre düşük olduğu belirlenmiştir. Anaplazili vakalarda relaps ve hastalığa bağlı ölüm oranları oldukça yüksektir (5, 40). Anaplazi metastaz içeren ve metastaz içermeyen olguların hepsinde anlamlı bir prognostik parametredir. Anaplazik hücreler, tümörün agresifliğinden çok tedaviye direncini arttırırlar (2, 3). Buna göre prognoz anaplazik hücrelerin tamamen rezeke edilip edilmediğine bağlı olduğu sonucuna varılabilir. Eğer rezistan hücreler, rezeke edilen primer tümörde varsa ancak böbrek dışı yayılma yerlerinde ve metastazlarda yoksa prognoz anaplazi içermeyen olgular ile aynı olmalıdır. Aynı mantıkla Evre I tümörlerde anaplazi odağı aramanın prognostik önemi olmadığı sonucu ortaya çıkar (2, 18).

## ÇALIŞMADA KULLANILAN BELİRLEYİCİLER HAKKINDA

### GENEL BİLGİLER

#### p 53

Kanserler üzerinde yapılan araştırmalarda p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalize (17p13) en iyi bilinen ve en çok çalışılan tümör süpresör genidir (48, 49, 50).

p53 geni 393 aminoasitlik bir proteindir. Fosforilasyona uğradığında stabilize olarak diğer genler üzerine transkripsiyon faktörü gibi etki ederek protein sentezini artırır. Bu da hücre çoğalmasına yol açar (51, 52). Aminoasit içeriğindeki değişiklik wild-type p53'ten iki kat daha uzun yarılanma süresine sahip olan mutant p53'ün oluşumuna yol açar (48).

Kolon (53), meme (54, 55, 56) ve akciğer kanserleri (50, 57) gibi çeşitli malignitelerde oldukça geniş bir alanda saptanmışsa da çocukluk çağı malign solid tümörlerinde genellikle nadirdir (58). Az sayıda yapılan çalışmada p53'ün Wilms tümörü patogenezinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (19, 59). p53'ün immünohistokimyasal yöntem ile saptanması sadece altta yatan bir mutasyonun habercisi değildir. Mutasyonlar dışında wild-type p53 proteininin birikmesine yol açan başka mekanizmalar da bulunmaktadır (48, 60). Bazı çalışmacılar immünohistokimyasal yöntem ile p53 proteini saptanan WT'lerin çoğunda mutasyon belirlememişlerdir. Bunu da mutasyonun henüz incelenmemiş bölgelerde olabileceğine veya tümörün wild-type p53'ü aşırı ekspresyonuna bağlamaktadırlar (61, 62). Mutant p53'ün anaplazik Wilms tümörü ile ilişkili olmadığını bildiren yayınlar da vardır (60).

Anaplazi ile p53 ekspresyonu arasında belirgin korelasyon bulunduğunu bildiren yayınlar vardır. Bu bilginin pratik hayatta değerli olabileceği düşünülmektedir. Şöyle ki; eğer tümör p53 ile yüksek immünreaktivite gösteriyor, ancak anaplazi içermiyor ise

örneklemenin yeterli olmadığı, materyalin tekrar dikkatle incelenmesi gerektiği ileri sürülmektedir. p53'ün hem tanı hem tedavide yardımcı bir belirleyici olduğu, ayrıca WT'de kötü prognozun bir göstergesi olarak kabul edilebileceği bildirilmektedir (48).

Wilms tümörlü vakalarda p53 geni fonksiyon bozukluğunun metastaz ve rekürrens açısından yüksek risk taşıdığını (49, 61) ve kötü prognoz (48, 51) ve anaplazi (62) ile ilişkili olduğunu bildiren, büyük bir kısmında immünohistokimya kullanılmış çalışmalar literatürde yer almaktadır.

Bir çalışmada anti-p53 antikorunun değişik klonlarının Wilms tümöründe farklı komponentlerde immünreaktivite gösterdiği bildirilmektedir. Örneğin AB565 klonu stromal, DO7 klonu blastemal komponentte belirgin pozitifdir. Ayrıca aynı çalışmada uygun histolojili vakalarda p53 ekspresyonunun sürvi ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (62).

Agresif seyreden uygun histolojili tümörlerin bir kısmında p53 tümör süpresyon disfonksiyonunun tümör büyümesi ve metastaz gibi anjiogeneze bağımlı tümör davranışlarının hızlanmasına neden olduğu öne sürülmektedir (63).

## **CD34 ve VEGF (Anjiogenez)**

Anjiogenez dokudaki mevcut damar yatağından yeni damarların oluşumu ile sonuçlanan, tümör hücrelerinden, tümör ile ilişkili inflamatuvar hücrelerden ve/veya ekstrasellüler matriksten salınan anjiogenik sitokinler, proteolitik enzimler ve migratuvar faktörlerin devreye girdiği kompleks bir mekanizmadır (64, 65, 66, 67).

Eksize edilen tümör dokusunda kan damarlarının sayılması (mikrodamar yoğunluğu, MDY) tümör anjiogenezinin en sık kullanılan ölçüm yöntemidir. Damarlar anti-CD34, anti-CD31 veya anti-von Willebrand faktör ile işaretlenerek sayma işlemi gerçekleştirilir.

Yeni kapillerler düz kas içermeyen küçük venüllerden gelişir. Anjiogenik uyarının varlığında (küçük bir tümör odağı gibi) venülün içindeki endotel hücreleri vasküler bazal membranı hasara uğratarak damar duvarından dışarı çıkarlar. Anjiogenik uyarıya doğru endotel hücreleri lineer dizilim göstererek ilerler ve kapiller tomurcuklar oluştururlar. Daha sonra tomurcuğun içinde lümen oluşur. Endotel hücreleri prolifer olmaya devam ederler ve tomurcuklar birbirleri ile birleşerek kan akımına yol açarlar. Son olarak da bazal membran oluşarak yeni damar oluşumu tamamlanır (68, 70)

Anjiogenez tümör büyümesi ve metastazı için gereklidir. Bu bilginin ışığında tümörlerde antianjiogenik tedavi üzerine çalışmalar yapılmıştır (69, 71). Anjiogenik indeksin yüksek olmasının metastaz olasılığını artırması dolaşıma geçen anjiogenik hücrelerin çok sayıda olmasına bağlanmaktadır. Tümör tedavi modalitelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar en spesifik tedavinin bulunmasını amaçlamaktadır (72).

Wilms tümöründe (67), endometrial karsinomda (66), mide karsinomunda (73) ve özofagusun skuamöz hücreli karsinomunda (74, 75) neovaskülarizasyon prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Mide karsinomlarında mikrodamar yoğunluğunun diferansiyon azaldıkça arttığı belirlenmiştir (76).

Neovaskularizasyonun tümör tarafından indüklenmesinden sorumlu bazik ve asidik fibroblast büyüme faktörü, anjiogenin, transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) ve vascular endothelial growth factor (VEGF) gibi çok sayıda anjiogenik sitokin belirlenmiştir (67, 77). Bunlardan biri olan VEGF heparine bağlanan 45000 moleküler kütleyle sahip dimerik bir proteindir. Küçük ve büyük damarlardan izole edilmiş vasküler endotel hücreleri için mitojenik potansiyel taşır (78). VEGF tarafından indüklenen neovaskularizasyon sırasında oluşan damarların, kaynak aldıkları damarlara göre permeabiliteyi artıracak biçimde daha geniş porlar içerdiği gösterilmiştir (79). Vasküler endotel, VEGF'in major hedefidir. Hücre membranındaki reseptörlere bağlandığında hücre içine sinyal göndererek endotel hücre proliferasyonunu artırır (80). Yapılan bir hayvan çalışmasında tümöre bağlı asit geliştirilen hayvanların periton kavitelerini döşeyen damarların aşırı geçirgen oldukları belirlenmiştir. Bunun tümör hücreleri tarafından salınan bir vasküler permeabilite faktörüne bağlı olduğu düşünülmüştür (81). Over tümörlerinde artmış VEGF ekspresyonunun erken evre tümörlerde kötü prognoz habercisi olduğu belirtilmektedir (82).

Romatoid artritli hastalarda sinovyal makrofaj benzeri iğsi hücreler tarafından VEGF'in eksprese edildiği ve bu hastalarda sinovyal anjiogenezde VEGF'in rol oynadığı bildirilmiştir (83).

Vertikal büyüme fazındaki 202 malign melanom vakasında VEGF ve MDY, derinliği 3,55 mm ve 3,55 mm'den küçük tümörlerde birbirleri ile ilişkili bulunmuştur. Tümör hücrelerindeki artmış VEGF ekspresyonu ince ve az vaskularize tümörlerde anlamlı olarak yüksek oranda saptanmıştır. Vaskularizasyonu az olan melanomlarda anjiogenezden sadece VEGF sorumlu iken damardan zengin olanlarında ise multipl anjiogenik faktörlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (84).

Kim ve ark. (69) nöroblastom ve Wilms tümörü ile ilgili yaptıkları bir hayvan çalışmasının sonucunda tümörlerde anjiogenik regülasyonun farklı olabileceğini ve aynı antianjiogenik ajanın aynı etkiyi göstermeyebileceği kanısına varmışlardır.

Başka bir çalışmada VEGF Wilms tümöründe anjiogenezden sorumlu faktör olarak belirlenmiştir (85). Wilms tümöründe anjiogenezi uyaran VEGF aynı zamanda tümör büyümesi ve metastaz ile anlamlı ilişkili olarak bulunmuştur (86). Yapılan bir çalışmada nefrojenik kalıntılarda da VEGF ekspresyonu varlığının saptanması anjiogenezin erken başlayan bir olay olduğunu düşündürmüştür (87).

## **TELOMERAZ**

Telomerler, ökaryotik hücrelerde lineer kromozomların son kısımlarında bulunan özelleşmiş DNA protein kompleksleridir. Kromozomun 3' ucuna doğru yerleşmiş tekrarlayan TTAGGG dizilerinden oluşurlar (88, 89). Telomerlerin total uzunlukları 10-15 kilobase arasında değişir (90).

Telomerlerin DNA replikasyonu sırasında kromozomal uçlarında oluşan kayıpların önlenmesinden, sürekli kromozom rekombinasyonunun engellenmesi ve mitoz, (pre)mayoz sırasında kromozomların ayrılması ve nükleer matrikse tutunmalarının sağlanmasına kadar değişen çeşitli fonksiyonları vardır. Telomer fonksiyonları arasında en önemli nokta replikasyonda oluşan uç kayıpların düzeltilmesi için yapısal baz sağlanması ve hücrelerin DNA'da meydana gelen kırılma noktaları ile doğal kromozom uçlarını tanımlarının sağlanmasıdır (91).

Telomeraz (telomer terminal transferaz enzim), telomer sentezinden sorumlu ribonükleoprotein yapısında ileri derecede özelleşmiş bir enzimdir (92). Kromozomal DNA replikasyonu sırasında yeni oluşan komplementer DNA zincirinin 5' uçlarında oluşan kayıpları kompanse etmek için hegzomerik TTAGGG nükleotidi ekleyen

ribonükleoprotein yapısında enzimdir. Somatik hücrelerin çoğunluğunda telomeraz inaktiftir. Bu hücrelerde kromozom uçlarındaki telomer uzunlukları kritik bir düzeye indiğinde hücre bölünmesi durur. Deri hücreleri, intestinal kriptaları döşeyen hücreler, germ hücreleri, lenfoid hücreler gibi aşırı proliferatif hücrelerde telomeraz aktivitesi mevcuttur (89, 93).

İnsan telomerazı kromozom 3q26,3'de bulunan RNA zinciri ve en az bir katalitik protein komponenti içeren, telomerik bölgenin ve protein subünitlerinin sentezinden sorumlu insan telomeraz RNA komponenti (hTERC) ve kromozom 5p15,33'de bulunan katalitik aktivite sağlayan özelleşmiş insan telomeraz revers transkriptaz (hTERT) olmak üzere iki ana komponentten oluşur (94, 95). Son yıllardaki çalışmalar bu komponentlerden hTERT'nin insan telomeraz aktivitesinin major belirleyicisi olduğunu göstermiştir (94, 95, 96).

Telomerazın varlığı ile hücrelerin ölümsüzlük kazanması ve çoğu malign tümörde az sayıda da olsa ölümsüz hücre varlığından yola çıkılarak çeşitli normal, benign, premalign ve malign doku örneklerinde telomeraz aktivitesi araştırılmıştır. Bu konuda yapılmış çalışmaların büyük çoğunluğunda PCR-tabanlı telomeric repeat amplification (TRAP) yöntemi kullanılarak telomeraz aktivitesi araştırılmıştır. TRAP ile tümöral dokularda telomeraz aktivitesi varlığı belirlenirken nonneoplastik dokularda telomeraz aktivitesi ya hiç saptanmamış ya da oldukça düşük oranlarda bulunmuştur. Telomeraz aktivitesinin tespit edildiği maligniteler arasında nöroblastom, akciğer karsinomu (özellikle küçük hücreli akciğer karsinomu), malign mezotelyoma, meme karsinomu, mesane karsinomu, pankreas tümörleri sayılabilir (95, 97-105).

Oh ve ark.'nın (106) yaptıkları bir çalışmada WT-1 tümör süpresör geni ekspresyonunun hTERT geninin transkripsiyonunu baskıladığı saptanmıştır. Bu bilginin ışığında çalışmacılar telomeraz aktivitesi içeren pek çok tümörde anti-telomeraz ajanların tedavide kullanılması ile hücrelerin ölümsüzlüğünün ortadan kaldırılabilceği görüşünü savunmaktadırlar.

Uygun histolojili Wilms tümörü vakalarında yapılan bir çalışmada hTERT mRNA düzeylerinin rekürrens ile korele olduğu gösterilmiştir (107).



## MATERYAL – METOD

### Vaka Gruplarının Belirlenmesi

İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın arşiv kayıtları incelenerek 1984-2002 yılları arasında Wilms tümörü tanısı almış, biri erişkin olmak üzere 122 vaka tespit edildi. Vakalara ait daha önce incelenmiş Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyalı preparatlar arşivden çıkarıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme yapabilmek amacı ile uygun olan bloklar seçildi. Değişik nedenlerle vakaların 75'ine ait parafin bloğa ulaşılabildi. İmmünohistokimyasal inceleme yapılan vakalar içinden bir teratoid Wilms tümörü ve iki kistik parsiyel diferansiye nefroblastom vakası, alt tip olmaları nedeni ile ayrı olarak değerlendirildi. Ayrıca primer tümörüne ulaşılamayan metastaz ve lokal nüks materyaline ait beş vaka ve inoperabl bir vakaya ait biopsi materyali oluşturacak grubun homojenizasyonunu bozacağından genel gruba katılmadı. Çocukluk çağı yaş grubunda yer almaması nedeni ile 21 yaşındaki bir kadın hasta istatistiksel değerlendirme yapılacak vaka grubuna dahil edilmedi.

Vakaların yaş, cinsiyet, tümör boyutu, ağırlık, tümör tarafı, histolojik tip, evre ve anaplazi varlığı gibi parametrelere ait bilgilerine hastalara ait patoloji raporlarından ulaşıldı. Hasta yaşı, tümör boyutu ve materyalin ağırlığı gibi sayısal değerler içeren parametreler değerlendirilirken, grupların median değerleri dikkate alınarak, bu değerler altında ve üzerinde olmak üzere ikişer alt gruba ayırmak suretiyle istatistiksel çalışma yapıldı.

Makroskopik incelemede kullanılan, kesit alınan bölgelerin kodlanması esasına dayanan haritalama metodunun 1995 yılından bu yana dünyada ve ülkemizde uygulanır olması ve vaka serimizin 1984-2002 yılları arasını kapsamaması nedeni ile tekrar değerlendirme imkanı bulunmamasından, ayrıca fokal ve diffüz anaplazi terimlerinin yine 1995 yılı itibarı ile değişmiş olmasının raporlardaki fokal ve diffüz anaplazi tanımlarının güvenilirliğini ortadan kaldırmasından yola çıkarak, vakalar fokal ve diffüz anaplazi açısından gruplandırılmadı.

Mikroskopik değerlendirmede tümörler içerdikleri morfolojik paternlere göre mikst tip (klasik trifazik tip), blastemal baskın ve epitelyal baskın tip olmak üzere üç alt gruba ayrıldı. Epitelyal baskın tipte vakaların sayısının istatistiksel değerlendirme için yetersiz olması nedeni ile histolojik tip ile yapılan istatistiksel değerlendirme sadece mikst ve blastemal baskın tipler arasında gerçekleştirilebildi.

Evre IV ve V grubunda yer alan vaka sayısının az olmasının yapılacak istatistiksel değerlendirmeyi güçleştirilmesi nedeni ile Evre I ve II vakalar erken evre tümörler, Evre III, IV ve V vakalar ise ileri evre tümörler olarak gruplandırılarak istatistiksel değerlendirmeye alındılar.

Vakaların İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı arşivlerinden klinik dosyaları incelenerek takip süreleri ve bu süre içindeki sağkalımları araştırıldı. Tüm vakaların 42'sinin dosyasına ulaşılabildi. Bunlardan 21'ini bloklarına ulaşılabilen ve immünohistokimyasal çalışma yapılan vakalar oluşturmaktaydı. Klinik takibi bilinen kistik parsiyel diferansiye nefroblastom tanısı almış iki vaka ise ayrı bir alt tip olduğundan anaplazi ve sağkalım açısından istatistiksel değerlendirilmeye alınmadı.

## İmmünohistokimyasal Yöntem

- Seçilen parafin bloklardan kaplama maddesi (Novocastra Lab., Novobond Slide Tissue Adhesive, NCL-BOND, Newcastle, UK, Batch: 702407) ile kaplı lamlara 3-5 mikron kalınlığında kesitler alındı.
- Kesitler bir gece etüvde 35°C'de kurutuldu.
- Deparafinizasyon işlemi ksilolde 30 dk devam etti.
- Konsantrasyonu giderek azalan etanol serisinden geçirilerek distile suya getirilen kesitler hidrate edildi.
- Plastik taşıyıcılara yerleştirilen kesitler (anti-VEGF antikoru hariç) düdüklü tencere içinde kaynamakta olan pH 6,0 sitrat buffer (0,01 M sodyum sitrat) solüsyonu içine konuldu, kapak kapatıldı. Basınç valvi açık bırakılarak valvden su buharı çıkıncaya kadar ısıtılmaya devam edildi. Daha sonra valv kapatılarak yaklaşık 2 atm basınç altında ısıtma işlevi 2 dk daha sürdürüldü. Isıtma işlevine son verildikten sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletilip basıncın düşmesinden sonra kapak açıldı.
- Anti-VEGF antikoru çalışılacak lamlar ise pH 8,0 EDTA (etilen diamin tetraasetik asit) (Lab Vision Corp., EDTA Buffer (x10), Fremont CA, USA. Cat no: AP-9004-500, 1/10 dilüsyon oranında) solüsyonu içinde 3 kere 5'er dk süre ile mikrodalga fırında ısıtıldı. Daha sonra 20 dk kadar oda sıcaklığında tutuldu.
- Antijen retrieval işlemi bittikten sonra sitrat buffer ve EDTA buffer içinde bulunan kesitler distile suya alındı. Dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizilerek kesitler PBS (phosphate buffered saline, pH 7,4) ile yıkandı.
- Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için, kesitler üzerine %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 20 dk beklendi.

- Kesitler tekrar PBS ile yıkanıp nonspesifik bağlanmaları engellemeye yönelik 15 dk blokaj (Lab Vision Corp. Large Volume Ultra V Block, Fremont CA, USA. Cat no: TA-125-UB) uygulandı.
- PBS ile yıkanan kesitler monoklonal mouse anti-p53 Ab-8 (NeoMarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-738-P1, Clone DO-7 + BP53-12, 1/100 dilüsyon oranında, 60 dk), monoklonal mouse anti-CD34 Ab-1 (NeoMarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-363-P1, Clone QBEnd/10, 1/200 dilüsyon oranında, 60 dk), monoklonal mouse anti-VEGF Ab-7 (NeoMarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-1467-P1, Clone VG1, 1/50 dilüsyon oranında, 60 dk) ve monoklonal mouse anti-telomerase (catalytic unit) (Novocastra, Newcastle, UK. Cat no: NCL-hTERT, Clone 44F12, 1/25 dilüsyon oranında, 120 dk) antikoru ile inkübe edildi. Kullanılan antikolar ve kullanım özellikleri Tablo-7'de özetlenmiştir.
- Tekrar PBS ile yıkanan kesitler üzerine 20 dk süre ile sekonder antikolar (Lab Vision Corp. Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, Fremont CA, USA. Cat no: TP-125-BN) uygulandı.
- Ardından kesitler tekrar PBS ile yıkanıp işaret (label) olarak streptavidin-HRP çözültisi (Lab Vision Corp. Large Volume Streptavidin Peroxidase, Fremont CA, USA. Cat no: TS-125-HR) damlatılarak 20 dk beklendi.
- PBS ile yıkanan kesitler üzerine immün reaksiyonu gözlemlemek için AEC kromojen sistemi (Lab Vision Corp. Large Volume AEC Substrate System, Fremont CA, USA. Cat no: TA-125-HAS) kullanıldı. 20 mikrolitre AEC kromojen 1 ml AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra derhal kesitlere uygulandı ve 15 dk süre ile inkübe edildi.
- Daha sonra kesitler distile suda yıkanıp, zıt boya olarak 10 dk süre ile Mayer Hematoksilen ile boyandı.

- Suda eriyebilen kapatma maddesi (Lab Vision Corp. Large Volume Ultramount, Fremont CA, USA. Cat no: TA-125-UM) damlatılarak kesitler kapatıldı.
- Tüm işlemler oda sıcaklığında yapıldı.
- Pozitif kontrol olarak anti-p53 antikoru için kolon karsinomu, anti-CD34 antikoru için tümör çevresi böbrek dokusu, anti-VEGF antikoru için anjiosarkom ve anti-telomeraz antikoru için de tonsil dokusu kullanıldı.
- Negatif kontrol olarak her bir blok için hazırlanan kesitlere yukarıda tanımlanan yöntemler uygulandı. Yalnızca primer antikor yerine non-immün mouse serumu kullanıldı.

**Tablo 7- Kullanılan monoklonal antikorların özellikleri**

	<b>Kaynak</b>	<b>Klon</b>	<b>Dilüsyon</b>	<b>İnkübasyon</b>
<b>P53</b>	Neomarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-738-P1	DO-7 + BP53-12	1/100	60 dk
<b>CD34</b>	Neomarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-363-P1	QBEnd/10	1/200	60 dk
<b>VEGF</b>	Neomarkers, Fremont CA, USA. Cat no: MS-1467-P1	VG1	1/50	60 dk
<b>Telomeraz katalitik ünite</b>	Novocastra, Newcastle, UK. Cat no: NCL-htert	44F12	1/25	120 dk

## İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi

Bütün incelemelerde X4, X10, X20, X40, X100 achrometrik objektifler, ve 10X/20L okülerler içeren Olympus BH-2 model ışık mikroskobu kullanıldı.

P53: anti-p53 antikoru ile nükleer boyanma pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi. Tümörlerde oldukça değişken boyanma paterni görüldü. Boyanma % oranlarının median değeri 10 olarak saptandığından kesitlerin %10'u ve %10'undan daha yaygın olan orta ve kuvvetli derecedeki boyanmalar pozitif kabul edildi. Hiç boyanma görülmeyen ve %10'un altındaki her şiddetten boyanma görülen vakalar ise negatif kategorisine alındı.

CD34 – Mikrodamar yoğunluğu (MDY): Kesitlerin tamamı X40 ve X100 büyütme ile taranıp en fazla mikrovasküler yapı içeren alanlar (hot spot) belirlendi. Bu alanlarda bulunan damarlar X200 büyütmede 5 alanda sayıldı. Sadece bir vakada muhtemel çapraz reaksiyona bağlı nonspesifik boyanmaların görülmesi nedeni ile sayım yapılamadı. Sayım yapılırken lümen varlığına bakılmaksızın pozitif boyanma gösteren hücreler ve hücre toplulukları değerlendirildi. Sayım yapılan alan (X20 objektif + X10 oküler = X200) 0,09 mm<sup>2</sup>'ye eşittir. Toplam 5 alan sayıldığına göre değerlendirme 0,45 mm<sup>2</sup>'ye eşit bir alanda yapıldı. Sayımın ardından her alanın sayım sonucu toplanarak alan başına düşen vasküler yapı sayısı olan ortalama değer (MDY) alındı. Ayrıca her vaka için en yüksek sayımın yapıldığı alan maksimum değer (MDY<sub>max</sub>) olarak belirlendi.

Vasküler endotelyal growth factor (VEGF): Anti-VEGF antikoru ile sitoplazmik boyanma pozitif reaksiyon olarak kabul edildi. Bunun dışındaki boyanma şekilleri negatif olarak değerlendirildi. Her şiddetten boyanma görüldüğü için boyanma şiddeti değerlendirmeye alınmadı. Boyanma % oranlarının median değeri 75 olarak saptandığından kesitlerin %75'inden daha yaygın olan her şiddetten boyanma pozitif, %75 ve %75'inden daha az bir kısmını kapsayan zayıf boyanmalar ise negatif olarak kabul edildi.

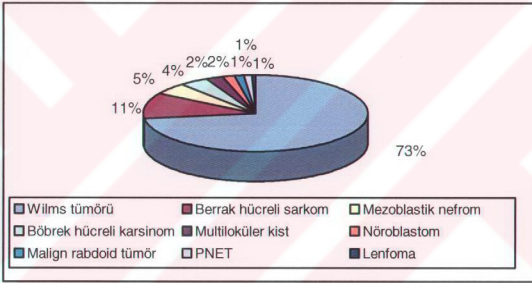
Telomeraz (Katalitik ünite): Telomeraz katalitik ünite ile nükleer boyanma pozitif reaksiyon olarak kabul edildi. Her şiddetten boyanma görüldüğü için boyanma şiddeti değerlendirilmeye alınmadı. Boyanma % oranlarının median değeri 50 olarak saptandığından kesitlerin %50'sinden daha geniş bir alanında görülen her şiddetten boyanma pozitif, %50 ve daha azındaki boyanmalar ise negatif olarak değerlendirildi.

### **İstatistiksel Yöntem**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel karşılaştırmalar ve sağkalım hızlarının hesapları için SPSS for Windows 7,5 istatistik paket programı kullanıldı. Gruplar arası dağılım farklılıkları Ki-kare testleri ile sınıandı. Sağkalım hızlarının hesabı Kaplan-Meier yöntemi uygulanarak belirlendi. Gruplar arası sağkalım hızlarının karşılaştırılması için Log rank yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal dört parametre arası korelasyonu değerlendirmede Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Anlamlılık için  $p=0,05$  sınır değer kabul edildi.

## BULGULAR

İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1984-2002 yılları arasında incelenen **166** çocukluk çağı böbrek tümörü vakasının **121**'ini (%72,90) **Wilms tümörü**, 18'ini (%10,84) berrak hücreli sarkom, 8'ini (%4,82) mezoblastik nefrom, 4'ünü (%2,41) multiloküler kist, 2'sini (%1,20) malign rabdoid tümör, 7'sini (%4,22) böbrek hücreli karsinom, 3'ünü (%1,81) nöroblastom, 2'sini (%1,20) PNET (primitif nöroektodermal tümör), 1'ini (%0,60) ise lenfoma oluşturmaktadır.



Şekil 1- Çocukluk çağı böbrek tümörü vakalarının dağılımı

Wilms tümürlü vakaların<sup>3</sup> yaşları 2 ay ile 180 ay (15 yaş) arasında değişmekte idi ve yaş ortalaması  $3,60 \pm 2,73$  yaş olarak saptandı. Hastaların %58,7'si 3 yaş ve altı grupta yer alırken %41,3'ü 3 yaş üzerinde idi. **Cinsiyet** dağılımları değerlendirildiğinde E:K oranı 1,1:1 olarak belirlendi.

<sup>3</sup> Wilms tümörleri 121 adet olup bunların 6'sı sadece lokal nükse veya metastaza ait materyallerden alınmış kesitlere ve 1'i ise ayrı bir alt tip olan teratoid WT'ye ait olduğundan, bu vakalar hariç tutularak sadece primer tümöre ait 114 operasyon materyali üzerinden oranlar verilmiştir.

İncelenen materyallerin 74'ü nefrektomi, 4'ü biopsi ve 19'u lam/blok konsültasyonundan oluşmakta idi. Vakaların 12'sinin ise raporlarına ulaşamadığı için materyalin cinsi, tümör çapı, operasyon materyalinin ağırlığı, tümörün evresi gibi çeşitli parametreler hakkında bilgilere ulaşamadı.

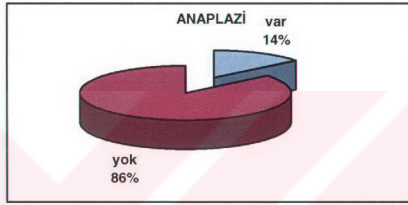
Tümörlerin 40'ı sol, 35'i sağ **taraf** yerleşimli iken 4 vaka bilateral yerleşimliydi. En küçük **tümör çapı** 3cm, en büyük tümör çapı 20 cm olarak ölçüldü. Ortalama tümör çapının ise  $11,74 \pm 4,26$  cm olduğu görüldü.

Ameliyat materyallerinin toplam **ağırlıkları** 80 g ile 5500 g arasında değişen değerlerde olmak üzere ortalama ağırlık değeri  $694,30 \pm 796,24$  g idi.

Tümörlerin **histopatolojik özelliklerine** bakıldığında 65 mikst (klasik trifazik) tip WT vakası %59,1'lik bir oranla en sık görülen alt tip olarak belirlendi. Bunu sırası ile 36 (%32,7) blastemal baskın tip ve 9 (%8,2) epitelyal baskın tip izledi. Genel istatistiksel değerlendirmeye ayrı bir alt tip olması nedeni ile dört kistik parsiyel diferansiye nefroblastom (KPDN) vakası dahil edilmedi. Bu vakaların üçü erken evre tümör oldukları halde birinin evre III tümör olarak prezante olduğu görüldü.

Vakaların geneline bakıldığında 52 (%70,3) vakanın **Evre I** ve **II** tümörlerden oluştuğu görüldü. En nadir görüleni ise 3 vaka (%4) ile **Evre V** idi.

Lam/blok konsültasyonu olarak Anabilim Dalı'mıza ulaşan 19 vaka makroskopik incelemelerinin başka bir merkezde yapılmış olması ve sadece birkaç adet lam veya bloğun Anabilim Dalı'mızda incelenebilmesi nedeni ile bu vakalarda anaplazi görülmemesi güvenilir kabul edilmedi ve bu vakalar istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmedi. Bu nedenle tümörlerin 91'inde **anaplazi** hakkında yorum yapılabildi. Anaplazi varlığı 13 vakada (%14,3) tespit edildi.



Şekil 2- Vakaların anaplazi dağılımı

Tüm vakalar içerisinde 42'sinin **klirik takibine** ulaşılabilir. Kistik parsiyel diferansiye nefroblastom tanısı almış iki vaka hariç tutulduğunda vakaların 33'ünün (%78) yaşamakta olduğu, 9'unun (%22) ise hastalık nedeni ile öldüğü öğrenildi. Hastaların 1 ay ile 157 ay arasında değişen ortalama  $71,90 \pm 46,93$  aylık takip süreleri olduğu belirlendi.

Erişkin vaka olması nedeni ile 21 yaşındaki bir kadın hasta istatistiksel çalışma grubunda yer almadı, ayrı olarak değerlendirildi. Erişkin Wilms tümörü vakası Evre II mezenkimal baskın tipte anaplazi içeren bir tümör olup p53 (%95) ve VEGF (%80) antikorları ile yüksek pozitif immünreaktivite göstermekte idi. Mikrodamar yoğunluğu 104, maksimum değeri ise 133 olarak belirlendi. Anti-telomeraz antikorları ise negatif idi. Erişkin WT'ye ait histopatolojik, klinik ve immünohistokimyasal bulgular Tablo-8'de özetlenmiştir.

Ayrı alt tip olmaları nedeni ile genel istatistiksel değerlendirmeye katılmayan immünohistokimyasal çalışma yapılan iki KPDN vakası ve bir teratoid WT vakası ile ilgili bulgular Tablo-8’de görülmektedir.

**İmmünohistokimyasal çalışma uygulanabilen** 75 hasta içerisinde homojenize bir grup elde etmek amacı ile primer tümöre ait **63 nefrektomi** materyali seçildi. Bu vakalara ait histopatolojik, klinik ve immünohistokimyasal bulgular Tablo-9’da özetlenmiştir. Bu 63 hastanın yaşları 2 ay ile 144 ay arasında değişmekte idi ve yaş ortalaması  $41,10 \pm 2,41$  ay olarak tespit edildi. 41 (%65,1) vakanın erkek, 22 (%34,9) vakanın kız olduğu görüldü. Tümör çapları 3 cm ile 20 cm arasında değişmekte idi ve ortalama tümör çapı  $11,95 \pm 4,27$  cm olarak saptandı. Tümör ile birlikte böbreğin toplam ağırlıklarına bakıldığında 120 g ile 5500 g arasında değiştikleri ve ortalamalarının  $753,46 \pm 876,78$  g olduğu görüldü. Histolojik tiplerin dağılımı vakaların 33’ünü (%52,4) mikst tip, 23’ünü (%36,5) blastemal baskın tip ve 7’sini (%11,1) ise epitelyal baskın tip oluşturacak şekilde idi. Anaplazi açısından vakaların dağılımına bakıldığında 63 vakanın 12’sinde (%19,0) anaplazi varlığı saptandı. Tümörlerinde anaplazi içeren hastaların hepsinin 2 yaş ve 2 yaşın üzerinde olduğu dikkati çekti. Anaplazi saptanan 12 vakanın sadece 4’ünde (%33,3) anti-p53 antikoru ile pozitif immünreaktivite belirlendi ( $p>0,05$ ). Bu gruptaki hastalarda histolojik tipler ve evreler açısından belirli bir tipin veya evrenin daha sık görüldüğüne dair bulgu saptanmadı. Anaplazili vakalarda evre ve histolojik tiplerin dağılımı oldukça heterojendi. İmmünohistokimyasal çalışma grubunda klinik takipleri bilinen 21 hastanın 14’ünün (%66,7) sağ olduğu, 7 hastanın (%33,3) ise hastalık nedeni ile öldüğü belirlendi. Vakaların 4 ay ile 157 ay arasında değişen, ortalama  $59,30 \pm 45,35$  ay takip süreleri vardı. Halen yaşamakta olan 14 hastanın 4’ünde (%28,6), ölen 7 hastanın 2’sinde (%28,6) anaplazi varlığı söz konusu idi ( $p>0,05$ ).

İmmünohistokimya uygulanabilen 75 vakalık grup içerisinde 63 primer nefrektomi, iki KPND vakası, bir erişkin WT vakası ve bir teratoid WT vakası çıkarıldığında geri kalan hastaları primer tümörüne ait parafin blokları elimizde bulunmayan dördü metastaz ve biri lokal nüks ve biri biopsi materyali olmak üzere 6 vaka ile iki kemoterapi sonrası nefrektomi materyali oluşturmaktadır. Bu vakalardan metastazlarında immünohistokimya çalışılan iki vakanın hem lokal nüks hem metastaz materyali çalışmaya katılmıştır. Geri kalan iki metastaz vakasından biri karaciğer metastazından biopsi, diğeri farklı zamanlarda rezeke edilen iki adet akciğer metastazına ait rezeksiyon materyalinden olmaktadır. Lokal nüks vakasının ise iki yıl arayla nüks etmiş bir hastaya ait iki adet operasyon materyali olduğu görüldü. Bu vakalara ait immünohistokimya sonuçları Tablo-10'da görülmektedir.

Çalışma grubu içerisinde immünohistokimya uygulanmayan 49 vakaya ait sonuçlar Tablo-11'de özetlenmiştir.

**Tablo 8- İmmünohistokimya çalışılan, ancak farklı olmaları nedeni ile ayrı değerlendirilen vakaların histopatolojik ve immünohistokimyasal bulguları**

Prot.No	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap(cm)	Ağrılık(g)	Hist.tip	Anaplazi	Evre	p53	p53 (%)	MDY	MDYmax	VEGF	VEGF (%)	TLM	TLM (%)
1	4199-85	21	K	sol	8			II	+	95	104	133	+	80	---	0
2	10044-87	5.5ay	E	sol	12	580	mezenkimal baskın var	I	+	10	177	286	+	95	---	0
3	6657-94**	4ay	E	sol	18		KPDN	I	+	10	44	64	+	90	+	30
4	23120-02**	1	K	sol	10	520	teratoid WT	V	--	0	148	201	---	0	+	90

Vakaların hakkında bilgiye ulaşılamayan parametrelerine ait kutucuklar boş bırakılmıştır.

(\*) 6657-94: Hastanın 90 aylık takip süresinin sonunda sağ olduğu öğrenildi.

(\*\*) 23120-02: Bilateral bir vaka olduğundan tabloya nefrektomi tarafına ait bulgular kaydedilmiştir. Vakanın biopsili tarafında p53 %3 (-), MDY=158, MDYmax=190, VEGF %10 (-) ve telomeraz aktivitesi %80 (+) olarak belirlenmiştir.

Tablo 9- Çocukluk çağı WT primer nefrektomilerinde histopatolojik, immünohistokimyasal ve klinik bulgular<sup>4</sup>

Prot. No	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap(cm)	Ağırlık(g)	Hist. tip	Anaplazi	Evre	p53	p53(%)	MDY	MDYmax	VEGF	VEGF(%)	TLM	TLM(%)	Sağkalım	Tabip(ay)
1	777-84	5	K	sağ	20	1560	bl.baskın	yok	III	---	82	94	---	0	---	0		
2	1869-84	6	K	sağ	14	500	bl.baskın	yok	II	---	218	242	---	0	---	0		
3	6922-84	4	K	sol	17	1900	bl.baskın	yok	II	+	47	907	---	20	---	0		
4	15584-84	2	E	sağ	14	5500	bl.baskın	yok	I	---	34	44	---	0	---	0		
5	7385-85	2	E	sağ	7	350	mikst	var	II	---	267	291	---	40	---	10	sağ	116
6	7775-85	5	E	sağ	20		mikst	yok	III	---	45	49	---	70	---	0		
7	3378-86	2	E	sağ			mikst	yok	+	10	80	127	+	80	+	90		
8	6892-86	3	E	sağ	12		bl.baskın	yok	---	0	93	161	+	90	---	0		
9	9669-86	1	E	sağ	13	420	bl.baskın	yok	III	---	54	86	---	0	---	0		
10	935-87	3	K		8		mikst	yok	IV	---	81	94	+	90	---	0		
11	6320-87	4	E	sol	16		bl.baskın	yok	---	4	42	79	---	10	---	0		
12	8809-87	2	K	sağ	14		mikst	yok	II	+	80	138	228	+	90	---	0	
13	317-88	2	E	sol	12	550	mikst	yok	III	+	10	57	90	---	5	---	40	
14	8206-88	8	E	sağ	11	280	ep.baskın	yok	I	---	45	63	---	0	---	0		

<sup>4</sup> Vakaların hakkında bilgiye ulaşılamayan parametrelerine ait kutucuklar boş bırakılmıştır.

K: kadın E: erkek

his: tip: histolojik tip, bl.baskın: blastemal baskın tip, ep. baskın: epitelial baskın tip

MDY: mikrodümler yoğunluğu

MDYmax.: mikrodümler yoğunluğu maksimum değeri

VEGF: vascular endothelial growth factor

TLM: telomeraz

tabip: takip süreleri

Prot. No	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap(cm)	Ağırlık(g)	His.tip	Anaplazı	Erre	p53	p53(%)	MDY	MDYmax	VEGF	VEGF(%)	TLM	TLM(%)	Söğkalım	Takip(ay)
15	1511-89	3	E	17	750	bl.baskm	yok	II	---	1	151	167	---	0	---	0		
16	5301-89	4	E	10		bl.baskm	var	III	---	0	87	103	+	95	---	0		
17	6885-89	3	E	sol	980	bl.baskm	var	II	+	15	98	108	---	0	---	0		
18	7519-89	2	E	sağ	500	mikst	yok	I	---	2	68	95	---	0	---	10		
19	8845-89	1	K	sağ	230	mikst	yok	I	---	0	77	87	+	90	---	0		
20	13276-89	2	E	sol	640	mikst	yok	I	---	0	110	146	---	10	---	0		
21	13936-89	5	K	sağ	150	bl.baskm	yok	IV	---	0	86	116	+	95	---	0	ölü	17
22	15429-89	2ay	K	sol	600	mikst	yok	I	+	10	48	62	---	0	---	0		
23	102-90	1	E	sol	950	bl.baskm	yok	I	---	0	37	48	---	10	---	0	sağ	157
24	1023-90					mikst	var	---	---	0	115	155	---	0	---	0		
25	1185-90					mikst	var	---	---	0	değerlendirilemedi		---	0	---	0	ölü	6
26	2377-90	7	E	sağ	800	ep.baskm	yok	I	+	10	50	67	---	0	---	0		
27	4471-91	5	K	sağ	550	bl.baskm	yok	II	---	0	50	71	---	0	---	0		
28	4910-91	1	E	sol	930	mikst	yok	I	---	0	97	110	---	0	---	0		
29	4879-92	6	K	sağ	320	mikst	var	IV	---	0	97	121	+	100	---	0		
30	15651-91	12	K	sağ	10	bl.baskm	yok	II	---	0	121	132	---	0	---	40		
31	1827-93	5	K	sol	18	bl.baskm	var	III	---	5	135	170	---	0	---	0	ölü	17
32	8183-93	5	E	sol	14	mikst	var	---	+	80	112	132	+	95	---	40	sağ	110
33	11606-93			9		ep.baskm	yok	II	+	80	69	96	+	95	---	0	sağ	113
34	18081-93	10ay	E	sol	900	bl.baskm	yok	III	---	0	128	130	---	70	---	30	sağ	77
35	16626-94	4	E	sol	20	mikst	yok	IV	---	0	23	33	---	0	---	0	sağ	95
36	23282-94	1,5	E	sağ	18	bl.baskm	yok	V	---	0	69	85	---	0	+	80	ölü	21

Prot. No	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap(cm)	Ağırlık(kg)	Hissip	Anaplazi	Evre	p53	p53(%)	MDY	MDYmax	VEGF	VEGF(%)	TLM	TLM(%)	Sıgınlık	Takip(ay)
37	6516-95	3	K	sag	14		yok		---	1	171	198	---	0	---	20		
38	8192-95	<1	K	sol	13		yok	I	---	0	35	41	---	0	---	0	sag	95
39	10576-95	3	E		20		var	I	---	1	46	54	---	0	---	30		
40	25526-95	6	K	sol	10	420	yok	I	---	5	102	109	---	0	---	0	öllu	16
41	2403-96	<1	E	sol	11		yok	I	---	0	126	141	+	100	---	0		
42	15959-96	3	E	sol	10		yok	I	---	0	56	63	---	0	---	0	sag	82
43	18863-96	2	E	sol	9	480	yok	I	---	0	77	92	---	30	---	30	sag	73
44	19735-96	3	K				yok	II	---	0	64	71	---	0	---	0	sag	7
45	23505-96	<1	E	sag	10	550	yok	III	---	0	22	24	---	10	+	90	sag	4
46	2807-97	5	K		15	780	yok	II	---	4	224	247	---	40	---	0	öllu	7
47	4045-97	3	E	sol	7	500	yok	III	---	2	90	97	---	0	---	0		
48	10143-97	2	K		7		yok	I	+	75	117	132	---	0	+	95		
49	14824-97	3	E	sol	14		yok	II	+	40	67	84	+	80	---	75		
50	2448-98	11	E	sag	3		yok	I	---	5	212	231	---	0	+	90		
51	5327-98	1	K	sol	9	370	yok	I	---	0	91	121	---	0	---	0		
52	11316-98	1	E		10		yok	I	---	2	145	199	---	10	---	3	sag	53
53	18517-98		E	sag	13,5	720	yok	V	---	3	54	74	---	0	---	5		
54	22541-98	6	E	sol	7	290	var	II	+	90	12	17	+	80	+	90	sag	56
55	23957-98	2	E	sol	20	500	var	III	---	2	60	89	---	0	---	70	sag	45
56	3148-99	1	K	sol	7	210	yok	I	+	40	206	225	---	0	+	80		
57	20627-99		E	sol	8	120	yok	I	+	30	59	77	---	0	---	40		
58	20832-99		E	sol	8	480	yok	II	+	30	102	116	---	0	+	80	öllu	36

Prot. No	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap(cm)	Ağırlık(g)	His.tip	Anaplazi	Evre	p53	p53(%)	MDY	MDYmax	VEGF	VEGF(%)	TLM	TLM(%)	Sıklık	Takip(ay)
59	3497-00	5	E	sağ	6		mikst	I	---	5	101	116	---	-0	---	10		
60	7850-00	6	E	sol	5	140	bl.baskın	II	---	0	108	182	---	0	---	0		
61	13838-00	2	E		8	215	bl.baskın	II	+	10	75	106	---	0	+	95		
62	13998-01	5	E	sağ	16	1450	bl.baskın	III	+	30	38	49	---	0	---	30		
63	26593-02	2	E	sağ	17	700	mikst	IV	+	10	109	129	---	0	---	80		

Tablo 10- Genel değerlendirmeye katılmayan metastaz, lokal nüks, kemoterapi sonrası nefrektomi ve biyopsi vakalarında immünohistokimya sonuçları

Prot. No.	Bilgi	p53	MDY/MDYmax	VEGF	Telomeraz
VAKA-1	Karaciğer metastazi-biyopsi	%5 (---)	91,4 / 109	%0 (---)	%0 (---)
VAKA-2	lokal nüks-küretaj	%5 (---)	102,2 / 135	%0 (---)	%0 (---)
	metastaz (anaplazi +)	%60 (+)	52,6 / 83	%40 (---)	%30 (---)
VAKA-3	metastaz	%30 (+)	53,6 / 54	%30 (---)	%95 (+)
	lokal nüks	%4 (---)	45,5 / 67,5	%95 (+)	%80 (+)
VAKA-4	akciğer metastazi	%10 (+)	36,6 / 55	%90 (+)	%0 (---)
	mediasten, akciğer, plevra metastazi	%30 (+)	54,2 / 72	%95 (+)	%80 (+)
VAKA-5	lokal nüks (maplazi+)	%0 (---)	158,4 / 164	%40 (---)	%0 (---)
	lokal nüks	%5 (---)	51,6 / 74	%90 (+)	%0 (---)
VAKA-6	inoperabl vaka- biyopsi	%1 (---)	132,8 / 148	%30 (---)	%90 (+)
VAKA-7	KT sonrası nefrektomi	%5 (---)	65,4 / 85	%70 (---)	%0 (---)
VAKA-8	KT sonrası nefrektomi	%0 (---)	117,2 / 130	%40 (---)	%70 (+)

Tablo 11- İmmünhistokimyasal gelişmeye katılmayan vakaların histopatolojik ve klinik bulguları<sup>5</sup>

Prot. No	Materyalin cinsi	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap (cm)	Ağırlık (g)	Histolojik tip	Evre	Anaplazi	Sağ kalım	Takip süresi
1	1537-84	nefrektomi	5	E	sol	9,5	670	blastemal baskın	IV	yok	
2	13674-84	biopsi	4	E			blastemal baskın		yok		
3	14105-84	konsültasyon	1	K	sol		mikst	IV	yok		
4	3806-85		1,5	E			mikst		yok		
5	2584-85		4,5	E			mikst		var		
6	6294-85	konsültasyon	2	E			mikst		yok		
7	2553-85		2,5	K			blastemal baskın		yok		
8	14188-87	nefrektomi	5 ay	K	sol	6	140	mikst	I	yok	
9	10739-87		15 ay				mikst		yok		
10	10372-88		10 ay	K			mikst	I	yok		
11	3448-89	konsültasyon	1,5	E	sol		mikst		yok		
12	3462-89		3	K			mikst		yok		
13	10235-89	konsültasyon	2	K			mikst		yok		
14	5342-90	konsültasyon	1,5	K			mikst		yok		
15	7337-91	konsültasyon	10	E	sağ		mikst		yok	6lli	1 ay
16	9637-91	konsültasyon	2	E	sağ		mikst		yok	sağ	135 ay
17	10328-91	konsültasyon	5,5	E	sağ	7		mikst	II	sağ	137 ay

<sup>5</sup> Vakaların hakkında bilgiye ulaşılmayan parametrelerine ait kutucuklar boş bırakılmıştır.

Konsültasyon ve biopsi materyallerinde anaplazi görülmemiş olması güvenilir bulunmadığından bu hastalarda anaplazi hakkında yorum yapılmamıştır

KFDN: Kistik püsiyel diferanzye neuroblastom

Prot. No	Materyalin cinsi	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap (cm)	Ağırlık (g)	Histolojik tip	Eyre	Anaplazi	Sağlanım	Takip süresi
19	2625-92 nefektomi	14 ay	K	sol	10	500	mikst	II	yok	sağ	108 ay
20	6757-92 nefektomi	8 ay	K	sağ	7		mikst	II	yok		
21	7226-92 konsultasyon	7	E	sol	16		mikst	II	yok	ölü	8 ay
22	8278-92 konsultasyon	1,5	E	sağ			mikst		yok	sağ	110 ay
23	13281-92 konsultasyon	2,5	K				blastemal baskın		yok	sağ	137 ay
24	449-93 nefektomi	2	K	sol	6,5	200	blastemal baskın	I	tok	sağ	120 ay
25	13272-93 konsultasyon	3,5	E				mikst		yok	sağ	113 ay
26	21711-93 konsultasyon	5	K				mikst		yok	sağ	106 ay
27	4701-94 konsultasyon	1,5	E				epitelyal baskın		yok	sağ	105 ay
28	4629-94 nefektomi	14 ay	E	sol	15		mikst	II	yok		
29	14818-94	5	E				blastemal baskın		var	sağ	89 ay
30	14915-94	5	E				blastemal baskın		yok		
31	16341-94 konsultasyon	2,5	K	sağ			mikst		yok	sağ	93 ay
32	21476-94 konsultasyon	5	K				KPDN	III	yok		
33	22148-94 nefektomi	6	K	sol	11		mikst	I	yok		
34	23422-94 nefektomi	4 ay	E	sağ	5,5	90	epitelyal baskın	I	yok	sağ	108 ay
35	23088-94 biopsi	2	E	bilateral			mikst	V	yok		
36	7182-95 nefektomi(KT sonrası)*	7	K	sağ	12		mikst	IV	yok	sağ	82 ay
37	2897-97 konsultasyon	3	E	sol			mikst		yok		
38	9284-97 konsultasyon	4	K				blastemal baskın		yok	sağ	66 ay
39	27031-98		K	sol			KPDN			sağ	49 ay
40	10955-99 konsultasyon	10	K				blastemal baskın		yok		

Prot. No	Materyalin cinsi	Yaş	Cinsiyet	Taraf	Çap (cm)	Ağırlık (g)	Histolojik tip	Evre	Amplazi	Sağhalım	Takip süresi
41	19197-99	biopsi	K				blasternal baskın				
42	17750-00	2	E	sağ			mikst	III	yok	sağ	16 ay
43	12671-00	nefrektomi(KT sonrası)*	E	sağ	12	850	blasternal baskın	II	yok		
44	21555-00	nefrektomi	K	sol	8	400	mikst	I	yok		
45	27816-00	nefrektomi	K	sağ	15	620	mikst	II	yok	sağ	26 ay
46	12063-01	konsültasyon	K	sağ					yok	sağ	19 ay
47	33251-01	biopsi	K				mikst	II			
48	22239-02	nefrektomi	K	sağ	20	1200	blasternal baskın	II	yok		
49	24795-02	nefrektomi	E	sağ	8,5	80	mikst		yok		

(\*): immünohistokimyasal bulgular için bkz. Tablo-10.

## YAŞ

Değerlendirilen parametrelerin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo-12’de özetlenmiştir.

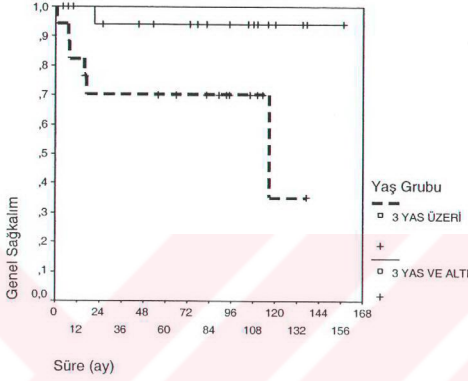
Yaşları bilinen hastaların 3 yaş ve altında olan 51’inde anaplazi %7,8 oranında iken 3 yaşın üzerindeki 34 vakada bu oran %20,6 olarak belirlendi<sup>6</sup>. İleri yaş grubunda anaplazi görülme oranındaki bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

**Tablo 12-Yaş gruplarının parametrelere göre dağılımı**

		Yaş grubu	
		3 yaş ve altı	3 yaş üzeri
Tümör çapı	12 cm altı	24 (%57,1)	13 (%46,4)
	12 cm ve üzeri	18 (%42,9)	15 (%53,6)
Ağırlık	550 g altı	13 (%43,3)	6 (%37,5)
	550 g ve üzeri	17 (%56,7)	10 (%62,5)
Evre	Evre I/II	30 (%71,4)	18 (%66,7)
	Evre III	7 (%16,7)	5 (%18,5)
	Evre IV	3 (%7,1)	4 (%14,8)
	Evre V	2 (%4,8)	
Histolojik tip	Mikst	41 (%69,5)	17 (%40,5)
	Bl. baskın	14 (%23,7)	21 (%50,0)
	Ept. baskın	4 (%6,8)	4 (%9,5)
Anaplazi	Var	4 (%7,8)	7 (%20,6)
	Yok	47 (%92,2)	27 (%79,4)
Sağkalım	Sağ	19 (%95)	11 (%64,71)
	Ölü	1 (%5)	6 (%35,29)

<sup>6</sup> Lam konsültasyonu olarak gelen vakalar güvenilirlik taşımadıkları düşünülerek anaplazi açısından istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Ayrıca genel verilerde bahsedilen kistik parsiyel diferansiye nefroblastom vakaları da ayrı bir alt tip olduklarından genel istatistiksel değerlendirmelere katılmadı.

Yaş ile sağkalm arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ( $p<0,05$ ) (Şekil-3). Yaşları 3'ün altında olan grupta vakaların daha yüksek sağkalm oranına sahip oldukları görüldü.



Şekil 3- Yaş gruplarına göre genel sağkalm dağılımı ( $p<0,05$ )

Yaş ile histolojik tip arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Yaşları 3'ün üzerinde olan vakalarda blastemal baskın tip histolojinin daha sık görüldüğü belirlendi.

Yaş ile tümör çapı, ağırlık, evre, p53, anjiogenez ve telomeraz aktivitesi arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ).

## HİSTOLOJİK TİP

Vakaların 65'i (%59,1) mikst tip, 36'sı (%32,7) blastemal baskın tip, 9'u (%8,2) ise epitelyal baskın tip idi. Epitelyal baskın tipte histoloji içeren vaka sayısı az olduğundan istatistiksel değerlendirmeye bu vakalar katılmadı. İstatistiksel değerlendirme mikst tip ve blastemal baskın tipler arasında yapıldı.

Histolojik tip ile yaş ve tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ( $p<0,05$ ). Blastemal baskın tip 3 yaş üzerinde daha sık görülmekte idi ve yine aynı yaş grubunda tümör çapı çoğunlukla 12 cm'nin üzerinde olarak saptandı.

Histolojik tip ile ağırlık, evre, anaplazi, p53 immünreaktivitesi, anjiogenez, mikrodamar yoğunluğu, telomeraz aktivitesi ve sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

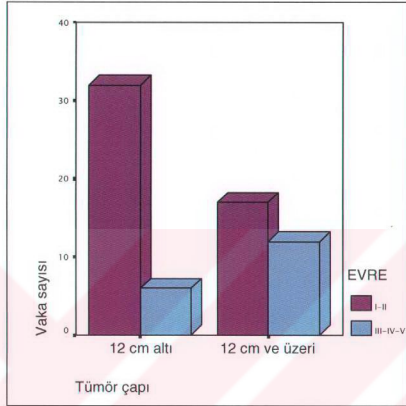
## EVRE

Vakaların 28'ine (%37,3) Evre I, 25'ine (%33,3) Evre II, 12'sine (%16) Evre III, 7'sine (%9,3) Evre IV ve 3'üne (%4) Evre V'te tanı konduğu görüldü. İstatistiksel değerlendirme yapabilmek için vakalar erken (Evre I-II) ve ileri evre (Evre III-IV-V) olmak üzere iki grupta incelendi.

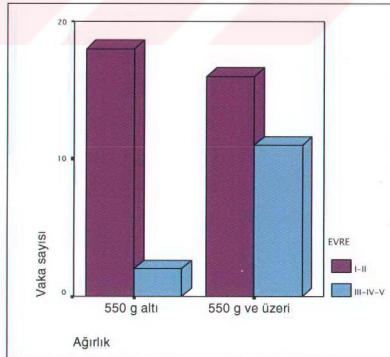
Tümör çapı ve ağırlık evre ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulundu ( $p<0,05$ ). Erken evre tümörlerin ileri evre olanlara göre daha küçük tümörler oldukları görüldü.

Evre I-II tümörlerde anaplazi %9,8 oranında görülürken, bu oran Evre III tümörlerde %25, Evre IV tümörlerde ise %16,7 idi. Bu oranların istatistiksel olarak anlamlılık taşımadığı saptandı ( $p>0,05$ ).

Yaş, histolojik tip, sağkalım, p53, anjiogenez ve telomeraz aktivitesi evre ile ilişkili bulunmadı ( $p>0,05$ ).



Şekil 4- Tümör çaplarının evrelere göre dağılımı



Şekil 5- Materyallerin ağırlıklarının evrelere göre dağılımı

## ANAPLAZİ

Materyal-metod başlığı altında anlatılan nedenler ile anaplazi değerlendirilebilen 91 vakanın 13'ünde (%14,3) anaplazi varlığı belirlendi. Yaşı bilinen 85 vakanın anaplazi içeren 11'inin 7'si (%63,6) 3 yaş üzerinde, 4'ü (%36,4) ise 3 yaş ve altında idi. Yaşı 2'nin altında olan hiçbir vakada anaplazi görülmedi.

Anaplazi içeren 9 vakanın %55,6'sının (5 vaka) erken evre, %44,4'ünün (4 vaka) ileri evre tümörler oldukları görüldü. Anaplazi içermeyen 63 vakada bu oranlar sırası ile %73, %27 olarak belirlendi ( $p>0,05$ ).

Anaplazi içeren 6 vakanın 4'ünde (%66,7) metastaz gözlenmezken 2'sinde (%33,3) metastaz varlığı tespit edildi. Anaplazi bulunmayan 17 vakada metastaz görülme oranları anaplazi görülen grubunkine oldukça yakındı. Anaplazi görülmeyen grubun metastaz oranı %29,4 olarak belirlendi ( $p>0,05$ ).

Klinik takibi bilinen anaplazi içeren 7 vakanın 5'i (%28,57) yaşamakta iken, anaplazi görülmeyen 23 vakanın 18'i (%78,3) yaşamakta idi ( $p>0,05$ ).

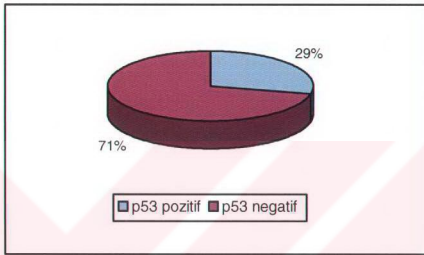
Anaplazi ile tümör çapı, ağırlık, evre, histolojik tip, p53, anjiogenez ve telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

## İMMÜNHİSTOKİMYASAL İŞARETLEYİCİLER

p53 immünreaktivitesi, mikrodamar yoğunluğu (MDY), mikrodamar yoğunluğu maksimum değeri (MDYmax), VEGF immünreaktivitesi ve telomeraz aktivitesinin, değerlendirilen 63 vakada klinikopatolojik parametreler ile olan ilişkileri Tablo 13–14–15-16 ve 17'de özetlenmiştir.

## p53 immünreaktivitesi

p53 ile immünohistokimyasal çalışma yapılabilen vakaların 18'inde (%28,6) %10'un üzerinde bir oranla pozitif immünreaktivite gözlemlendi. p53 immünreaktivitesi evre, anaplazi, histolojik tip ve sürvi ile ilişkili bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo-13).



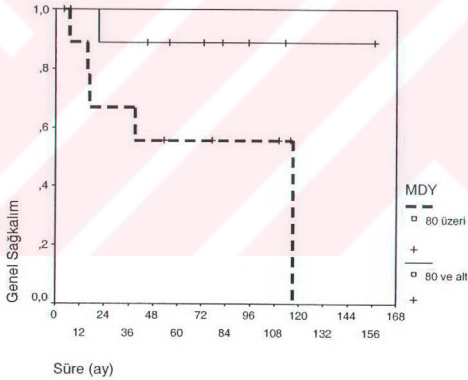
Şekil 6- p53 immünreaktivitesinin dağılımı

Tablo 13- p53 immünreaktivitesinin klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı

	Sayı (%)	p53 pozitif (%)	p53 negatif (%)
<b>Histolojik tip</b>			
Mikst	33 (52,4)	10 (55,6)	23 (51,1)
Bl. baskın	23 (36,5)	4 (22,2)	19 (42,2)
Ept. baskın	7 (11,1)	4 (22,2)	3 (6,7)
Toplam	63 (100,0)	18 (100,0)	45 (100,0)
<b>Anaplazi</b>			
Var	12 (19,0)	4 (22,2)	8 (17,8)
Yok	51 (81,0)	14 (77,8)	37 (82,2)
Toplam	63 (100,0)	18 (100,0)	45 (100,0)
<b>Evre</b>			
I-II	40 (70,2)	14 (82,4)	26 (65)
III	11 (19,3)	2 (11,8)	9 (22,5)
IV	4 (7,0)	1 (5,9)	3 (7,5)
V	2 (3,5)		2 (5,0)
Toplam	57 (100,0)	17 (100,0)	40 (100,0)
<b>Sağkalım</b>			
Sağ	14 (66,7)	3 (75,0)	11 (64,7)
Ölü	7 (33,3)	1 (25,0)	6 (35,3)
Toplam	21 (100,0)	4 (100,0)	17 (100,0)

### Mikrodamar yoğunluğu ve mikrodamar yoğunluğu maksimum değeri

Anti-CD34 antikoruna ile immünohistokimyasal çalışma yapılabilen vakaların 30'u (%51,6) damardan zengin tümörler olarak belirlendi. Mikrodamar yoğunluğu ve mikrodamar yoğunluğu maksimum değeri sürvi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine oldukça yakın bir sonuç elde edildi ( $p = 0,059$ ) (Şekil-5). Damardan zengin tümörlerde ölüm oranı, damarlanması daha az olan tümörlere göre daha yüksek oranda belirlendi. MDY ve MDY maksimum değeri evre, histolojik tip ve anaplazi ile ilişkili bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo-14 - 15).



Şekil 7- Mikrodamar yoğunluğunun sürvi ile ilişkisi ( $p=0,059$ )

**Tablo 14-Mikrodamar yoğunluğunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı**

	Vaka Sayısı (%)	MDY düşük ( $\leq 80$ ) (%)	MDYyüksek ( $>80$ ) (%)
<b>Histolojik tip</b>			
Mikst	32 (51,6)	16 (53,3)	16 (50,0)
Bl. baskın	23 (37,1)	10 (33,3)	13 (100,0)
Ept. baskın	7 (11,3)	4 (13,3)	3 (9,4)
Toplam	62 (100,0)	30 (100,0)	32 (100,0)
<b>Anaplazi</b>			
Var	11 (17,7)	4 (13,3)	7 (78,1)
Yok	51 (82,3)	26 (86,7)	25 (78,1)
Toplam	62 (100,0)	30 (100,0)	32 (100,0)
<b>Evre</b>			
I-II	40 (70,2)	18 (64,3)	22 (75,9)
III	11 (19,3)	7 (25,0)	4 (13,8)
IV	4 (7,0)	1 (3,6)	3 (10,3)
V	2 (3,5)	2 (7,1)	
Toplam	57 (100,0)	28 (100,0)	29 (100,0)
<b>Sağkalm</b>			
Sağ	14 (70,0)	10 (90,9)	4 (44,4)
Ölü	6 (30,0)	1 (9,1)	5 (55,6)
Toplam	19 (100,0)	11 (100,0)	9 (100,0)

MDY: mikrodamar yoğunluğu

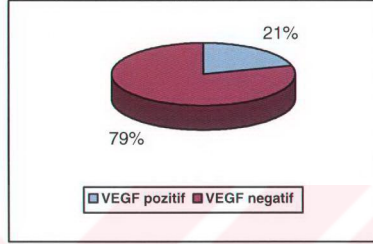
**Tablo 15- Mikrodamar yoğunluğu maksimum değerinin klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı**

	Vaka Sayısı (%)	MDYmaks ( $\leq 100$ ) (%)	MDYmaks ( $>100$ ) (%)
<b>Histolojik tip</b>			
Mikst	32 (51,6)	17 (53,1)	15 (50,0)
Bl. baskın	23 (37,1)	11 (34,4)	12 (40,0)
Ept. baskın	7 (11,3)	4 (12,5)	3 (10,0)
Toplam	62 (100,0)	32 (100,0)	30 (100,0)
<b>Anaplazi</b>			
Var	11 (17,7)	3 (9,4)	8 (26,7)
Yok	51 (82,3)	29 (90,6)	22 (73,3)
Toplam	62 (100,0)	32 (100,0)	30 (100,0)
<b>Evre</b>			
I-II	40 (70,2)	18 (58,1)	22 (84,6)
III	11 (19,3)	9 (29,0)	2 (7,7)
IV	4 (7,0)	2 (6,5)	2 (7,7)
V	2 (3,5)	2 (6,5)	
Toplam	57 (100,0)	31 (100,0)	26 (100,0)
<b>Sağkalm</b>			
Sağ	14 (70,0)	10 (90,9)	4 (44,4)
Ölü	6 (30,0)	1 (9,1)	5 (55,6)
Toplam	20 (100,0)	11 (100,0)	9 (100,0)

MDYmax: mikrodamar yoğunluğu maksimum

## VEGF

İmmünohistokimya uygulanabilen vaka grubunda VEGF %20,6 oranında pozitif immünreaktivite gösterdi. Ancak VEGF immünreaktivitesi evre, histolojik tip, anaplazi ve sürvi ile ilişkili bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo-16).



Şekil 8- VEGF immünreaktivitesi dağılımı

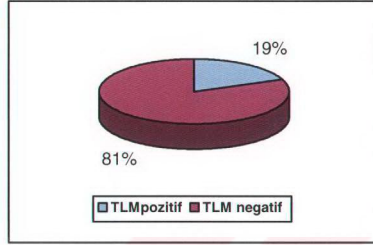
Tablo 16- VEGF immünreaktivitesinin klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı

	Vaka Sayısı (%)	VEGF negatif (%)	VEGF pozitif (%)
<b><u>Histolojik tip</u></b>			
Mikst	33 (52,4)	26 (52,0)	7 (53,8)
Bl. baskın	23 (36,5)	20 (40,0)	3 (23,1)
Ept. baskın	7 (11,1)	4 (8,0)	3 (23,1)
Toplam	63 (100,0)	50 (100,0)	13 (100,0)
<b><u>Anaplazi</u></b>			
Var	12 (19,0)	7 (14,0)	5 (38,5)
Yok	51 (81,0)	43 (86,0)	8 (61,5)
Toplam	63 (100,0)	50 (100,0)	13 (100,0)
<b><u>Evre</u></b>			
I-II	40 (70,2)	32 (69,6)	8 (72,7)
III	11 (19,3)	10 (21,7)	1 (9,1)
IV	4 (7,0)	2 (4,3)	2 (18,2)
V	2 (3,54)	2 (4,3)	
Toplam	57 (100,0)	46 (100,0)	11 (100,0)
<b><u>Sağkalım</u></b>			
Sağ	14 (66,7)	11 (64,7)	3 (75,0)
Ölü	7 (33,3)	6 (35,3)	1 (%25,0)
Toplam	21 (100,0)	17 (100,0)	4 (100,0)

VEGF:vascular endothelial growth factor

## Telomeraz aktivitesi

İmmünohistokimya uygulanabilen vakaların 12'sinde (%19) anti-telomeraz antikoruna ile pozitif immünreaktivite belirlendi. Evre, histolojik tip, anaplazi ve sürvi ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo-17).



Şekil 9- Telomeraz aktivitesinin dağılımı

Tablo 17- Telomeraz immünreaktivitesinin klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı

	Vaka Sayısı (%)	TLM negatif (%)	TLM pozitif (%)
<b><u>Histolojik tip</u></b>			
Mikst	33 (52,4)	26 (51,0)	7 (58,3)
Bl. baskın	23 (36,5)	21 (41,2)	2 (26,7)
Ept. baskın	7 (11,1)	4 (7,8)	3 (25,0)
Toplam	63 (100,0)	51 (100,0)	12 (100,0)
<b><u>Anaplazi</u></b>			
Var	12 (19,0)	9 (17,6)	3 (25,0)
Yok	51 (81,0)	42 (82,4)	9 (75,0)
Toplam	63 (100,0)	51 (100,0)	12 (100,0)
<b><u>Evre</u></b>			
I-II	40 (70,2)	33 (71,7)	7 (63,6)
III	11 (19,3)	9 (19,6)	2 (18,2)
IV	4 (7,0)	3 (6,5)	1 (9,1)
V	2 (3,5)	1 (2,2)	1 (9,1)
Toplam	57 (100,0)	46 (100,0)	11 (100,0)
<b><u>Sağkalm</u></b>			
Sağ	14 (66,7)	11 (68,8)	3 (60,0)
Ölü	7 (%33,3))	5 (31,3)	2 (40,0)
Toplam	21 (100,0)	16 (100,0)	5 (100,0)

Bl. baskın: blastemal baskın Ept. baskın: epitelyal baskın TLM: telomeraz

### **İmmünohistokimyasal İşaretleyicilerin Birbirleri ile İlişkisi**

p53, mikrodamar yoğunluğu, VEGF ekspresyonu ve telomeraz aktivitesinin birbirleri ile ilişkileri değerlendirildiğinde sadece **p53** yüzde oranları ile **telomeraz aktivitesi** yüzde oranları arasında ileri düzeyde anlamlı korelasyon saptanmıştır (**p<0,001**). Diğer immünohistokimyasal işaretleyiciler arasında anlamlı bir korelasyon belirlenmemiştir.

## TARTIŞMA

Wilms tümörü çocukluk çağı böbrek tümörleri arasında en sık görülen tümör olması nedeni ile literatürde pek çok alanda yerini almıştır. WT iyi seyreden bir tümör olmasına rağmen anaplazi içermeyen, relaps/ölüm beklenmeyen hastaların bazılarının kötü seyretmesi nedeni ile bu grubun önceden tahmin edilerek agresif tedavi verilmesini sağlayacak kriterlerin araştırılması WT ile ilgili çalışmaların temelini oluşturmaktadır. 1969'da kurulan NWTS grubunun yıllar içinde oldukça geniş vaka serileri oluşturarak yaptıkları çalışmalar sonucunda en uygun tedavi protokolleri geliştirilmiş ve Wilms tümöründe sürvi % 90'lara ulaşmıştır. Bu süreç içerisinde histopatolojik pek çok parametre araştırılmıştır. Bunlar arasında tümör boyutu, operasyon materyalinin ağırlığı, hasta yaşı, lenf nodu tutulumu, histoloji (anaplazi varlığı), cinsiyet, tümör tarafı, cerrahi sınırdaki tümör varlığı, kapsül tutulumu, intrarenal damar tutulumu, renal vanda tümör varlığı sayılabilir. Pek çok çalışmada yukarıdaki parametreler içersinden hasta yaşı, lenf nodu tutulumu, histoloji, cerrahi sınırdaki tümör varlığı, kapsül tutulumu, intrarenal damar tutulumu ve renal vanda tümör varlığı prognostik açıdan anlamlı bulunmuştur (5, 9, 10, 11, 12). Bu bulgular ışığında Wilms tümörlü hastalar bu parametrelerin durumuna göre yeni evreleme sistemine tabi tutularak tedavi protokolleri tümörün evresine göre belirlenmiştir.

Çalışmamızda, yapılan bütün bu bilimsel çalışmalarını temel alarak Anabilim Dalı'mızda 1984-2002 yılları arasında incelenen Wilms tümörlü vaka grubunda yaş, cinsiyet, taraf, tümör çapı, ağırlık, histolojik tip, anaplazi, evre ve sağkalım araştırılmıştır. Değerlendirilen tüm bu parametrelere ek olarak yukarıda bahsedilen amaçlar doğrultusunda literatüre katkı sağlamak amacı ile immünohistokimyasal olarak p53, CD34-VEGF (anjiogenez) ve telomeraz aktivitesi değerlendirmeye alınmıştır.

Hastalarımızın büyük çoğunluğunun iki yaşın üzerinde olduğu görülmektedir. Erkek vaka sayısında kızlara göre çok az bir fazlalık söz konusudur (E:K = 1.1 : 1). Breslow ve ark.'larının (10, 11) NWTS-2 ve NWTS-3 vakalarında erkek ve kadın vaka sayıları bizim vaka serimizdeki cinsiyet dağılımına benzer oranlar içermektedir.

Çocukluk ağı Wilms tümörlerinde ileri yaşın ve blastemal baskın tip histolojinin kesin kötü prognostik göstergeler arasında yer almamakla birlikte kötü prognoza işaret edebilecekleri bilinmektedir (1, 2, 10, 11, 45, 46). Bu açıdan bakıldığında serimizde saptanan üç yaş üstündeki grupta blastemal baskın tipin sıklığının istatistiksel olarak anlamlı bulunmasının şaşırtıcı olmadığı söylenebilir. Vakaların üç yaş ve üç yaş altı grupta olanlarında mikst tip daha sık görülmektedir. Ancak epitelyal baskın tipteki vaka sayısının az olması bu konu hakkında istatistiksel değerlendirmeyi kısıtlamaktadır. Yaş ve histolojik tip arasındaki ilişkinin daha geniş vaka serileri üzerinde araştırılıp en doğru sonuca ulaşılması gerekmektedir.

Yaşın sürvi ile olan ilişkisine bakıldığında yaş büyüdükçe sağkalım oranının azaldığı görülmektedir. Bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olması konu hakkındaki bilimsel çalışmaları desteklemektedir (9, 10, 11, 12, 108). Breslow ve ark. (11) ileri yaşta prognozun kötü olmasını yaşın kapsül tutulumu, lenf nodu tutulumu gibi önemli diğer kötü prognostik faktörlerle olan ilişkisine bağlamışlardır. Ancak materyalin ağırlığının prognoz üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Breslow ve ark. (10) yaptıkları diğer bir çalışmada hasta yaşının Evre II ve III'te, tümör boyutunun ise Evre I'de prognoza etkisi olduğundan söz etmektedirler. Ayrıca şunu da belirtmektedirler ki ileri yaş, gecikmiş tanıya, dolayısıyla tümörün yayılmasına zaman tanınmasına yol açmaktadır. Yine aynı çalışmacılar bu görüşü destekler şekilde başka bir çalışmalarında, bir yaş altında metastaz oranını % 1, altı yaş üzerinde ise % 24 olarak bildirmektedirler (9).

Green ve ark. (108) ise NWTS-1, NWTS-2 ve NWTS-3'ün sürvi sonuçlarını özetledikleri ve karşılaştırdıkları bir çalışmada iki yaş altında, 550 g'dan düşük rezeksiyon materyali ağırlığına sahip ve anaplazi içermeyen vakalarda, yalnız nefrektomi uygulananlar ile nefrektomiye diğer tedavi seçeneklerin de eklendiği hastalar arasında herhangi bir prognostik farklılık olmadığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmacılar başka bir çalışmalarında NWTS-4 vakalarında da yine aynı hasta grubunda kapsül invazyonu, renal sintüs infiltrasyonu, intrarenal damar tutulumu ve inflamatuvar psödokapsül varlığı gibi altı tipte kullanılması önerdikleri parametrelerin görülme olasılığının oldukça az olduğunu vurgulamışlardır (12).

Bizim çalışmamızda yaş, sürvi ile anlamlı ilişkili ( $p>0,05$ ) olduğu halde ağırlık için bu söylenememiştir. ( $p>0,05$ ). Ağırlık ile sürvi arasında ilişki bulunmaması klinik takibi bilinen hasta sayısının az olması ve bu hastaların önemli bir kısmının konsültasyon vakaları olmaları dolayısı ile ağırlık ölçümlerinin bilinmemesine bağlanabilir.

Vakalarımızın büyük çoğunluğunun Evre I ve II (%70,3) tümörlerden oluşması literatür bilgisini desteklemektedir (13). Literatürde benzer bir bulguya rastlamamakla birlikte evre ile tümör çapı ve ağırlık arasında anlamlı bir ilişki saptanması, tümörün büyüdükçe yaygınlığının da artması görüşünü ortaya koymaktadır ve bunun ilginç bir sonuç olmadığı düşünülebilir.

Anaplazi değerlendirilebilen 91 vakanın 12'sinde (%13,18) anaplazi varlığı söz konusudur. Anaplazi bulunanların hiçbirinin iki yaş altında olmadığı literatürdeki benzer yayınları desteklemektedir (3, 5, 109, 110). Corey ve ark.'nın (109) çalışmasında da anaplazi içeren hastaların hiçbirinin iki yaş altında olmadığı görülmektedir. Bonadio ve ark.'nın (5) sonuçlarına göre de anaplazi içeren gruptaki vakalar %80,9'luk bir oranla üç yaş üzerindeki hastalardan oluşmakta iken, anaplazi içermeyen grupta üç yaş altındaki

vakaların oranı %49,9'dur. Çalışmacıların vaka serisinde anaplazinin yaş dağılımına bakıldığında yaş ile birlikte anaplazi görülme sıklığının arttığı sonucuna varılabilir.

Anaplazi, çalışma grubumuzda konu hakkındaki yayınları destekler nitelikte tümör boyutu ve materyalin ağırlığı ile istatistiksel anlamlılık taşıyan herhangi bir ilişki göstermemektedir ( $p>0,05$ ) (3,5). Zuppan ve ark. (3) anaplazinin Evre I'den Evre IV'e doğru giderek arttığını gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda Evre IV vaka sayısı altı ile sınırlıdır. Bu vakaların sadece birinde anaplazi varlığı söz konusudur. Evre IV için ileri bir yoruma gidilmesi bu nedenle zordur. Ancak çalışma grubumuzdaki Evre I tümörlere baktığımızda anaplazinin vakaların %96,4'ünde görülmemesi çarpıcı bir bulgudur.

Literatüre bakıldığında anaplazinin prognoz üzerine olan etkisinin yıllar boyunca araştırıldığı görülmektedir. Anaplazi prognozu kötü yönde etkileyen bir faktör olarak öne sürülmüş, fokal ve diffüz olarak iki alt gruba ayrılmıştır (5, 9, 46). Fokal anaplazi prognozu etkilememekte, ancak diffüz anaplazi relaps ve ölüm oranını arttırmaktadır (4).

Makroskopik haritalama metodunun 1995 yılından bu yana söz konusu olması ve vakalarımızın 1995 yılı öncesi dönemi de kapsıyor olmaları nedeni ile yeniden değerlendirme imkanı olmadığı için fokal ve diffüz anaplazi açısından ayırım yapılmamıştır. Ayrıca zaman içinde fokal ve diffüz anaplazi tanımlarının değiştiği göz önüne alınarak rapor verileri temel alınmadığından bu konu hakkında yoruma gidilememiştir.

Yıllar içinde Wilms tümörünün tedavi modaliteleri değiştirilmiş, anaplazi içeren olgulara daha agresif kemoterapi verilmeye başlanmıştır. Böylece anaplazinin kötü prognostik özelliği giderek ortadan kalkmaktadır. Anaplazi değerlendirmesi yapılabilen ve klinik takibi bilinen 30 hastamızda anaplazinin prognoza etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu sonucun nedeni çalışmamızda anaplazinin fokal veya diffüz olarak ayırımının daha önce söz edilen nedenler ile yapılamamış olması ve Anabilim

Dalı'mızın konsültasyon merkezi olması nedeni ile laboratuvarımıza ulaşan çok sayıda konsültasyon vakasının güvenilirlik taşımadığı düşünülerek değerlendirme dışı tutulması sonucunda vaka sayımızın azalması olabilir. Bu çalışma gelecek yıllarda vaka sayısının giderek artması ile yapılacak benzer çalışmalar için bir başlangıç teşkil etmektedir.

Patolojik değerlendirmede morfolojinin önemi yadsınmaz. Morfoloji klinik bulgular ile desteklenmelidir. Patoloji bilimi, tanı koymanın yanısıra hastalığın tedavisi ve seyri konusunda da ipuçları sunabilecek yöntemler uygulamaktadır. İmmünohistokimya rutin uygulamada kullanılabilirliği bakımından bu konuda yardımcıdır. WT'de de çeşitli alanlarda immünohistokimyasal çalışmalar yapılmaktadır.

Wilms tümöründe tedavi modalitelerinin geliştirilmesi sonucunda sürvinin %90'lara ulaşması sevindiricidir. Amaç kötü seyrecek vakaları önceden saptayarak bu hastalara da uzun ve kaliteli bir yaşam sunmaktır. Bu konuda pek çok çalışma yapılmaktadır. Erişkin tümörlerde çoğunlukla saptanan p53 tümör süpresör gen disfonksiyonu (50, 53, 54, 55, 57) son yıllarda WT'de de araştırılmakta, bazı yayınlarda prognoz ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (48, 51). Anjiogenez yine çoğu tümörde araştırılan ve kötü prognostik olduğu düşünülen bir olaydır (66, 67, 73, 74, 75). Telomeraz, oldukça yeni ortaya atılan, Wilms tümörlerinde hakkında çok çalışma bulunmayan bir enzimdir. Buradan yola çıkarak Anabilim Dalı'mızda incelenip bloklarına ulaşılabilen WT'li vakalar üzerinde p53, anjiogenez ve telomeraz aktivitesi araştırılmıştır.

p53 tümör süpresör genindeki mutasyonlar insan kanserlerinde saptanan tek en iyi bilinen gen değişikliğidir (50). Kolon kanserlerinin %70'i, meme kanserlerinin %30-50'si, akciğer kanserlerinin %50'si ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin %100'ü p53 geninde mutasyon içerirler (57). Çocukluk çağı tümörlerinde ise p53 geninde değişiklikler çok nadiren saptanmıştır. WT'de bazı araştırmacılar tarafından gerek moleküler genetik yöntemler ile gerek immünohistokimyasal yöntem ile p53 gen mutasyonlarının patogenezi,

histoloji ve prognoz üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Lemoine ve ark. (59) ile Velasco ve ark. (19) p53 geninin WT patogenezinde rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Ancak Lahoti ve ark. (61) anti-p53 antikoru ile pozitif immünreaktivite gösteren tümörlerin çoğunda mutasyon olmadığını göstermişlerdir. Buradan yola çıkarak p53 proteininin saptanmasında kullanılan immünohistokimyasal yöntemin p53 genindeki mutasyonu göstermek açısından mükemmel veya doğru bir yöntem olmadığı söylenebilir (48).

Serimizde evreler ile p53 genel olarak değerlendirildiğinde aralarında tıpkı Govender ve ark. (48) gibi istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir. Sredni ve ark. (49) evre ile p53 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki belirlemişler, ancak anaplazi ile p53 ekspresyonu arasında anlamlılık saptamamışlardır. Ancak genel grupta görülen bu anlamsız ilişkinin aksine Evre III tümörlerde anaplazi içermeyen gruptaki 24 vakanın 23'ünde p53 ile negatif sonuç elde etmişlerdir ( $p<0,05$ ). Bizim çalışmamızda ise hiçbir evre grubunda buna benzer anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

p53 ile pozitif reaksiyon gösteren vakalarımızda pozitif immünreaktivitenin herhangi bir hücre komponentine seçicilik göstermediğini gördük. Bu gözlemimiz literatürdeki benzer çalışmalar ile aynı yöndedir (48, 61).

Malkin ve ark. (60) yaptıkları bir genetik çalışmada PCR:SSCP (polymerase chain reaction-single-strand conformation analysis) ve sekans analizi yöntemlerini kullanarak p53 gen mutasyonu ile agresif anaplastik tip arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Yaptığımız çalışmada Malkin ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde, ancak yöntem farklılığı ile immünohistokimyasal olarak uygun histolojili ve uygun olmayan histolojili gruplar arasında p53 pozitivitesi açısından ayırt edici bir bulguya rastlamadık ( $p>0,05$ ). Ayrıca klinik takibini bildiğimiz 21 vakada anti-p53 antikoru ile pozitif immünreaksiyonun sağkalım üzerine etkili olduğunu gösterir herhangi bir anlamlılık saptamadık ( $p>0,05$ ). Saptadığımız p53 immünreaktivitesinin sürvi ve anaplazi ile olan ilişkisinin anlamlı

olmamasını destekleyen çeşitli çalışmalar literatürde yer almaktadır. Cheah ve ark. (62) uygun histolojili grupta p53 ekspresyonunun sürvi ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Govender ve ark.'nın (48) çalışmasında da görülmektedir ki p53 immünreaktivitesi ile hastalısız grup ile relaps/ölüm görülen grup arasında p53 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamaktadır. Sürvi ile p53 ilişkisi açısından bizi destekleyen bu çalışmada anaplazi varlığı ile p53 ekspresyonu arasında bizim bulgularımızın aksine istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiş, bu bulgunun p53 proteininin immünhistokimyasal yöntem ile saptanmasının tanı ve tedavide yardımcı kriter olarak kullanılabileceğini desteklediği ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda ise anaplazi içeren 12 vakanın sadece 4'ünde (%33,3) p53 pozitifliği belirlenmiştir.

p53 ekspresyonu ile ilgili literatürde yer alan çalışmaların gerek kendi içlerinde gerekse bizim bulgularımız ile zaman zaman çelişmesi, p53 proteininin hücre içinde saptanmasında kullanılan immünhistokimyasal yöntemin şüphyle karşılanması gerektiğini düşündürülebilir. Cheah ve ark.'nın (62) da belirttiği gibi immünhistokimyasal yöntemin teknik koşulları bakımından bazen yalancı pozitif ve negatifliklerin söz konusu olabileceği her zaman akılda tutulmalıdır. Ayrıca mutasyonlar dışında hücre içinde wild-type p53 proteininin birikmesine neden olabilecek mekanizmaların varlığı hatırlanmalıdır (48, 60). Kullanılan monoklonal antikorun özelliği de önem taşımaktadır. Mutant epitopa spesifik monoklonal antikorun kullanımının daha güvenilir olduğuna inanılmaktadır (60). Bizim çalışmamızda kullanılan anti-p53 monoklonal antikorunu hem mutant form hem de wild-type p53 proteinine bağlanma özelliği taşımaktadır.

Her zaman düşünülmesi gereken diğer bir nokta da anti-p53 antikorunu ile pozitif immünreaktivitenin, mutasyonun henüz incelenmemiş bir bölgede olabileceğine veya tümörde aşırı wild-type p53 ekspresyonuna işaret ettiğini ileri süren görüşlerin varlığıdır (61, 62).

Lahoti ve ark. (61) anti-p53 antikoru ile elde edilen reaksiyonun tümörün değişik alanlarında farklılık gösterebileceğini, heterojen morfolojili büyük tümörlerde immünohistokimya ve moleküler analizlerin değişik alanlarda farklılık gösterebileceğini, bu tip vakalarda birkaç blok üzerinde immünohistokimyasal incelemenin yapılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bu görüşlerini tümör periferindeki bir tümör nodülünde pozitivite gösterip, ana tümör kitlesinde negatif olan bir vakaya ve primerlerinde negatif olan ancak metastazlarında p53 ile pozitif reaksiyon saptanan, metastaz geliştikten sonra geriye dönüp anti-p53 antikoru farklı kesitlere yeniden uygulanıp pozitif reaksiyon belirlenen iki vakaya dayandırmaktadırlar. Bu görüşten yola çıkarak vakalarımızı değerlendirdiğimizde %10' un altında pozitif reaksiyon gözlemleyip negatif grupta değerlendirdiğimiz tümörlerin belki farklı alanlarında pozitif reaksiyon saptanabileceği olasılığı akla gelmektedir. Ancak şu da hatırlanmalıdır ki immünohistokimya iyi fikse olmuş dokularda güvenilir sonuçlar vermektedir. Makroskopinin önemi burada bir kez daha öne çıkmaktadır.

Lahoti ve ark.'nın (61) çalışmasında ayrıca p53 genindeki mutasyonun metastaz ve rekürrensler ile yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bizim vaka serimizde metastazlarda p53 pozitif olan üç hastanın primer tümörlerine ait parafin bloklar elimizde olmadığından bu konu hakkında yorum yapılamamıştır.

Huang ve ark. (63) yaptıkları çalışmada p53 geni disfonksiyonunun pek çok tümörde kritik bir mediatör olan VEGF'nin regülasyonunda rol oynadığını ileri sürerek bu konu ile ilgili diğer çalışmaları (86, 111) desteklemektedirler. Ancak Huang ve ark.'larının çalışmasında sadece üç farklı seyir özelliğinde üç adet WT kültüre ekilmiştir. Bizim çalışmamızda ise VEGF ekspresyonu ile p53 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Anjiogenez yeni damar oluşumu şeklinde tanımlanır ve solid tümörlerin büyümelerinde ve metastazlarında rol oynadığı düşünülmektedir (67). Bu bilgi ışığında solid tümörlerin tedavisinde antianjiogenik ajanların yeri hakkında çalışmalar yapılmaktadır. Anjiogenez dokudaki damarların işaretlenerek sayılması yöntemi ile kantitatif olarak değerlendirilebilir.

Mikrodamar yoğunluğunun prognoz üzerine olan etkisi farklı tümörlerde araştırılmıştır. Tanigawa ve ark.'nın (74) özofagus skuamöz hücreli karsinomu, Kaku ve ark.'nın (66) 85 Evre I ve II'deki endometrium karsinomu ve Taş ve ark.'nın (112) 120 meme kanseri vakasında yaptıkları çalışmalarda mikrodamar yoğunluğu prognoz üzerine etkili bulunmuştur. Sköldenberg ve ark. (67) da WT'de benzer bir ilişki saptamışlardır. Tüm bu çalışmalarda mikrodamar yoğunluğu arttıkça prognoz kötüye gitmektedir. Çalışmamızda mikrodamar yoğunluğu ve sürvi arasında  $p=0,059$  gibi anlamlılık düzeyine oldukça yakın bir sonuç elde edilmiştir. Vaka sayısının artması ile bu değer anlamlılık düzeyine ulaşacağına inanılmaktadır.

VEGF, üzerinde çalışılan birkaç anjiogenik faktörden biridir. Endometrium karsinomu (113), memenin invaziv duktal karsinomu (114), böbrek hücreli karsinom (115), kolon karsinomu (116) gibi pek çok tümörde mikrodamar yoğunluğu ve VEGF birbirleri ile ilişkili bulunmuştur. WT'de VEGF ekspresyonu ile ilgili çalışmalar genellikle hayvan çalışmaları ve hücre kültürleri ile yapılan deneysel çalışmalar olup anaplazik WT'de anjiogenezin baskılanmasının tedaviye dirençli vakalarda alternatif tedavi olarak kullanılması yönündedir. Hastalara ait nefrektomi materyalleri üzerinde yapılan çalışmalar oldukça azdır.

Çalışmamız kapsamında değerlendirilen parametreler ile VEGF arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

WT'de VEGF ekspresyonu hakkındaki bir çalışmada epitelyal ve blastemal komponentin özellikle belirgin pozitive gösterdiği belirtilmektedir (87). Çalışmamız bu bulguyu destekler niteliktedir. Ancak bizim vakalarımızda dikkati çeken bir bulgu epitelyal komponentte tubuler yapıların hücre sitoplazmalarında lümen tarafında pozitiflik göstermesidir. Literatürde bu konu hakkında herhangi bir bulgudan söz edilmemektedir.

Kim ve ark. (69) nöroblastom ve WT üzerine yaptıkları deneysel çalışmada WT'nün nöroblastomun aksine antianjiogenik tedaviye yanıt verdiğini saptamışlardır.

Sköldenberg ve ark. (67) Wilms tümörüne ait 46 nefrektomi materyalinde anjiogenik büyüme faktörleri (VEGF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\alpha$ , ... gibi) ve mikrodamar yoğunluğu belirleyicileri (CD31, CD34, ... gibi) üzerinde çalışmışlar, kapiller sayısı arttıkça prognozun kötüleştiğini belirlemişlerdir. Ancak hasta sayılarının az oluşu ve geniş zaman aralığı nedeni ile tedavi protokollerinin farklı oluşunun bu sonucun güvenilirliğini bozduğunu da belirtmişlerdir. VEGF dışındaki büyüme faktörleri ile tümör hücrelerinde immünohistokimyasal reaksiyon gözlerken, VEGF ile vasküler endotelin lümen tarafında immünopozitive belirlemişlerdir. Kullandıkları VEGF antikorunun poliklonal veya monoklonal olduğuna dair herhangi bir bilgi vermedikleri gibi tümör hücrelerinin VEGF ile reaksiyonu hakkında da sonuç bildirmemişlerdir.

Kayton ve ark. (86) yaptıkları hayvan çalışmasında ise ELISA ve immünohistokimya kullanılarak VEGF ile metastazlar arasında ilişki araştırmışlar ve VEGF'nin metastaz ile anlamlı korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Kullandıkları anti-VEGF antikoruna poliklonal olup ekstrasellüler matrikste belirgin pozitif immünreaksiyon göstermiştir. Araştırmacılar VEGF'nin ekstrasellüler matrikste heparan sülfata bağlanarak endoteli aktive ettiğini ileri sürmüşlerdir.

Bizim vakalarımızda ise tümör hücreleri sitoplazmaları ve vasküler endotel birlikte pozitif immünreaktivite göstermiştir. Ancak mikrodamar yoğunluğu ile VEGF ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Vakalarımızın 13'ü (%20,6) tümör hücrelerinde VEGF ile sitoplazmik pozitif immünreaksiyon göstermiştir. Kullandığımız antikor monoklonal olup ekstrasellüler matrikste çok belirgin boyanma özelliği göstermeyip, genellikle dikkat çekici biçimde tümör hücre sitoplazmalarında pozitif reaksiyon vermiştir. Sadece çevre böbrek dokusunda tubulus epitellerinde muhtemel çapraz reaksiyona bağlı pozitiflik izlenmiştir.

Çalışmamızda yer alan anaplazi içeren tümörlerde anaplazik hücrelerin bazıları VEGF ile pozitif immünreaktivite gösterirken bazıları hiç boyanma göstermemiştir. Buradan yola çıkarak anaplazik hücrelerin VEGF ekspresyonu açısından ayırıcı bir özellik içermediği düşünülebilir. Anaplazik hücrelerde VEGF ekspresyonu hakkında yayın sayısı çok azdır ve bizim bulgumuza benzer bir bulguya literatürde rastlanmamıştır.

Rowe ve ark. (71) deneysel anaplazik WT modelinde anti-VEGF terapötik maddenin primer tümörde büyümeyi ve metastazi süprese ettiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmacılar başka bir çalışmalarında WT'de çevre böbrekteki düzenli damar çatısının aksine düzensiz, rastgele yerleşmiş bir damar yatağının olduğunu göstermişlerdir. Bu düzensiz damar yatağından VEGF'nin sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (85).

Karth ve ark. (87) WT'de VEGF ekspresyonu ve VEGF'i düzenleyen hipoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ )'nın ekspresyonunu saptamışlardır. Hipoksinin tümörde anjiogenezi indükleyen bir mekanizma olduğunu destekleyen bu bulgu WT'de hipoksi mekanizmalarını hedefleyen yöntemlerin tedavide kullanılabileceği yönünde bir ışık yakmıştır.

Anjiogenez hakkındaki bütün bu yayınlara bakıldığında WT'de anjiogenezden sorumlu faktörün VEGF olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak bizim çalışmamızda 63 WT vakasında sadece 13'ünde VEGF ekspresyonunun varlığı WT'de belki de farklı büyüme faktörlerinin anjiogenezden sorumlu olabileceği olasılığını akla getirmektedir. Bu konuda daha geniş vaka serileri ile ve nefrektomi materyalleri üzerinde yapılan çalışmaların artırılmasının WT'de antianjiogenetik tedavi seçenekleri bakımından faydalı olacağına inanılmaktadır.

Telomeraz ökaryotik hücrelerde kromozom uçlarında bulunan TTAGGG nükleotidlerinden oluşan hücre bölünmesinin sürekliliğini sağlayan telomer olarak adlandırılan yapıların sentezinden ve bu yapıların DNA zincirinin 5' ucuna eklenmesinden sorumlu ileri derecede özelleşmiş bir enzimdir. Somatik hücrelerin çoğunluğunda telomeraz inaktif olmakla birlikte aşırı proliferatif hücrelerde (deri hücreleri, intestinal kriptaları döşeyen hücreler, germ hücreleri, lenfoid hücreler gibi) telomeraz aktivitesi belirlenmiştir (88, 89, 93). Telomeraz, RNA komponenti (hTERC) ve katalitik ünite (hTERT) olmak üzere iki ana komponentten oluşur. Katalitik ünite komponenti (hTERT) telomeraz aktivitesinin major belirleyicisidir (94, 95).

Hücrelerin telomeraz sayesinde ölümsüzlük kazanması ve pek çok malign tümörde az da olsa ölümsüz hücre bulunduğu düşünülerek normal ve benign dokular da dahil olmak üzere çok çeşitli doku örneğinde telomeraz aktivitesi araştırılmıştır.

Telomeraz aktivitesi akciğer karsinomlarında çeşitli çalışmacılar tarafından incelenmiştir.

Hiyama ve ark. (97) çalışmaya aldıkları 11 KHAK'nin (küçük hücreli akciğer karsinomu) hepsinde TRAP yöntemi ile artmış telomeraz aktivitesi belirlemişlerdir. Aynı çalışmaya alınan 125 KHDAK'de çeşitli düzeylerde telomeraz aktivitesi gördükleri gibi

KHDAK'li (küçük hücreli dışı akciğer karsinomu) hastaların bazılarında telomeraz aktivitesi saptayamamışlardır.

Albanell ve ark. (100), yine TRAP yöntemi kullanarak akciğer karsinomlarında yaptıkları bir çalışmada KHDAK'lerde ileri evre tümörlerde erken evrelere göre anlamlı derecede yüksek telomeraz aktivitesi belirlemişlerdir. Çalışmacıların işaret ettikleri diğer bir nokta ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da telomeraz aktivitesinin yüksek bulunduğu KHDAK'lerin daha kötü prognozlu olmalarıdır.

Kumaki ve ark. (95), Albanell ve ark.'nın (100) aksine akciğer karsinomlarında evre ve telomeraz aktivitesi arasında herhangi bir korelasyon belirlememişlerdir. Ancak metastaz saptanan olgularda primer tümörde telomeraz aktivitesinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Ancak metastaz görülmeyen, fakat kötü seyreden tümörlerde de yine yüksek telomeraz aktivitesi belirlemişlerdir.

Yashima ve ark. (117) bronkojenik akciğer karsinomlarında TRAP yöntemi ile in situ lezyonlarda hTRC'nin saptanmasının invazyonun bir habercisi olabileceğini ve erken tanıda kullanılabileceğini öne sürmektedirler.

Akciğer karsinomları telomeraz aktivitesine yönelik yapılan çalışmaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Farklı vaka serilerinde değişen bu sonuçlar daha geniş kapsamlı çalışmalar ile desteklenmelidir. Akciğer karsinomlarında telomerazın bazı yayınlarda evre bazılarında da kötü prognoz ve metastazlar ile ilişkili bulunması bu enzimatik aktivitenin WT üzerine etkisi konusunda merakımızı uyandırmıştır.

WT'de metastaz ile telomeraz aktivitesi ve evre ile telomeraz aktivitesi arasında ilişki varlığını araştırmaya yönelik çalışmalar henüz yapılmamıştır.

Dome ve ark. (107) uygun histolojili WT'lerde TRAP yöntemi ile saptanan hTERT mRNA düzeylerinin rekürrens ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda vakaların sadece %19'unda telomeraz aktivitesi belirlenmiş ancak bu pozitivite ile evre, histolojik tip, anaplazi ve sürvi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca metastaz ile telomeraz aktivitesi de birbirleri ile ilişkili değildir. Primer tümörüne ait parafin bloğuna ulaşamadığımız ancak metastazına ait parafin bloklar üzerinde inceleme yapabildiğimiz dört vakada, hTERT immünreaktivitesi biopsi ile alınan doku örneğinde negatif iken, diğer üç vakada çeşitli derecelerde pozitivite gösterdiği tespit edilmiştir. Telomeraz aktivitesi yüksek olarak saptanan, metastazından bir sene sonra lokal nüks belirlenen bir vakada aynı yüksek oranda pozitivite belirlenmiştir. Bir yıl ara ile iki kere metastazla prezante olan vakada birinci metastazda negatif olduğu halde, ikinci metastazda yüksek telomeraz aktivitesi saptanmıştır. Vaka sayısı oldukça kısıtlı olduğu halde incelenen bu dört metastatik vaka Kumaki ve ark.'larının (95) akciğer karsinomlarında metastaz ile telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkiye benzer bir ilişkinin WT'de de olabileceği olasılığını düşündürebilir. Ancak primer tümöründe telomeraz aktivitesi araştırılan vaka grubumuzda telomeraz aktivitesi belirlenen dört vakada metastaz oranı %50'dir. Vaka sayımızın yeterli olmaması konu hakkında ileri yoruma gidilmesini neredeyse imkansız kılmaktadır. Çalışmaların daha çok vaka üzerinde yapılması daha doğru sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.

Günümüzde telomeraz aktivitesinin belirlenmesine yönelik çalışmaların önemli bir kısmında PCR tabanlı TRAP yönteminin kullanıldığını görmekteyiz. Akciğer karsinomları (97, 100, 117), benign ve malign meme lezyonları (105, 118), Wilms tümörü (107), proliferasyon ve sekresyon fazında endometrium (119), santral sinir sistemi tümörleri (120), kolorektal kanserler (121) ve mezotelyoma (99) ile ilgili çalışmalarda hep TRAP yönteminin kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bunun yanı sıra immünohistokimyasal yöntemler de denenmiştir. Vulvar intraepitelyal neoplazi (VIN) (122), bazı KHDAK'leri

(123), nöroblastom (103) ve karaciğer dokusu (124) immünohistokimyasal yöntem kullanılan çalışmalara örnek teşkil etmektedir.

Telomeraz aktivitesinin belirlenmesinde immünohistokimyanın TRAP kadar etkin olup olmadığının araştırıldığı çalışma çok azdır. Telomeraz aktivitesinin saptanmasında kullanılan yöntemler üzerine yapılan en kapsamlı çalışma olarak Kumaki ve ark.'nın (95) 115 akciğer karsinomu ile yaptıkları çalışma örnek gösterilebilir. Bu çalışmada TRAP, immünohistokimya ve in situ hibridizasyon yöntemleri her tümöre uygulanmış ve TRAP ile telomeraz aktivitesi saptanan tümörlerde diğer iki yöntem ile de telomeraz aktivitesinin belirlendiği bildirilmiştir. Benzer bir bulgu da Kumamoto ve ark.'nın (125) TRAP ile belirledikleri telomeraz aktivitesinin immünohistokimyasal olarak da gösterildiği 21 ameloblastom vakası üzerinde yaptıkları çalışmada bildirilmektedir. Ancak bu konu ile ilgili yayınların çok kısıtlı olması doğru bir sonuca varmayı güçleştirmektedir. Çalışmalar artırılarak en güvenilir ve rutin uygulamada kullanılacak pratik yöntemler belirlenmelidir.

Çalışmamızda immünohistokimya kullanılmış, tümöral dokularda telomeraz aktivitesinin varlığı bilindiğinden hemen hemen tümünde pozitif immünreaktivite beklediğimiz halde vakaların sadece %19'unda pozitivite saptanmıştır.

Telomeraz aktivitesinin negatifliği nedenleri hakkında çeşitli araştırmacılar tarafından bazı olasılıklar bildirilmektedir. Bu olasılıklar, telomerazın devreye girmesi ile telomerlerin yeniden uzamasının telomerazı baskılaması, hücrelerin istirahat döneminde olmaları, telomeraz negatif tümörlerde telomeraz dışında alternatif mekanizmaların varlığı şeklinde sıralanabilir (100, 123, 126).

Telomeraz regülasyonundaki bozukluk ve p53 geni mutasyonu kanser gelişiminde ve progresyonunda önemli rol oynayan olaylardır. Maniwa (127), KHDAK'lerinde p53 ile telomeraz aktivitesi arasında kuvvetli bir ilişki ortaya koymuştur. p53 gen mutasyonu ve

yüksek telomeraz aktivitesi birlikteliğinin hücre bölünme hızını arttırdığını ve kötü diferansiasyona neden olduğunu öne sürmüştür. Buna karşın Brown ve ark. (121) kolorektal kanserler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, çalışmaya aldıkları tümörlerin tümünün yüksek telomeraz aktivitesi gösterdiğini, ancak bu aktivitenin p53 mutasyonlarından bağımsız olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda p53 proteininin ekspresyonu ile telomeraz immünreaktivitesi arasında antikorların boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında ileri düzeyde anlamlı bir ilişki varlığı görülmektedir. Wilms tümörlerinde henüz böyle bir çalışma yapılmamış olmasına rağmen bu bulgu bazı WT'lerinin patogenezinde p53 mutasyonu ve telomeraz enzim aktivitesinin birlikte rol oynayabilecekleri olasılığını düşündürülebilir.

Sonuç olarak, Wilms tümörü ile ilgili pek çok araştırılacak konu başlığı olduğu görülmektedir. Histomorfolojik olarak oldukça karmaşık bir tümör olmakla birlikte evreleme sistemlerinin yıllar içinde gelişmiş olması, anaplazinin değişen tanımlamaları ve bunlara göre düzenlenen tedavi seçenekleri ile sürvi şansının %90'lara ulaşmış olması sevindiricidir. Hasta yaşının sürvi ile anlamlı ilişkili bulunması ve anaplazinin iki yaş altındaki vakalarda görülmemesi, sürvi ile istatistiksel olarak ilişkili bulunmasa da, anaplazinin kötü prognoz yönünde bir işaret olarak kabul edilmesi doğru olacaktır. Makroskopik değerlendirmenin hastalığın evresini ve tedavi protokünü değiştirme olasılığı, dikkatle yapılması gerektiğini bir kez daha vurgulamaktadır.

p53 immünreaktivitesinin Wilms tümörü ile ilgili çeşitli klinikopatolojik parametreler ile literatürde çelişen bulguların varlığı bu tümörde p53 mutasyonunun henüz bilinmeyen bir bölgede olma olasılığını akla getirebileceği gibi wild-type p53'ün hücrede birikmesine yol açan bir faktörün bazı Wilms tümörlerinde varlığını düşündürmesi kaçınılmazdır. Ayrıca Wilms tümöründe farklı patogenetik mekanizmaların varlığının saptanması p53 mutasyonunun her Wilms tümörü için geçerli olamayacağını hatırlatmalıdır.

Pek çok tümörde olduğu gibi mikrodamar yoğunluğunun Wilms tümöründe sürvi ile ilişkili olması muhtemeldir. Ancak VEGF'in mikrodamar yoğunluğu ile korelasyon göstermemesi bu tümörde farklı anjiogenik büyüme faktörlerinin rol oynayabileceğini düşündürmelidir.

Telomeraz enzim aktivitesi Wilms tümörü için oldukça yeni bir araştırma konusudur. Telomeraz aktivitesi değerlendirilirken kullanılan yöntemin önem taşıdığı görülmektedir.

Wilms tümörü, patogenetik mekanizmalar, histomorfolojik özellikler, kötü prognoza yol açan faktörler, yeni terapötik ajanların kullanımı ve çeşitli tümöral moleküller ile merak ve araştırma konusu olmaya devam edecektir. Çalışmamız immünhistokimyasal yöntemlerle desteklenerek yapılmış olup, daha önce Anabilim Dalı'mızda 1934-1988 yılları arasındaki (110) Wilms tümörü vakalarını kapsayan çalışmanın devamı niteliğindedir. İleriki yıllarda oluşturulacak yeni seriler ve gelişmiş teknik yöntemler ile devam edecek çalışmalara temel oluşturmaktadır.

## SONUÇLAR

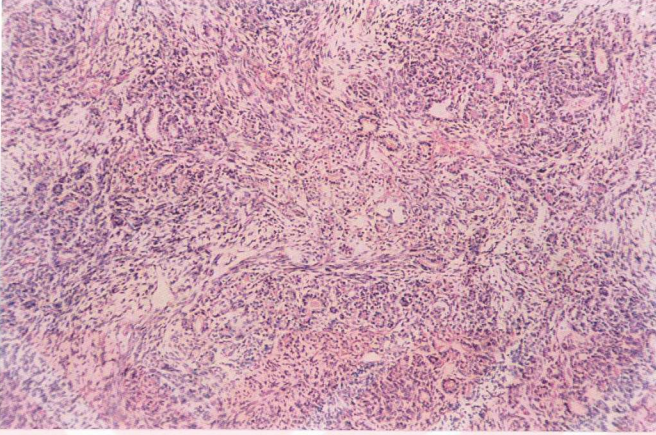
- 1- İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1984-2002 yılları arasında incelenen 166 çocukluk çağı böbrek tümörleri içinde Wilms tümörü yaklaşık %73'lük bir oranla en sık görülen tümördür.
- 2- Vakaların yaşları 2 ay ile 180 ay arasında değişmekte olduğu görüldü ve yaş ortalaması  $3,6 \pm 2,73$  yaş olarak saptandı.
- 3- İleri yaştan kötü prognostik olduğu istatistiksel olarak da anlamlı bulundu, 3 yaş ve altı grupta %95 sağkalım oranı belirlendi ( $p<0,05$ ).
- 4- Her iki cinsiyet arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır ( $E:K=1,1:1$ ).
- 5- Serimizde kaynaklardaki verilere benzer şekilde klasik trifazik tip %59,1'lik bir oranla en sık görülen histolojik tiptir.
- 6- Histolojik tip ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p<0,05$ ). Buna göre blastemal baskın tip, üç yaş üzerinde en sık görülen histolojik tiptir. Saptadığımız bu anlamlılık, blastemal baskın tipin kötü prognozu işaret edebileceği bilgisi ile uyumludur.

- 7- Vakaların önemli bir kısmı (%70.3) Evre I ve Evre II tümörlerden oluşmaktadır. Evreler ile tümör çapı ve materyalin ağırlığı arasında anlamlı ilişkinin varlığı ilginç bulunmadı. Tümörün büyüdükçe yaygınlığının artması beklenen bir sonuçtur.
- 8- Anaplazinin görülme oranı %14,3 olarak belirlendi. Genel yayınlarda bahsedilen anaplazi ile yaş arasındaki anlamlı ilişki çalışmamızda belirlenemese de 2 yaş altındaki hiçbir vakamızda anaplazinin görülmemesi dikkat çekicidir.
- 9- p53 immünreaktivitesi evre, anaplazi, histolojik tip ve sürvi ile ilişkili bulunmadı ( $p>0,05$ ).
- 10- Mikrodamar yoğunluğu sürvi ile anlamlılık düzeyine oldukça yakın bir ilişki sergilemektedir ( $p=0,059$ ), ancak evre, histolojik tip ve anaplazi ile ilişkili değildir ( $p>0,05$ ). Anjiogenezin tümör büyümesinde ve metastazlarda önemli rol oynaması sürvi ile anlamlılık düzeyine yakın bir ilişki göstermesini desteklemektedir.
- 11- Mikrodamar yoğunluğunun, anjiogenik faktörlerden VEGF (vascular endothelial growth factor) ile ilişki olmaması Wilms tümöründe anjiogenezden farklı bir büyüme faktörünün sorumlu olabileceği düşüncesini doğurmaktadır.
- 12- VEGF (vascular endothelial growth factor) ve telomeraz aktivitesi evre, histolojik tip, anaplazi ve sürvi ile ilişkili bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

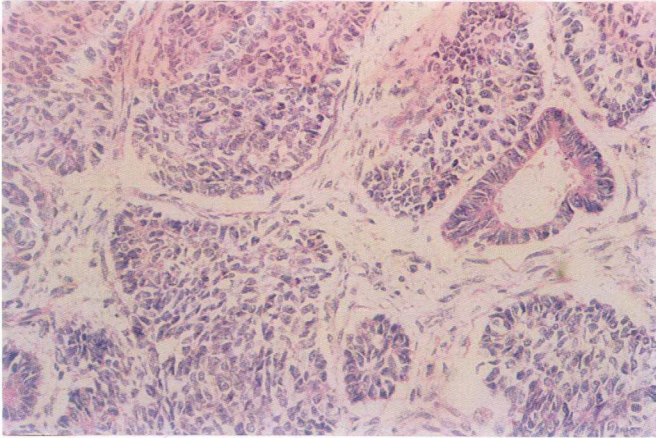
13- Telomeraz aktivitesi Wilms tümörlerinin sadece %19'unda saptanmıştır. Ancak malign dokuların tümünde telomeraz enziminin aktif olduğuna inanıldığından ve genellikle TRAP yöntemi kullanılarak belirlendiğinden telomeraz aktivitesinin belirlenmesinde immünohistokimyanın yeri henüz tartışmalıdır.

14- p53 ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi, immünohistokimyasal yöntemle kullanılan monoklonal antikor ile boyanma yüzde oranları açısından karşılaştırıldıklarında aralarında ileri düzeyde anlamlı bir ilişki olduğu dikkati çekmektedir ( $p > 0,001$ ). Bu bulgu bazı Wilms tümörlerinin patogeneğinde p53 mutasyonu ve telomeraz aktivitesi regülasyon bozukluğunun birlikte rol oynayabileceğini düşündürülebilir.

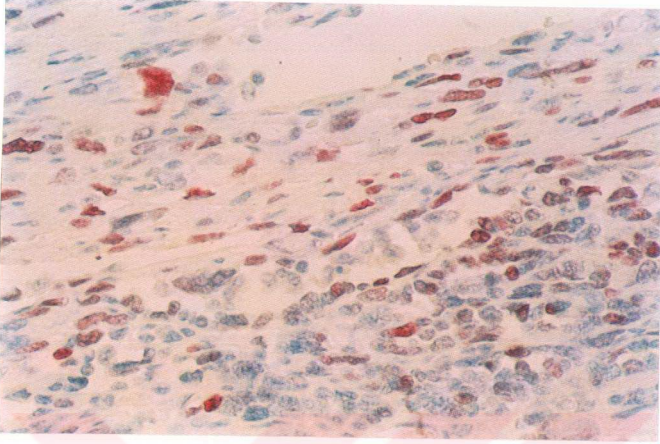
## RESİMLER



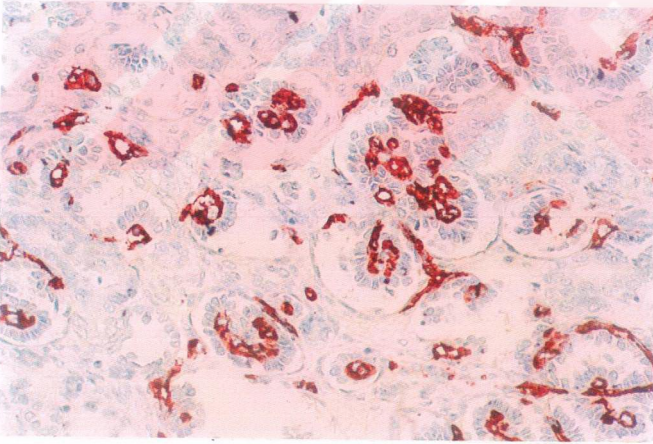
Resim 1: Klasik trifazik tipte bir WT vakasında blastemal hücreler, tubuler yapılar ve arada mezenkimal doku (Prot. No.: 26593/2002, H&E, x125)



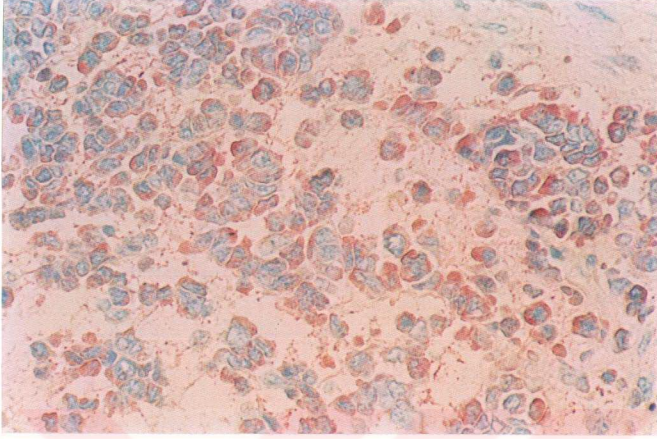
Resim 2: Klasik trifazik WT'de blastemal ve epitelyal yapılar. (Prot. No.: 3497/2000, H&E, x310)



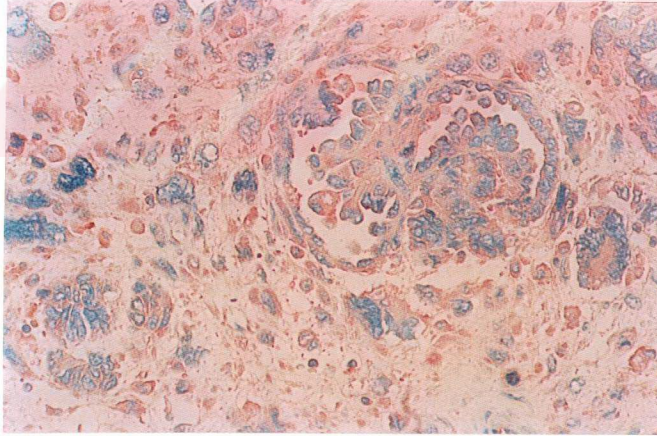
Resim 3: Klasik trifazik tipte WT'de tümör hücrelerinde, anaplazik hücrelerde de pozitifliğin eşlik ettiği p53 immünreaktivitesi. (Prot. No: 8183/93, p53, x500)



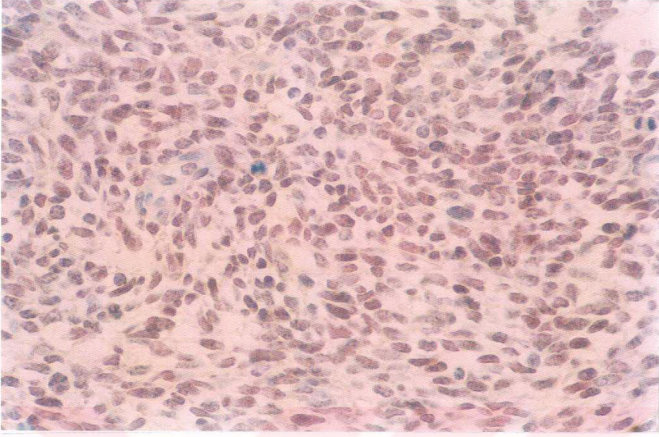
Resim 4: Klasik trifazik tipte WT'de mikrodamar çatısı (MDY=77). (Prot. No. : 18863/96, CD34, x310)



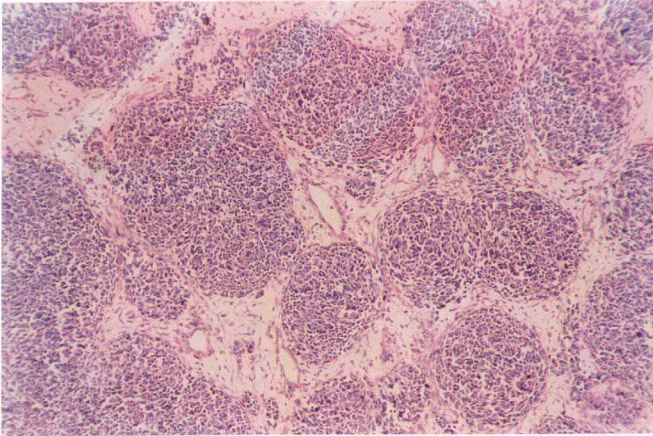
Resim 5: Klasik trifazik tipte WT'de akciğer metastazında tümör hücreleri sitoplazmalarında VEGF immünreaktivitesi (Prot. No. : 5990/97, VEGF, x500)



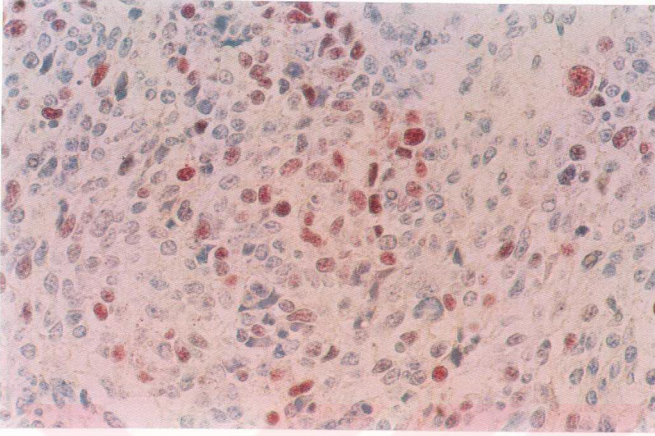
Resim 6: Klasik trifazik WT'de tümör hücreleri sitoplazmalarında, anaplazik hücrelerde ve endotel hücrelerinde VEGF immünreaktivitesi. (Prot. No.: 4879/92, VEGF, x310)



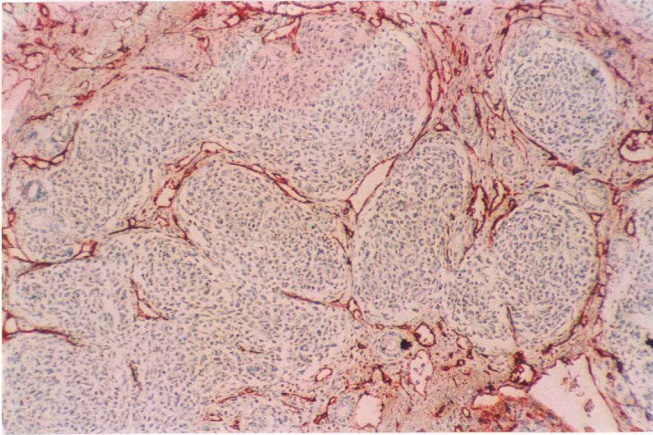
Resim 7: Klasik trifazik tipte WT'de blastemal alanda nukleer zayıf telomeraz immünreaktivitesi (Prot. No.: 3378/86, hTERT, x500)



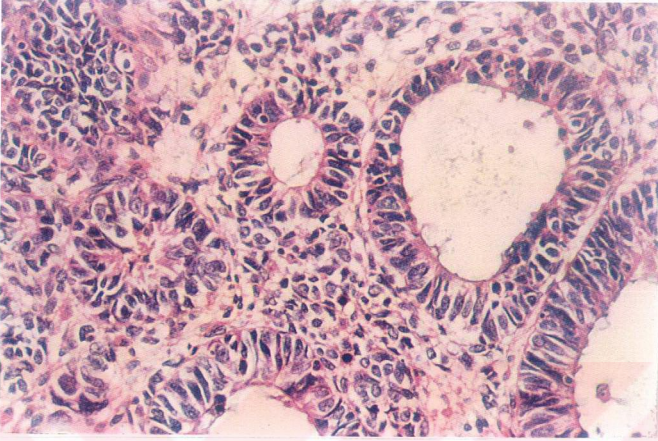
Resim 8: Blastemal baskın tipte WT'de blastemal hücrelerin oluşturduğu nodüler patern. (Prot. No.: 13998/2001, H&E, x125)



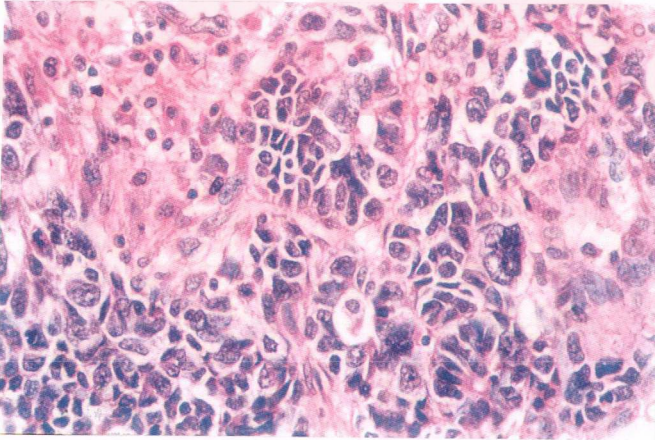
Resim 9: Blastemal baskın tipte WT'de karaciğer metastazında tümör hücrelerinde anaplazik hücrelerde de saptanan nükleer p53 immünreaktivitesi. (Prot. No.: 15172/89, p53, x500)



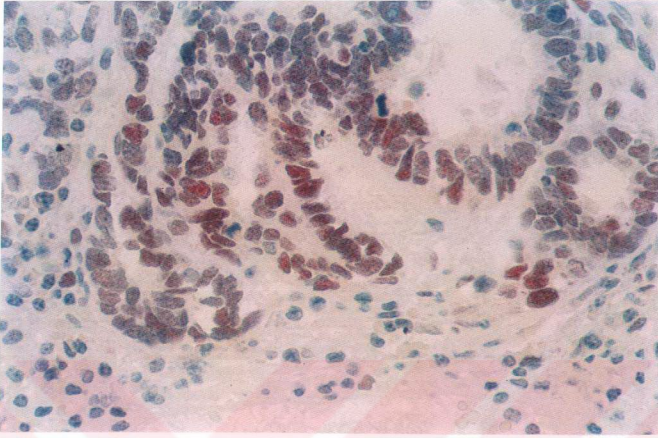
Resim 10: Blastemal baskın tipte WT'de mikrodamar çatısı. (MDY=218). (Prot. No.: 1869/84, CD34, x125)



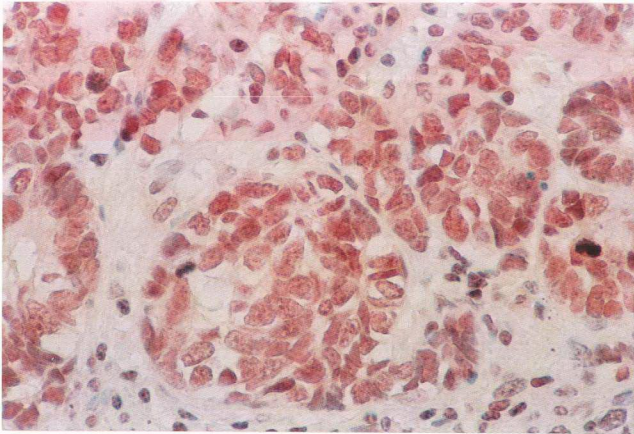
Resim 11: Epitelyal baskın WT'de tubuler yapılar. (Prot. No.: 22541/98, H&E, x310)



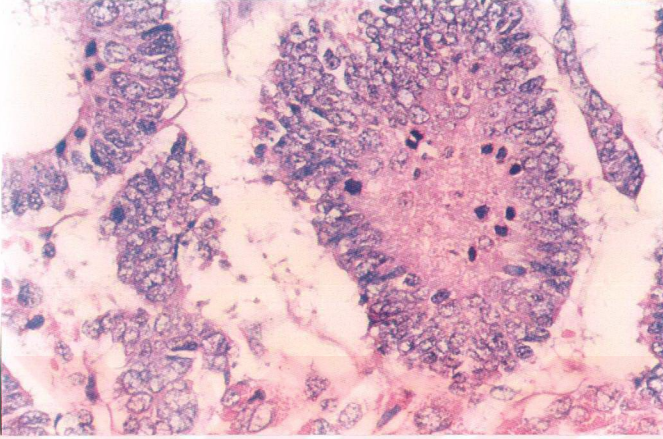
Resim 12: Aynı vakada anaplazik hücreler. (Prot. No. : 22541/98, H&E, x500)



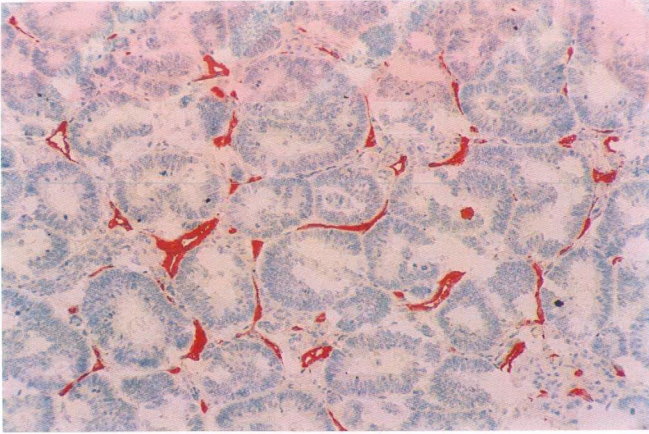
Resim 13: Aynı vakada nukleer p53 immünreaktivitesi. (Prot. No.: 22541/98, p53, x500)



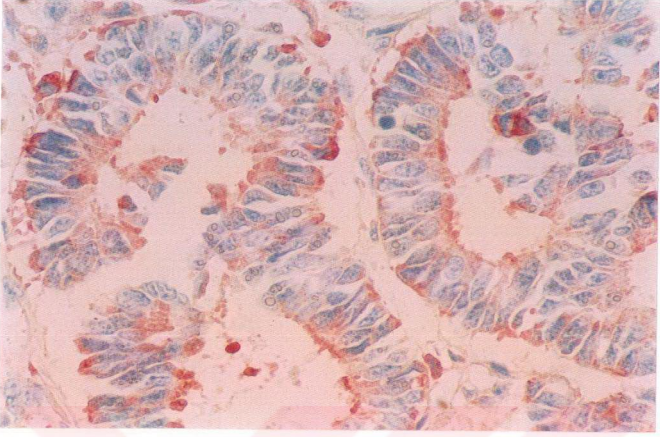
Resim 14: Aynı vakada epitelyal yapılarda kuvvetli nukleer telomerez immünreaktivitesi. (Prot. No. : 22541/98, hTERT, x500)



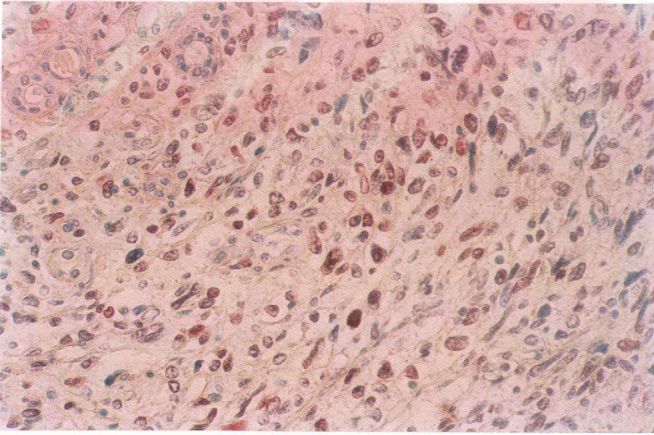
Resim 15: Epitelyal baskın WT'de lokal nükse ait materyalin kesitlerinde epitelyal yapılarında atipik olmayan çok sayıda mitoz. (Prot. No.: 13475/95, H&E, x500)



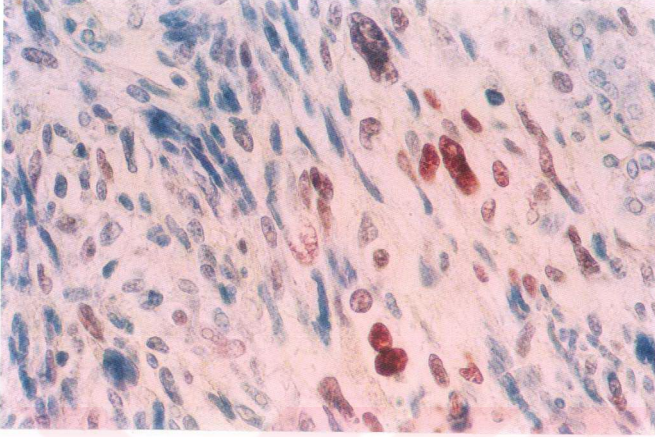
Resim 16: Aynı vakada mikrodamar çatısı. (MDY=158,4 ).  
(Prot. no. : 13475-95, CD34, x125)



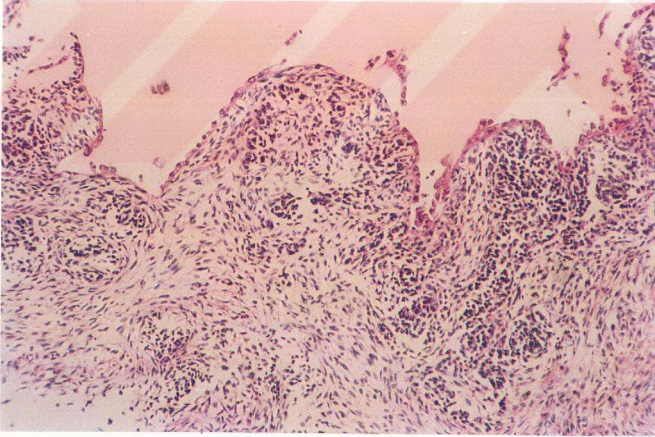
Resim 17: Epitelyal baskın WT'de lokal nüks materyaline ait kesitlerde tubuler yapıların lümen tarafında sitoplazmik VEGF immünreaktivitesi. (Prot. no. : 3028-97, VEGF, x500)



Resim 18: Erişkin vakada mezenkimal baskın WT'de nükleer p53 immünreaktivitesi. (Prot. No.: 4199/85, p53, x310)



Resim 19: Aynı vakada anaplazik hücrelerde nükleer p53 immünreaktivitesi.  
(Prot. no.: 4199-85, p53, x500)



Resim 20: Kistik parsiyel diferansiye nefroblastomda septaları döşeyen immatür  
(blastemal) hücreler. (Prot. no. : 27031-98, H&E, x125)

## ÖZET

Wilms tümörü çocukluk çağının en sık görülen böbrek tümörü olması, histopatolojik özellikleri bakımından heterojen oluşu ve prognozunun iyi olduğu bilinen bir tümör olması bakımından literatürde pek çok alanda yer almaktadır. Etyopatogenezi henüz kesin olarak bilinmemektedir. En sık 2-5 yaşları arasında görülmekte, genellikle tesadüfen farkedilen karında kitle şikayeti ile prezante olan, blastemal, epitelyal ve stromal komponentleri ile zengin histolojiye sahip bir tümördür.

Bazı tümörlerde atipik mitozlar, hiperkromazi ve nükleer üç kat büyüme ile karakterize anaplazik hücreler görülmektedir. Bu hücrelerin tümörün agresifliğinden ziyade tedaviye direnci arttırdığına inanılmaktadır. Son yıllardaki tedavi protokolleri 1969 yılından bu yana NWTS (National Wilms Tumor Study) grubunun geniş vaka serileri oluşturarak yaptıkları çalışmaların sonucuna göre anaplazi içeren olgulara daha agresif tedavi uygulanması yönündedir.

Wilms tümöründe tedavi şansının %90 olmasına rağmen bazı hastaların tümörlerinde anaplazi içermedikleri ve başka bilinen kötü prognostik özellikler taşımadıkları halde beklenmedik bir şekilde kötü seyretmelerinin merak konusu olması, çalışmaların bu hastalara da uzun ve kaliteli yaşam sağlama yolunda yapılması sonucunu doğurmuştur.

Bu çalışma 1984-2002 yılları arasında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenen 114 Wilms tümörünü kapsamaktadır. Bu tümörler üzerinde yaş, evre, histolojik tip ve anaplazi gibi geleneksel histopatolojik ve klinik parametrelerin yanı sıra immünohistokimyasal yöntem kullanılarak p53, anjiyogenez değerlendirilmesi için CD34 ve VEGF (vascular endothelial growth factor) ve telomeraz aktivitesi immünreaktivitesi araştırılmıştır. Ayrıca tüm bu parametrelerin sağkalım oranları üzerine olan etkisi değerlendirilmeye alınmıştır.

Değerlendirilen parametreler arasında yaş sürvi ile ilişkili bulunmuştur. Yaşı için üzerinde olan vakaların daha kötü seyretmesi beklenmelidir. Ayrıca iki yaş altındaki hiçbir vakada anaplazi varlığı söz konusu değildir. Anaplazinin sürviye etkisi istatistiksel olarak gösterilememiş olmasına rağmen bu bulgu anaplazinin yaş ile artış gösterdiği görüşünü desteklemektedir.

Mikrodamar yoğunluğu olarak tarif edilen, incelenen dokudaki ortalama damar sayısı sürvi ile istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine oldukça yakın bulunmuştur. Tümörlerin büyümesinde ve metastazlarında anjiogenezin rolü olduğu bilindiğine göre bu hiç de şaşırtıcı değildir.

Mikrodamar yoğunluğunun anjiogenetik büyüme faktörlerinden VEGF (vascular endothelial growth factor) ile ilişkili bulunmaması Wilms tümörlerinde VEGF'den farklı bir ajanın anjiogenezden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda çeşitli tümörlerde varlığı belirlenen, hücrelerin ölümsüzlüğünden sorumlu olduğuna inanılan telomeraz enzim aktivitesi, incelenen histopatolojik ve klinik parametrelerin hiçbiri ile ilişkili bulunmamakla birlikte sadece p53 immünreaktivitesi ile ileri düzeyde anlamlılık göstermektedir. Saptanan bu anlamlılık, Wilms tümörlerinden bazılarının patogeneğinde p53 mutasyonunun ve telomeraz aktivitesinin birlikte rol oynayabilecekleri görüşünü ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak Wilms tümörü, patogenetik mekanizmalar, histomorfolojik özellikler, kötü prognoza sebebiyet veren faktörler, yeni terapötik ajanların kullanımı ve çeşitli tümöral moleküller ile merak ve araştırma konusu olmaya devam edecektir.

## KAYNAKLAR

1. Beckwith JB. Renal neoplasms of childhood. In: Sternberg SS, ed. *Diagnostic Surgical Pathology*, 3rd ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 1999, p.1825-1852.
2. Beckwith JB. Tumors of infancy and childhood. In: Murphy WM, Beckwith JB, Farrow GM, eds. *Tumors of the kidney, bladder, and related urinary structures: Atlas of tumor pathology*, 3rd series, Fascicle 11. Washington D.C.: Armed Forces Institute of Pathology; 1994, p. 12-91.
3. Zuppan CW, Beckwith JB, Luckey DW. Anaplasia in unilateral Wilms' tumor: a report from the National Wilms Tumor Study Pathology Center. *Hum Pathol* 1988; 19: 1199-1209.
4. Faria P, Beckwith JB, Mishra K, Zuppan C, Weeks DA, Breslow N, Green DM. Focal versus diffuse anaplasia in Wilms tumor - new definitions with prognostic significance: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 909-920.
5. Bonadio JF, Storer B, Norkool P, Farewell VT, Beckwith JB, D'Angio GJ. Anaplastic Wilms tumor. Clinical and pathologic studies. *J Clin Oncol* 1985; 3: 513-520.
6. Beckwith JB. Wilms tumor and other renal tumors of childhood: an update. *J Urol* 1986; 136: 320-324.
7. Beckwith JB. National Wilms Tumor Study: an update for pathologists. *Pediatr Dev Pathol* 1998; 1: 79-84.
8. D'Angio GJ, Breslow N, Beckwith JB, Evans A, Baum E, Delorimier A, Fernbach D, Hrabovsky E, Jones B, Kelalis P, Othersen B, Tefft M, Thomas PRM. Treatment of Wilms' tumor: results of the third National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1989; 64: 349-360.
9. Breslow NE, Churchill G, Nesmith B, Thomas PRM, Beckwith JB, Othersen HB, D'Angio GJ. Clinicopathologic features and prognosis for Wilms' tumor patients with metastases at diagnosis. *Cancer* 1986; 58: 2501-2511.
10. Breslow N, Sharples K, Beckwith JB, Takashima J, Kelalis PP, Green DM, D'Angio GJ. Prognostic factors in nonmetastatic, favorable histology Wilms' tumor: results of the third National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1991; 68: 2345-2353.

11. Breslow N, Churchill G, Beckwith JB, Fernbach DJ, Otherson HB, Teffe M, D'Angio GJ. Prognosis for Wilms' tumor patients with nonmetastatic disease at diagnosis – results of the second National Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol* 1985; 3: 521-531.
12. Green DM, Beckwith JB, Weeks DA, Moksness J, Breslow NE, D'Angio GJ. The relationship between microsubstaging variables, age at diagnosis, and tumor weight of children with stage I/favorable histology Wilms' tumor. *Cancer* 1994; 74: 1817-1820.
13. Pritchard-Jones K, Hastie ND. Wilms' tumour as a paradigm for the relationship of cancer to development. *Cancer Surv* 1990;9: 555-581.
14. Young JR, Ries LG, Silverberg E, Horm JW, Miller JW. Cancer incidence, survival, and mortality for children younger than age 15 years. *Cancer* 1986; 58: 598-602.
15. Jenkner A, Camassei FD, Boldrini R, De Sio L, Ravà L, Bosman C, Boglino C, Donfrancesco A. 111 renal neoplasms of childhood: a clinicopathologic study. *J Pediatr Surg* 2001; 36:1522-1527.
16. Breslow NG, Beckwith JB, Ciol M, Sharples K. Age distribution of Wilms' tumor: report from the National Wilms' Tumor Study. *Cancer Res* 1988;48: 1653-1657.
17. Breslow N, Olshan A, Beckwith JB, Green DM. Epidemiology of Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol* 1993; 21: 172-181.
18. Beckwith JB. Renal tumors in the pediatric patient. In: Tisher CC, Brenner BM, eds. *Renal pathology with clinical and functional correlations*, 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1994: p. 1513-1539.
19. Velasco S, D'Amico D, Schneider NR, Timmons C, Chappel E, Lee D, Nisen PD. Molecular and cellular heterogeneity of Wilms' tumor. *Int J Cancer* 1993; 53: 672-679.
20. Droz D, Rousseau-Merck MF, Jaubert F, Diebold N, Nezelof C, Adafer E, Mouly H. Cell differentiation in Wilms' tumor (Nephroblastoma): an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1990; 21: 536-544.
21. Stiller CA, Parkin DM. International variations in the incidence of childhood renal tumours. *Br J Cancer* 1990; 62: 1026-1030.
22. Porter KA. Tumours of the kidneys and renal complications of extrarenal cancer. In: Porter KA, Pagh RCB, eds. *Systemic Pathology*, 3rd ed. London: Churchill Livingstone; 1992, p. 569-624.
23. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Norkool P. Screening of children with hemihypertrophy, aniridia, and Beckwith-Wiedemann Syndrome in patients with Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study. *Med Pediatr Oncol* 1993; 21: 188-192.

24. Call KM, Glaser T, Ito CY, Buckler AJ, Pelietier J, Haber DA, Rose EA, Kral A, Yeger H, Lewis WH, Jones C, Housman DE. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus. *Cell* 1990; 60: 509-520.
25. Bown N, Cotterill SJ, Roberts P, Griffiths M, Larkins S, Hibbert S, Middleton H, Kelsey A, Tritton D, Mitchell C. Cytogenetic abnormalities and clinical outcome in Wilms tumor: a study by the U.K. Cancer Cytogenetics Group and the U.K. Children's Cancer Study Group. *Med Pediatr Oncol* 2002; 38: 11-21.
26. Waber P, Chen J, Nisen PD. Infrequency of ras, p53, WT1, or RB gene alterations in Wilms tumor. *Cancer* 1993; 72: 3732-3738.
27. Webber BL, Parham DM, Drake LG, Wilimas JA. Renal tumors in childhood. *Pathol Annu* 1992; 27: 191-232.
28. Coppes MJ. Serum biological markers and paraneoplastic syndromes in Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol* 1993; 21: 213-221.
29. Kern WF, Laszik ZG, Nadasdy T, SilvaFG, Bane BL, Pitha JV. Pediatric tumors and tumor-like conditions of the kidney. In: Kern WF, Laszik ZG, Nadasdy T, Silva FG, Bane BL, Pitha JV, eds. Atlas of renal pathology. USA: W.B. Saunders Company; 1999, p. 261-274.
30. Fernandez ER, Partham DM, Ribeiro RC, Douglass EC, Kumar M, Wilimas J. Teratoid Wilms' tumor: the St. Jude experience. *J Pediatr Surg* 1988;23: 1131-1134.
31. Variend S, Spicer RD, Mackinnon AE. Teratoid Wilms' tumor. *Cancer* 1984; 53: 1936-1942.
32. Wigger HJ. Fetal rhabdomyomatous nephroblastoma-a variant of Wilms' tumor. *Hum Pathol* 1976; 7: 613-623.
33. Joshi VV, Beckwith JB. Multilocular cyst of the kidney (cystic nephroma) and cystic, partially differentiated nephroblastoma: terminology and criteria for diagnosis. *Cancer* 1989; 64: 466-479.
34. Tireli GA, Özbey H, Kılıçaslan I, Lawrenz K, Salman T. Cystic partially differentiated nephroblastoma: report of two cases with a brief review. *Med Bull* 2000; 33: 94-96.
35. Beckwith JB, Kiviat NB, Bonadio JF. Nephrogenic rests, nephroblastomatosis, and the pathogenesis of Wilms' tumor. *Pediatr Pathol* 1990; 10: 1-36.
36. Beckwith JB. Precursor lesions of Wilms tumor: clinical and biological implications. *Med Pediatr Oncol* 1993; 21: 158-168.
37. Allsbrook WC, Boswell WC, Takahashi H, Pantazis CG, Howell CG, Martinez JE, Beck JR. Recurrent renal cell carcinoma arising in Wilms' tumor. *Cancer* 1991; 67: 690-695.

38. D'Angio GJ. Oncology seen through the prism of Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol* 1985; 13: 53-58.
39. Mierau GW, Weeks DA, Beckwith JB. Anaplastic Wilms' tumor and other aggressive childhood renal neoplasms: ultrastructural and immunocytochemical features. *Ultrastruct Pathol* 1989; 13: 225-248.
40. Beckwith JB. Wilms' tumor and other renal tumors of childhood: a selective review from the National Wilms Tumor Study Pathology Center. *Hum Pathol* 1983; 14: 481-492.
41. Douglass EC, Look AT, Webber B, Parham D, Wilimas JA, Green AA, Roberson PK. Hyperdiploidy and chromosomal rearrangements define the anaplastic variant of Wilms' tumor. *J Clin Oncol* 1986; 4: 975-981.
42. *Pediatric Onkoloji Grubu Wilms Tümörü Çalışma Protokolü kitapçığı*, 1998, sf. 35-50.
43. Larsen E, Perez-Atayde A, Green DM, Retik A, Clavell LA, Sallan SE. Surgery only for the treatment of patients with stage I (Cassady) Wilms' tumor. *Cancer* 1990; 66: 264-266.
44. D'Angio GJ, Evans A, Breslow N, Beckwith B, Bishop H, Farewell V, Goodwin W, Leape L, Palmer N, Sinks L, Sutow W, Tefft M, Wolff J. The treatment of Wilms' tumor: results of the second National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1981; 47: 2302-2311.
45. Breslow NE, Palmer NF, Hill LR, Buring J, D'Angio GJ. Wilms' tumor: prognostic factors for patients without metastases at diagnosis: results of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1978; 41: 1577-1589.
46. Beckwith JB, Palmer NF. Histopathology and prognosis of Wilms tumor: results from the first National Wilms Tumor Study. *Cancer* 1978; 41: 1937-1948.
47. Weeks D, Beckwith JB, Luckey DW. Relapse-associated variables in stage I favorable histology Wilms' tumor: a report of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1987; 60: 1204-1212.
48. Govender D, Harilal P, Hadley GP, Chetty R. p53 protein expression in nephroblastomas: a predictor of poor prognosis. *Br J Cancer* 1988; 77: 314-318.
49. Sredni ST, de Camargo B, Lopes LF, Teixeira R, Simpson A. Immunohistochemical detection of p53 protein expression as a prognostic indicator in Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol* 2001; 37: 455-458.
50. Levine AJ. The p53 tumor-suppressor gene. *N Eng J Med* 1992; 326: 1350-1352.
51. Delatte SJ, Hazen-Martin DJ, Re GG, Kelly JR, Sutphin A, Tagge EP. Restoration of p53 function in anaplastic Wilms' tumor. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 43-50.

52. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 4855-4878.
53. Baas IO, Mulder JR, Offerhaus JA, Vogelstein B, Hamilton SR. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol* 1994; 172: 5-12.
54. Barnes DM, Dublin EA, Fischer CJ, Levison DA, Millis RR. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma: an important new independent indicator of prognosis?. *Hum Pathol* 1993; 24: 469-476.
55. Walker RA, Dearing SJ, Lane DP, Varley JM. Expression of p53 protein in infiltrating and in-situ breast carcinomas. *J Pathol* 1991; 165: 203-211.
56. Lukas J, Niu N, Press MF. p53 mutations and expression in breast carcinoma in situ. *Am J Pathol* 2000; 156: 183-191.
57. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
58. Kusafuka T, Fukuzawa M, Oue T, Komoto Y, Yoneda A, Okada A. Mutation analysis of p53 gene in childhood malignant solid tumors. *J Pediatr Surg* 1997; 32: 1175-1180.
59. Lemoine NR, Hughes CM, Cowell JK. Aberrant expression of the tumour suppressor gene p53 is very frequent in Wilms' tumour. *J Pathol* 1992; 168: 237-242.
60. Malkin D, Sexsmith E, Yeger H, Willams BRG, Coppes MJ. Mutations of the tumor suppressor gene occur infrequently in Wilms' tumor. *Cancer Res* 1994; 54: 2077-2079.
61. Lahoti C, Thorner P, Malkin D, Yeger H. Immunohistochemical detection of p53 in Wilms' tumors correlates with unfavorable outcome. *Am J Pathol* 1996; 148: 1577-1589.
62. Cheah PL, Looi LM, Chan LL. Immunohistochemical expression of p53 protein in Wilms' tumour: a possible association with the histological prognostic parameter of anaplasia. *Histopathol* 1996; 28: 49-54.
63. Huang J, Soffer SZ, Kim ES, Yokoi A, Moore JT, McCrudden KW, Manley C, Middlesworth W, O'Toole K, Stolar C, Yamashiro DJ, Kandel JJ. p53 accumulation in favorable-histology Wilms tumor is associated with angiogenesis and clinically aggressive disease. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 523-527.
64. Scweiki D, Itin A, Neufeld G, Gitay-Goren H, Keshet E. Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. *J Clin Invest* 1993; 91: 2235-2243.

65. Leek RD, Hunt NC, Landers RJ, Lewis CE, Royds JA, Harris AL. Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer. *J Pathol* 2000; 190: 430-436.
66. Kaku T, Kamura T, Kinukawa N, Kobayashi H, Sakai K, Tsuruchi N, Saito T, Kawauchi S, Tsuneyoshi M, Nakano H. Angiogenesis in endometrial carcinoma. *Cancer* 1997; 80: 741-747.
67. Sköldenberg EG, Christiansson J, Sandstedt B, Larsson A, Läckgren G, Christopfferson R. Angiogenesis and angiogenic growth factors in Wilms tumor. *J Urol* 2001; 165: 2274-2279.
68. Folkman J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue?-G.H.A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 1986; 46: 467-473.
69. Kim E, Moore J, Huang J, Soffer S, Manley CA, O'Toole KM, Middlesworth W, Stolar CJ, Kandel JJ, Yamashiro DJ. All angiogenesis is not the same: distinct patterns of response to antiangiogenic therapy in experimental neuroblastoma and Wilms tumor. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 287-290.
70. Siemeister G, Martiny-Baron G, Marmé D. The pivotal role of VEGF in tumor angiogenesis: molecular facts and therapeutic opportunities. *Cancer Met Rev* 1998; 17: 241-248.
71. Rowe DH, Huang J, Kayton ML, Thompson R, Troxel A, O'Toole KM, Yamashiro D, Stolar CJH, Kandel JJ. Anti- VEGF antibody suppresses primary tumor growth and metastasis in an experimental model of Wilms tumor. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 30-33.
72. Pluda JM. Tumor-associated angiogenesis: mechanisms, clinical implications, and therapeutic strategies. *Semin Oncol* 1997; 24: 203-218.
73. Maeda K, Chung Y, Takatsuka S, Ogawa Y, Sawada T, Yamashita Y, Onoda N, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y, Kondo Y, Sowa M. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 477-481.
74. Tanigawa N, Matsamura M, Amaya H, Kitaoka A, Shimomatsuya T, Lu C, Muraoka R, Tanaka T. Tumor vascularity correlates with the prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 220-225.
75. Inoue K, Ozeki Y, Suganuma T, Sugiura Y, Tanaka S. Vascular endothelial growth factor expression in primary esophageal squamous cell carcinoma: association with angiogenesis and tumor progression. *Cancer* 1997; 79: 206-213.
76. Güllüoğlu MG, Çamur NK, Yamaner S, Dizdaroğlu F. İleri evre mide karsinomlarında p53 immünreaktivitesi, hücre proliferasyon hızı ve mikrodamar yoğunluğunun patolojik evre ile ilişkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2000; 16: 222-223.

77. Salven P, Lymboussaki A, Heikkilä P, Jääskela-Saariš H, Enholm B, Aase K, von Euler G, Eriksson U, Alitalo K, Joensuu H. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. *Am J Pathol* 1998; 153: 103-108.
78. Leung DW, Cachianes G, Kuang W, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-1309.
79. Robert WG, Palade GE. Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated. *Cancer Res* 1997; 57: 765-772.
80. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *End Rev* 1997; 18: 4-25.
81. Senger DR, Galli SJ, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985.
82. Paley PJ, Staskus KA, Gebhard K, Mohanraj D, Twigg LB, Carson LF, Ramakrishnan S. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 1997; 80: 98-106.
83. Ikeda M, Hosoda Y, Hirose S, Okada Y, Ikeda E. Expression of vascular endothelial growth factors isoforms and their receptors Flt-1, KDR, and neutrophilin-1 in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *J Pathol* 2000; 191: 426-433
84. Straume O, Akslen LA. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptors (FLT-1, KDR) and TSP-1 related to microvessel density and patient outcome in vertical growth phase melanomas. *Am J Pathol* 2001; 159: 223-235.
85. Rowe DH, Kayton ML, O'Toole KM, Ingram M, Stolar CJH, Kandel JJ. Pathological angiogenesis in a murine model of human Wilms' tumor. *J Pediatr Surg* 1999; 34: 676-679.
86. Kayton ML, Rowe DH, O'Toole M, Thompson RB, Schwarz MA, Stolar CJH, Kandel JJ. Metastasis correlates with production of vascular endothelial growth factor in a murine model of human Wilms' tumor. *J Pediatr Surg* 1999; 34: 743-748.
87. Karth J, Ferrer FA, Perlman E, Hanrahan C, Simons JW, Gearhart JP, Rodriguez R. Coexpression of hypoxia-inducible factor 1-alpha and vascular endothelial growth factor in Wilms' tumor. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 1749-1753.
88. Zakien VA. Telomeres beginning to understand the end. *Science* 1995; 270: 1601-1607.
89. Perkel JM. Telomeres as the key to cancer. *The Scientist* 2002; 16: 38-42.
90. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991; 350: 569-573.

91. Dhaene K, Van Marck E, Parwaresch R. Telomeres, telomerase and cancer: an update. *Virchows Arch* 2000; 437: 1-16.
92. Morin GB. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 1989; 59: 521-529.
93. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-2016.
94. Weinrich SL, Pruzan R, Ma L, Quelette M, Tesmer VM, Holt SE, Bodnar AG, Lichtsteiner S, Kim NM, Trager JB, Taylor RD, Carlos R, Andrews WH, Wright WE, Shay LW, Harley CB, Morin GB. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTRT. *Nat Genet* 1997; 17: 498-502.
95. Kumaki F, Kawai T, Hiroi S, Shinomiya N, Ozeki Y, Ferrans VJ, Torikata C. Telomerase activity and expression of human telomerase RNA component and human telomerase reverse transcriptase in lung carcinomas. *Hum Pathol* 2001; 32: 188-195.
96. Yan P, Saraga EP, Bouzourene H, Bosman FT, Benhattar J. Expression of telomerase genes correlates with telomerase activity in human colorectal carcinogenesis. *J Pathol* 2001; 193: 21-26.
97. Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, Yamakido M, Inai K, Gazdar AF, Piatyszek NA, Shay JW. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 895-902.
98. Kumaki F, Kawai T, Churg A, Galateau-Sallé FB, Hasleton P, Henderson D, Roggli V, Travis WD, Cagle PT, Ferrans VJ. Expression of telomerase reverse transcriptase (TERT) in malign mesotheliomas. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 365-370.
99. Dhaene K, Wauters J, Weyn B, Timmermons JP, Van Marck E. Expression profile of telomerase subunits in human pleural mesothelioma. *J Pathol* 2000; 190: 80-85.
100. Albanell J, Lonardo F, Rusch V, Engelhardt M, Langerfeld J, Han W, Klimstra D, Venkatraman E, Moore MAS, Dmitrovsky E. High telomerase activity in primary lung cancers: association with increased cell proliferation rates and advanced pathologic stage. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1609-1615.
101. Dhaene K, Hübner R, Kumar-Singh S, Weyn B, Van Marck E. Telomerase activity in human pleural mesothelioma. *Thorax* 1998; 53: 915-91.
102. de Kok JB, Ruers TJM, van Muijen HNP, van Bokhoven A, Willems HL, Swinkels DW. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in tumors and healthy tissues. *Clin Chem* 2000; 46: 313-318.8.

103. Poremba C, Scheel C, Hero B, Christiansen H, Schaefer KL, Nakayama J, Berthold F, Juergens H, Boecker W, Dockgorn-Dworniczak B. Telomerase activity and telomerase subunits gene expression patterns in neuroblastoma: a molecular and immunohistochemical study establishing prognostic tools for fresh-frozen and paraffin-embedded tissues. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2582-2592.
104. Kumaki F, Kawai T, Hiroi S, Shinomiya N, Ozeki Y, Ferrans VJ, Torikata C. Telomerase activity and expression of human telomerase RNA component and human telomerase reverse transcriptase in lung carcinomas. *Hum Pathol* 2001; 32: 188-195.
105. Vila R, Zaffaroni N, Folini M, Martelli G, de Palo G, Daidone MG, Silvestrini R. Telomerase activity in benign and malign breast lesions: a pilot prospective study on fine-needle aspirates. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 537-539.
106. Oh S, Song YS, Yim J, Kim TK. The Wilms' tumor 1 tumor suppressor gene represses transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene. *J Biol Chem* 1999; 274: 37473-37478.
107. Dome JS, Chung S, Bergemann T, Umbricht CB, Saji M, Carey LA, Grundy PE, Perlman EJ, Breslow NE, Sukumar S. High telomerase reverse transcriptase (hTERT) messenger RNA level correlates with tumor recurrence in patients with favorable histology Wilms' tumor. *Cancer Res* 1999; 59: 4301-4307.
108. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Takashima, Kelalis P, D'Angio GJ. Treatment outcomes in patients less than 2 years of age with small, stage I, favorable-histology Wilms' tumors: a report from the National Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol* 1993; 11: 91-95.
109. Corey SJ, Andersen JW, Vawter GF, Lack EE, Sallan SE. Improved survival for children with anaplastic Wilms' tumors. *Cancer* 1991; 68: 970-974.
110. Uysal V, Kılıçaslan I. Wilms tümörleri (103 vakanın histopatolojik yönden değerlendirilmesi). *Türk Onkoloji Dergisi* 1988; 3: 703-708.
111. Zhang L, Yu D, Hu M, Xiong S, Lang A, Ellis LM, Pollock RE. Wild-type p53 suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression. *Cancer Res* 2000; 60: 3655-3661.
112. Taş F, Yavuz E, Aydın A, Saip P, Dişçi R, İplikçi A, Topuz E. Angiogenesis and p53 protein expression in breast cancer. *Am J Clin Oncol* 2000; 23: 546-553.
113. Seki N, Kodama J, Hongo A, Miyagi Y, Yoshinouchi M, Kudo T. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial growth factor expression are implicated in the angiogenesis of endometrial cancer. *Eur J Cancer* 2000; 36: 68-73.
114. Lee AHS, Dublin EA, Bobrow LG, Poulson R. Invasive lobular and invasive ductal carcinoma of the breast show distinct patterns of vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis. *J Pathol* 1998; 185: 394-401.

115. Lee JS, Kim HS, Jung JJ, Park CS, Lee MC. Expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma and the relation to angiogenesis and p53 protein expression. *J Surg Oncol* 2001; 77: 55-60.
116. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3964-3968.
117. Yashima K, Litzky la, kaiser I, rogers t, Lam S, Wistuba II, Milchgrub S, Srivastava S, Piatyszek MA, Shay JW, Gazdar AF. Telomerase expression in respiratory epithelium during the multistage pathogenesis of lung carcinomas. *Cancer Res* 1997; 57: 2373-2377.
118. Mokbel K, ParrisCN, Ghilchik M, Williams G, Newbold RF. The association between telomerase, histopathological parameters, and Ki-67 expression in breast cancer. *Am J Surg* 1999; 178: 69-72.
119. Kyo S, Takakura Mi Kohama T, Inoue M. Telomerase activity in human endometrium. *Cancer Res* 1997; 57: 610-614.
120. Nakatani K, Yoshimi N, Mori H, Yoshimura S, Sakai H, Shinoda J, Sakai N. The significant role of telomerase activity in human brain tumors. *Cancer* 1997; 80: 471-476.
121. Brown T, Aldous W, Lance R, BlaserJ, Baker T, Williard W. The association between telomerase, p53, and clinical staging in colorectal cancer. *Am J Surg* 1998; 175: 364-366.
122. Wada H, Enomoto T, Yoshino K, Ozaki K, Kurachi H, Nomura T, Murata Y, Kim N, Weinrich S, Lea-Chou E, Uribe DL, Shroyer KR. Immunohistochemical localization of telomerase hTERT protein and analysis of clonality in multifocal vulvar intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 371-379.
123. Toomey D, Smyth G, Condron C, Kay E, Conroy R, Foley D, Hong C, Hogan B, Toner S, McCormick P, Broe P, Kelly C, Bouchier-Hayes D. Immune function, telomerase, and angiogenesis in patients with primary, operable nonsmall cell lung carcinoma: tumor size and lymph node status remain the most important prognostic features. *Cancer* 2001; 92: 2648-2657.
124. Kawakami Y, Kitamoto M, Nakanishi T, Yasui W, Tahara E, Nakayama J, Ishikawa F, Tahara H, Ide T, Kajiyama G. Immuno-histochemical detection of telomerase reverse transcriptase in human liver tissues. *Oncogene* 2000; 19: 3888-3893.
125. Kumamoto H, Kinouchi Y, Ooya K. Telomerase activity and telomerase reverse transcriptase (TERT) expression in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2001; 30: 231-236.

126. Dejmek A, Yahata N, Ohyashiki K, Kakihana M, Hirano T, Kawate N, Kato H, Ebihara Y. Correlation between morphology and telomerase activity in cells from exfoliative lung cytologic specimens. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2000; 90: 117-125.
127. Maniwa Y. Association of p53 gene mutation and telomerase activity in resectable non-small cell lung cancer. *Chest* 2001; 120: 589-594.

T.C. YÜREKLERİ VE  
DOKÜMANLARI MENEJİ