T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

NÖROBLASTOMDA TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN PROGNOZLA İLİŞKİSİ

Dr. Çağla BÜYÜKBOZAT
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Serhan KÜPELİ

ADANA-2020

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

NÖROBLASTOMDA TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN PROGNOZLA İLİŞKİSİ

Dr. Çağla BÜYÜKBOZAT
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Serhan KÜPELİ

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonunun TTU-2018-11287 nolu Projesi ile desteklenmiştir.

ADANA-2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve bana yol gösteren tüm değerli hocalarıma,

Tezimin planlanması, araştırılması ve yürütülmesinde bana yol gösteren, bilgi birikimini benden esirgemeyen her konuda anlayış ve sabır gösteren Sayın Prof. Dr. Serhan Küpeli'ye,

Bu süreçte desteklerini esirgemeyen Patoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şeyda Erdoğan'a,

Çalışmama mali destek sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma merkezine,

Pandemi sürecinde gecesini gündüzüne katıp, zor şartlarda fedakârca çalışan tüm sağlık çalışanlarına ve asistan arkadaşlarıma,

Sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen canım eşime ve aileme

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR I
İÇİNDEKİLER II
TABLO LİSTESİ IV
ŞEKİL LİSTESİ V
ÖZET VI
ABSTRACT VII
KISALTMALAR LİSTESİ VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Nöroblastom 2
2.1.1. Tanım 2
2.1.2. Epidemiyoloji 2
2.1.3. Etyolojisi 2
2.1.4. Risk Faktörleri 3
2.1.5. Hücresel ve Moleküler Patogenez 3
2.1.6. Klinik, Belirti ve Bulgular 5
2.1.7. Tanı 7
2.1.8. Tümör Belirteçleri 8
2.1.9. Radyolojik Tanı Yöntemleri 8
2.1.10. Sintigrafik Tanı Yöntemleri 9
2.1.11. Patolojik İnceleme 10
2.1.12. Tanıda Cerrahinin Yeri 11
2.1.13. Evreleme 11
2.1.14. Prognostik Faktörler 12
2.1.15. Tedavi 15
2.1.15.1. Düşük Riskli Hasta Grubunda Tedavi 16
2.1.15.2. Orta Riskli Grubunda Tedavi 17
2.1.15.3. Yüksek Riskli Hasta Grubunda Tedavi 17
2.1.16. Cerrahi Tedavi 18
2.1.17. Radyoterapi 19

2.1.18. MIBG Tedavisi 19
2.1.19. Yeni Tedavi Yaklaşımları 20
2.1.20. Tedavinin Geç Yan Etkileri 20
2.2. Telomeraz Enzimi 21
2.2.1. Telomer 21
2.2.2.Telomeraz 21
2.2.3. Telomeraz Enzimleri ve Alt Birimleri 22
2.2.4. Telomeraz Enzimi Ölçüm Yöntemleri 22
2.2.5. Normal ve Kanser Hücrelerindeki Telomeraz Aktivitesi 23
2.2.6. Telomeraz İnhibitörleri 24
3. HASTALAR ve YÖNTEM 27
3.1. Telomeraz Enzimi Açısından Örneklerin Değerlendirilmesi 27
3.1.1. Roche High Pure FFPET RNA Isolation Kit Deparafinizasyonu 27
3.1.2. Roche High Pure FFPET RNA Isolation Kit Uygulama Basamakları 27
3.1.3. Real Time PCR Aşaması 29
3.2. İstatistiksel Yöntem 31
4. BULGULAR 32
5. TARTIŞMA 39
6. SONUÇLAR 45
7. KAYNAKLAR 47
8.EKLER 57
8.1. Ek 1. Tez Föyü 57
8.2. Ek 2. Etik Kurul Onayı 59
9. ÖZGEÇMİŞ 60

TABLO LİSTESİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 1. Bazı prognostik faktörler **13**
Tablo 2. Shimada sistemine göre prognostik sınıflama **13**
Tablo 3. Çocuk onkoloji grubunun (COG) kabul ettiği ve TPOG NB 2009 protokolünde kullanılan nöroblastom risk sınıflaması **16**
Tablo 4. Telomeraz inhibitörleri **25**
Tablo 5. Nöroblastom hastalarının klinik özellikleri **32**
Tablo 6. Nöroblastom hastalarının tedavi ayrıntıları **33**
Tablo 7. Nöroblastomlu hastalarda relaps ve son durum **33**
Tablo 8. Telomeraz aktivitesinin cinsiyet ve yaş ilişkisi **35**
Tablo 9. Telomeraz aktvitesinin yaşam süresi ile ilişkisi **35**
Tablo10. Telomeraz aktvitesinin olaysız yaşam süresi ile ilişkisi **36**
Tablo11. Telomeraz aktivitesinin evre ve risk grubu ile ilişkisi **38**
Tablo 12. Telomeraz aktivitesinin myc-n ve relaps ile ilişkisi **38**

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 1. Telomerlerin kromozomdaki yeri **21**
Şekil 2. Yaşlanma mekanizması **24**
Şekil 3. Referans geni (β-actin) görüntüsü **30**
Şekil 4. hTERT geninin görüntüsü **30**
Şekil 5. Nöroblastomlu hastalarda sağkalım olasılığı **34**
Şekil 6. Nöroblastomlu hastalarda olaysız sağkalım olasılığı **34**
Şekil 7. Telomeraz aktivitesinin yaşam süresi ile ilişkisi **36**
Şekil 8. Olaysız sağkalım olasılığı **37**

ÖZET

Nöroblastomda Telomeraz Aktivitesinin Prognozla İlişkisi

Amaç: Nöroblastom, adrenal medulla ve sempatik ganglionlardaki embriyonel nöral krest hücrelerinden köken alan çocukluk çağının en sık görülen ekstrakranyal solid tümörüdür. Değişken biyolojik yapısı nedeniyle farklı klinik ve biyolojik özellikler göstermektedir. Tümörün bu durumunu açıklayacak yeni faktörlerin gösterilmesi nöroblastomun tanı ve tedavisine önemli katkı sağlayacaktır. Hücrelerin ölümsüzlük kazanabilmesi ya da sınırsız çoğalabilme kapasitesine ulaşmasında telomeraz enziminin önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. 87 hasta ile yaptığımız retrospektif çalışmada telomeraz aktivitesinin cinsiyet, yaş, evre, risk grubu, relaps, VMA, myc-n amplifikasyonu, sağkalım ve olaysız sağkalıma etkisi araştırılmak istenmiştir.

Gereç ve yöntem: Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Onkoloji Bilim Dalında 2011-2019 yılları arasında nöroblastom tanısı almış 87 hastanın daha önceden alınan patoloji preparatlarında telomeraz aktivitesi incelenerek yapılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların bilgileri dosyalardan ve otomasyon sisteminden bulunarak kayıt edildi. Etik kurul onayı alındı.

Bulgular: Çalışmamıza 46 erkek (% 52,9), 41 kız (% 47,1) olmak üzere toplam 87 hasta alınmıştır. Hastalığın en sık tanı alma yaşı 3,39 ± 3,04 yıl idi. Çalışmaya alınan hastaların 23'ünde (% 26,4) telomeraz aktivitesi vardı, 64'ünde (% 73,6) telomeraz aktivitesi yoktu. Çalışmaya alınan hastalarımızda telomeraz aktivitesi olan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 84 iken, olaysız yaşam olasılığı % 56 bulundu. Telomeraz aktivitesi olmayan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 93 iken, olaysız yaşam olasılığı % 70 olarak bulundu. Telomeraz aktivitesi olan ve olmayan hastalar karşılaştırılarak bakılan cinsiyet (p=0,1), yaş (p=0,54), evre (p=0,600), risk grubu (p=0,451), relaps (p=0,484), myc-n mutasyonu (p=0,854), sağ kalım (p=0,112) ve olaysız sağkalım (p=0,222) açısından anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışmada telomeraz aktivitesi ile nöroblastom hastalarının klinik özellikleri ve sağkalımları arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Nöroblastom, Telomeraz aktivitesi

ABSTRACT

The Relationship Between The Telomorase Activity In Neuroblastoma With Prognosis

Objective: Neuroblastoma is the most common extracranial solid tumor of childhood, originating from embryonal neural crest cells in the adrenal medulla and sympathetic ganglia. Due to its variable biological structure, it shows different clinical and biological features. Demonstration of new factors that will explain this state of the tumor will contribute to the diagnosis and treatment of neuroblastoma. The telomerase enzyme is thought to play an important role in the ability of cells to gain immortality or to reach unlimited reproductive capacity. In our retrospective study with 87 patients, we aimed to investigate the effect of telomerase activity on sex, age, stage, risk group, relapse, VMA, myc-n amplification, survival and event-free survival.

Material and Method: This study was carried out by examining telomerase activity in previously taken pathology preparations of 87 patients who were diagnosed with neuroblastoma between 2011 and 2019 in the Pediatric Oncology Department of Çukurova University Faculty of Medicine. The information of the patients included in the study was recorded from the files and automation system. Ethics committee approval was obtained.

Results: Totally 87 patients, 46 males (52.9%) and 41 females (47.1%), were included in our study. The most common age at the time of diagnosis of the disease was 3.39 ± 3.04 years. Twenty-three (26.4%) patients included in the study had telomerase activity, 64 (73.6%) had no telomerase activity. In the patients included in our study, the survival of patients with telomerase activity up to 8 years were 84%, while the probability of survival without events was 56%. Patients without telomerase activity had a 93% survival rate for up to 8 years, while the probability of survival without events was 70%. There was no significant relationship between patients with or without telomerase activity in terms of sex ($p = 0.1$), age ($p = 0.54$), stage ($p = 0.600$), risk group ($p = 0.451$), relapse ($p = 0.484$), myc- n mutation ($p = 0.855$), survival ($p = 0.112$) and event-free survival ($p = 0.222$).

Conclusion: In this study, no significant difference was found between telomerase activity and clinical features and survival of neuroblastoma patients.

Keywords: Neuroblastoma, Telomerase activity

KISALTMALAR LİSTESİ

APC : Otolog Antijen Sunan Hücre
BDNF : Beyin Kaynaklı Nörotropik Faktör
BT : Bilgisayarlı Tomografi
COG : Children's Oncology Group
CTL : Sitotoksik T Lenfosit Reseptörü
DI : Deoksiribo Nükleik Asit İndeksi
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
EFS : "Event-Free Survival" - Olaysız Yaşam Hızı
FDG PET : 18-Floro Deoksiglukoz - Pozitron Emisyon Tomografisi
HVA : Homovanillik Asit
IL : İnterlökin
INSS : International Neuroblastom Staging System
Kİ : Kemik İliği
KİT : Kemik İliği Transfüzyonu
KT : Kemoterapi
LDH : Laktat Dehidrogenaz
MAO : Monoamin Oksidaz
MIBG : Meta-iyodobenzilguanidin
MKI : Mitoz Karyoreksis İndeksi
MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme
MYCN : N-myc Amplifikasyonu
NBL : Nöroblastom
NGF : Sinir Büyüme Faktörü
NSE : Nöron Spesifik Enolaz
OKHN : Otolog Kök Hücre Nakli
OMS : Opsomyoklonus Sendromu
OS : "Overall Survival" - Genel Yaşam Hızı
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT : Radyoterapi
SIF : "Small İntensely Fluorescent" -Küçük Floresan İle Boyanan Hücreler-

SSS **:** Santral Sinir Sistemi

TNF **:** Tumor Necrosis Factor

TNM **:** Tümör Lenf Nodu Metastaz Evreleme Sistemi

TPOG **:** Türkiye Pediatrik Onkoloji Grubu

TRK **:** Tirozin Kinaz Reseptörü

TrkA **:** Tropomiyozin Reseptör Kinaz A

TrkB **:** Tropomiyozin Reseptör Kinaz B

TrkC **:** Tropomiyozin Reseptör Kinaz C

USG **:** Ultrasonografi

VIP **:** Vazoaktif İntestinal Peptid

VMA **:** Vanil Mandelik Asit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Nöroblastom çocuklarda en sık görülen ekstrakraniyal tümördür ve çağı kanserlerinin yaklaşık %8-10 kadarını oluşturur. Değişken biyolojik bir yapısı olması nedeniyle oldukça farklı klinik ve biyolojik davranışlar gösterebilmektedir bir yaşından küçük hastalarda hızlı progresyon olabildiği gibi kendiliğinden gerileyebilen değişken özelliklere sahip bir tümördür. Nöroblastomun (NB) etyolojisi tam olarak bilinmemektedir, nöroblastom oluşumunda genetik ve çevresel etkenlerin sebep olduğu bilinmektedir. Bu etkenler içerisinde gen amplifikasyonu, kromozom kazancı, onkogen aktivasyonu, allelik kayıplar, tümör supresör gen kayıpları ve bazı genlerin ekspresyonlarındaki değişikliklerinde sebep olduğu düşünülmektedir. Tedaviye yanıt ve prognozun önemli göstergesi olan biyolojik ve genetik değişikliklerler hakkında bilgiler arttıkça hastalığın tedavisi ile ilgili gelişmeler artmaktadır.

Hücrelerin sınırsızca çoğalma özelliği kazanmasında telomeraz enziminin yeniden aktivasyonunun en önemli mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Telomerazın yeniden aktivasyonu, birçok insan malignitesinde ağırlıklı olarak bulunmuştur, bu da telomeraz aktivasyonunun malign tümör büyümesinde etkili bir rol oynadığını düşündürmektedir ancak normal somatik insan dokusunda ağırlıklı olarak telomeraz aktivitesi bulunmamaktadır. Bu nedenle telomeraz enzimi hem kanser tanısında hem de tedavisinde önemli hale gelmiştir.

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Onkoloji Bilim Dalında 2011-2019 yılları arasında nöroblastom tanısı almış 87 hastanın daha önceden alınan patoloji preparatlarında telomeraz aktivitesi incelenerek yapılmıştır. Nöroblastom tanısı almış olan bu hastalarda telomeraz aktivitesinin yaş, cinsiyet, evre, risk grubu, relapsla, myc-n amplifikasyonu, VMA, sağkalım ve olaysız sağkalıma etkisi araştırılmak istenmiştir. Bu çalışma değişken özellik gösteren bu tümörün etyolojisinin aydınlatılması amacı ile yapılmış olup hastaların tanı ve tedavi süreçlerine katkıda bulunulabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nöroblastom

2.1.1. Tanım

Nöroblastom, adrenal medulla veya sempatik gangliyonlarda embriyonik oluşumun dördüncü haftasında meydana gelen primordial nöral krest hücrelerinden orjin alan küçük, mavi, yuvarlak hücreli tümördür. Nöral tümörler, nöral kreste gelen embriyonik ektodermin cevap vermesi gereken uyarılara cevap vermemesi ve oluşumunu gerçekleştirememesi ile meydana gelir.[1]

2.1.2. Epidemiyoloji

Nöroblastom çocukluk çağı kanserlerinin yaklaşık % 8-10 kadarını oluşturur. Lösemi, lenfoma ve beyin tümörlerinden sonra en yaygın dördüncü çocukluk kanseri olup, çocuklarda en sık görülen ekstrakraniyal tümördür. Tanıdaki ortalama yaş 17,3 aydır ve hastaların yüzde 40'ı bir yaşından önce tanı alır.[2,3] Nöroblastom sıklığı beyaz bebeklerde siyah bebeklere göre daha fazladır ancak daha büyük çocuklar arasında ırksal farklılık bulunmamaktadır. Nöroblastom, erkeklerde kızlara göre daha sık görülmektedir.[3]

2.1.3. Etyolojisi

Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte nöroblastom, sempatik sinir sisteminin ana hücrelerinden oluşmaktadır ve sempatik sinir sistemi doğumdan sonra tekrar düzenlenmektedir. Bu süreç nöroblastomun başlangıç yaşı ile örtüşmektedir ve nöroblastik tümörlerin oluşumunda bu sempatik düzenlenmede etkili olan mekanizmanın hatalı olduğu düşünülmektedir.[4-6]

Nöral katlantı hücrelerinden oluşan sempatik sinir sistemi hücreleri, nöronlar (ganglion hücreleri), kromaffin hücreler ve küçük floresan ile boyanan (SIF- "small intensely fluorescent") hücrelerden meydana gelir. Nöronlar paravertebral sempatik zincir ganglionlarını, paraaortik trunkusu ve pelvik ganglionu meydana getirir. Adrenal bez medullasında da bulunurlar, fakat zaman içerisinde yok olurlar. Fonksiyonları henüz bilinmeyen SIF hücreleri sempatik gangliyonlar içinde tek ya da küme şeklinde bulunur.

Paraganglionları ve adrenal medullayı ise kromaffin hücreler meydana getirir. Paraganlia doğumdan sonraki 2-3 yıl merkezi sinir sistemi dışında en önemli katekolamin kaynağıdır, bu süreçten sonra adrenal medulla öne çıkar çünkü paraganglia bu süreçte geriler ve yok olur. Adrenal nöroblastomlarda ve gelişmekte olan adrenal medullada geçici olarak bulunan nöroblast topluluklarının büyümesi, farklılaşması ve apopitozu sırasında oluşan hataların malign dönüşüme sebep olduğu düşünülmektedir.[7]

2.1.4. Risk Faktörleri

Nöroblastomun risk faktörleri tam olarak bilinmemektedir. Anne-baba mesleği (elektronik, tarım, iş nedeniyle böcek zehiri, elektromanyetik alan, boya, radyasyona maruz kalma), anne yaşı, annenin kullandığı ilaç (amfetamin, diüretik, trankilizan, kas gevsetici, fenitoin), hormonlar, alkol ve sigara, düşük öyküsü, tekrarlayan sezeryan doğum ile bebeğin düşük doğum ağırlığı, preterm doğum öyküsü, folat eksikliği nöroblastom ile bağdaştırılmıştır.[8-10] Annenin hamilelikte aldığı vitaminlerin ve 6 aydandaha fazla anne sütü vermenin de riski azalttığı bilinmektedir.[11,12]

Birlikteliği gösterilenler arasında otozomal resesif geçişli ürogenital ve kardiyak anomaliler, yüz ve sindirim sistemi anomalileri, nörolojik ve gelişimsel anomaliler, fötal alkol sendromu, Beckwith-Wiedemann sendromu ve Turner sendromu vardır.[13,14] Nöral krest hücrelerinin gelişmesi, göçü veya farklılaşmasındaki bozukluklar sonucu ortaya çıkan nörokristopatiler ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Nöroblastom ile diğer nöral krest hücre patolojileri de (santral hipoventilasyon sendromu, Hirschsprung hastalığı, nörofibromatozis tip 1) birlikte görülebilir.[15,16]

2.1.5. Hücresel ve Moleküler Patogenez

Nöroblastomda tümör hücrelerinde olan genetik değişiklikler hastalığın prognozunda, patogenezinde, risk gruplarına ayrılmasında ve tedavi planlanmasında önemli bir yer almaktadır.[17,18]

- Allellik fazlalık olması ve onkogen aktivasyonu
- Allellik kayıp olması ve süpresör genlerde kayıp
- Bazı genlerin ekspresyonunda değişiklik olması

Allellik fazlalık olması ve onkogen aktivasyonu

Myc-n amplikasyonu; 2. kromozomun kısa kolunun 2p24 bölgesinde yer alan protoonkogendir ve en önemli prognoz faktörlerinden biri olup varlığı ileri evre, yüksek risk relaps, hızlı tümör ve kötü prognozla ilişkilidir. Bu prognostik önemi nedeni ile birçok merkezde rutin olarak bakılmakta olup tedavi plan şemasını etkilemektedir.[19,20] Bu genin amplifkasyonu sitogenetik olarak 2 biçimdedir; double minutes (d-mins) kromatin cisimcikleri gibi ekstra küçük kromozom parçalarının olması ve homojen boyanan bölgeler (HSR) ise aynı kromozom içinde bir bölgenin tekrarlamasıdır. Tümör hücresinde MYCN amplifikasyonu değişik moleküler yöntemlerle (southern blot, FISH, kantitatif PCR, immunohistokimya ile) gösterilebilir. Kopya sayısı çoğaldıkça genlerin aktivasyonu da artmaktadır. Kopya sayısının 10 ve daha fazla olması prognostik olarak anlamlıdır.[21,22]

Tümör hücresindeki DNA miktarı; Nöroblastom hücresindeki DNA miktarı normal veya fazla olabilir. Akım sitometresi yöntemi ile DNA indeksi (DI) kolaylıkla gösterilebilir. Özellikle 2 yaş altında prognoz açısından önemlidir. Hiperdiploid tümör, diploid tümörden daha iyi bir prognoza sahiptir.[23,24]

17 q bölgesinde dengesiz fazlalık; Nöroblastomların yarıya yakın kısmında 17. kromozomun uzun kolunda allelik fazlalık bulunmaktadır.[25] Bu fazlalık, kendiliğinden oluşabildiği gibi [(+17q)] 1. ve 17. kromozomların arasında oluşan bir translokasyon [t(1;17)] ile meydana gelebilir.[26] Bu fazlalık kötü prognoz ve agresif tümör ile ilişkilendirilmiştir.[27]

Allelik kayıp olması ve süpresör genlerde kayıp

1p delesyonu; Kromozom 1p'nin bir kısmının silinmesi, nöroblastomda gözlenen en yaygın kromozomal değişikliklerden bir tanesidir ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir, fakat tek başına varlığının bir işaret olup olmadığı tartışmalıdır.[28] İleri evredeki hastalarda yaygın olarak bulunmakta ve MYCN amplifikasyonu ile beraberliği sıktır.[29]

11p delesyonu; 11p delesyonu tanı anında hastaların % 35-45'inde bulunmaktadır.[30] 11p delesyonu MYCN amplifikasyonlu tümörlede bulunmaz. Fakat yine de kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmektedir ve yüksek risk faktörleri (ileri evre, büyük yaş, kötü patoloji) ile birliktelik göstermektedir.[31]

Bazı genlerin ekspresyonunda değişiklik olması

Nörotrofin reseptörlerinin ekspresyonları; Sempatik sistemdeki nöroblastların nöroblastom hücrelerine dönüşümü tam olarak bilinmemekle beraber nörotrofin reseptör yolakların rol oynadığı düşünülmektedir. Nöronal farklılaşmada rol oynayan nörotrofin ailesinde birçok faktör ve reseptör bulunmaktadır. Nörotrofin reseptörleri olan tropomiyozin reseptör kinaz A (TrkA), tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB) ve tropomiyozin reseptör kinaz C (TrkC)'nin ligandları; sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotropik faktör (BDNF), nörotropin-3 (NT3)'tür. TrkA aktifleşmesi hücrelerin farklılaşmasını neden olurken, inhibisyonu ise hücrenin apopitozine neden olmaktadır. TrkA/NGF yolağı nöroblastların ganglion hücresine farklılaşmasını veya apopitozis ile tümör hücresinin spontan regresyonuna neden olur. Tümörde bulunan TrkA' nın fazla aktifleşmesi; MYCN amplifikasyonunun yokluğu, küçük yaş, düşük evre gibi klinik özellikler ile ilişkilidir ve iyi prognozu gösterir. TrkB'nin tümör hücresinin yaşamasını kolaylaştırdığı, invazyon ve metastaz yapma yeteneğini arttırdığı düsünülmektedir. TrkB fazla aktifleşmesi ise agresif tümör ve MYCN amplifikasyonu varlığı ile ilişkilidir. TrkB/BDNF yolağı hücrenin ilaç direncini göstermektedir. TrkC'nin fonksiyonu ise kesin olarak bilinmemektedir. TrkC, TrkA reseptörü ile benzer özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. İyi klinik özelliklere sahip tümörlerde aktive olduğu bildirilmiştir.[32,33]

Telomeraz aktivitesi; Nöroblastom hücrelerinde, hücre farklılaşması ve apopitoz ile ilgili genlerde artış olması düşük telomeraz aktivitesi ve iyi prognozla ilişkili iken hücre siklusu ile ilgili genler ve transkripsiyon faktörlerinde artış olması, yüksek telomeraz aktivitesi ve kötü prognozla ilişkilidir.[34]

2.1.6. Klinik, Belirti ve Bulgular

Nöroblastomlar sempatik sinir sistemi boyunca herhangi bir yerde ortaya çıkabilir. Belirti ve bulgular tümörün yeri, yaygınlığı ve ürettiği metabolik aktif maddeler ile ilişkilidir. Adrenal bez en sık görülen primer yerleşim bölgesidir % 40, bunu karın % 25, torasik % 15, servikal % 5 ve pelvik sempatik gangliyon % 5 takip etmektedir.[35] Daha az sıklıkla, tümörler merkezi veya otonom sinir sistemlerinde ortaya çıkar.[3] Vakaların yaklaşık yüzde 1'inde primer tümörün yeri belirlenemez. Nöroblastom lenf nodlarına, kemik iliğine, kortikal kemiğe, duraya, karaciğere ve cilde metastaz yapar ve daha az

sıklıkla pulmoner ve intrakraniyal bölgelere metastaz yapar. Lokalize tümörü olan hastalar asemptomatik olabilirken, yaygın hastalığı olan çocuklar başvuruda genellikle sistemik semptomlarla gelirler.[36]

Karın tümörleri; genellikle aile çocuğun üstünü değiştirirken yada rutin doktor muayenesinde karında kitle ele gelir, semptom vermez. Karın tümörleri karın ağrısı, dolgunluk ve nadiren bağırsak tıkanıklığı ile ortaya çıkabilir. Fizik muayenede hareketsiz ve sert kitle palpe edilebilir. Birincil tümör, *Zuckerkandl* organlarından (doğumdan kısa bir süre sonraya kadar devam eden ve aort çatallanma yakınında bulunan bir çift embriyonik organ) ortaya çıktığında, çocuğun bağırsak veya mesanenin basısına bağlı kabızlık, azalmış mesane kapasitesi, enürezis gibi semptomlar olabilir. Masif karaciğer tutulumu özellikle infantlarda solunum sıkıntısına yol açabilir. Büyük abdominal tümörler ayrıca venöz veya lenfatik drenajı sıkıştırarak alt ekstremitede ve sktorumda ödeme yol açabilir. Nadiren renal artere basarak hipertansiyona neden olabilir.[2]

Torakal tümörler; genellikle solunum semptomları ve travma nedeniyle çekilen akciğer grafilerinde tesadüfen saptanır. Mediastinal tümörler trakeal sapmaya veya stridora neden olabilir, ancak toraks üst kısım ya da servikal yerleşimli kitleler bir Horner sendromu (pitoz, miyoz ve anhidroz) ile ilişkili olabilir.[2] Genellikle mekanik obstrüksiyon ile ilişkili büyük torasik tümörler süperior vena kava sendromuna neden olabilir.[37]

Paravertebral tümörler; abdomen ve pelvik bölgedeki paraspinal sempatik zincirlerden meydana gelerek vertebraların nöral foraminalarındaki spinal kanal içerisinden uzanarak, sinir köklerine ya da medulla spinalise baskı yapabilir. Bu durum lokalize sırt ağrısına, subakut veya akut paraplejiye, mesane ya da anal sifinkter disfonksiyonuna yol açabilir. Nörolojik sekel oluşmadan önce baskının kaldırılması önemli pediatrik acillerden biri olarak kabul edilmektedir.[33,38]

Periorbital kemiklerde olan metastaz propitozise ve periorbital ekimoza neden olabilir ve travma ile karışabilir.[39] Yaygın kemik tutulumu veya kemik iliği metastazı kemik ağrılarına sebep olup büyük çocuklarda artrit ile karışabilir, bebeklerde ise huzursuzluk tek semptom olabilir. Kemik iliği tutulumuna bağlı sitopeniler ve anemi, kanama, infeksiyonlar olabilir.[40,41] Cilt tutulumu ise özellikle küçük bebeklerde cilt altında birkaç adet, ağrısız, mavimsi subkutan nodüller olarak görülür.[42]

Opsomyoklonus sendromu (OMS); nöroblastomlu çocukların yüzde 1-3'ünde ortaya çıkan paraneoplastik bir sendromdur. OMA'lı çocukların neredeyse yüzde 50'sinde altta yatan bir nöroblastom vardır. Bozukluğun otoimmün bir patogenez olduğu ve tümöre karşı gelişen antikorların serebellar ve nöral hücrelerle çapraz reaksiyon gösterdiği bilinmektedir.[43] Bu hastalarda prognoz daha iyi gitmektedir. Tümörün gerileyip kaybolması ile tüm semptomlar kaybolabileceği gibi % 70 olguda algılama ve motor gelişmede gecikme, dil sorunları, davranışsal bozukluklar gibi uzun süreli nörolojik sekeller olabilir. Tedavide kortikosteroidler ve intravenöz immünglobulin kullanılmaktadır. OMS tanısı koyulan hastaların hepsine metaiyodobenzilguanidin (MIBG) sintigrafisi çekilmeli, bilgisayarlı tomografi (BT) ile tüm vücut tarama yapılmalıdır. Genellikle matür tümöre eşlik edebilen VIP salınımı sulu ishal, hipokalemi, dehidratasyona neden olabilir.[44,45]

2.1.7. Tanı

Uluslararası nöroblastom evreleme sistemi (INSS) kriterlerine göre tümörün ışık mikroskobunda değerlendirilmesi tanı koymak için temel yöntem olup, idrarda artmış katekolamin düzeyi, sintigrafik ve radyolojik bulgular da tanının kesinleştirilmesine yardımcı olmaktadır.[2,13,14]

Uluslararası nöroblastom evreleme sistemi nöroblastom tanı kriterleri:

- Tümör dokusundan histopatolojik inceleme ile kesin nöroblastom tanısının konması

- Kemik iliği (Kİ) aspirasyonu veya biyopsisinde nöroblastom tümör hücrelerinin gösterilmesi ile birlikte idrar ve/veya kan katekolamin düzeylerinde artış.

Tanı için doku örneği alınırken moleküler/sitogenetik incelemeler için de yeterli örnek alınmalıdır. Tanı için alınan doku örneğinden risk gruplarının belirlenmesine yönelik, histopatolojik değerlendirme ve sitogenetik incelemeler (MYCN, 1p delesyonu, piloidi) yapılmalıdır. *'Children's Oncology Group'* (COG) önerilerine göre, özellikle iki yaş altı çocuklarda genetik incelemeler risk grubunu belirleme ve buna yönelik tedaviyi düzenlemek açısından çok önemlidir.

2.1.8. Tümör Belirteçleri

Nöroblastom tanısında, tedavisinin izleminde ve hastalığın rölaps veya rekürrensinin değerlendirmesinde özel tümör belirleyicileri kullanılabilen az sayıdaki çocukluk çağı kanserinden biridir. En özgül ve duyarlı olan belirleyiciler vanil mandelik asit (VMA) ve homovanilik asittir (HVA). Vanil mandilik asit epinefrin, norepinefrin, HVA ise dopamin metabolizmasındaki son üründür. Ölçüm için 24 saatlik idrar toplanması yerine spot idrara bakılması tercih edilir.[46-48] İdrar VMA düzeylerinin ölçülmesi hastalığın tanısında ve tedavinin izlenmesinde yardımcı olur fakat relaps olan hastada duyarlılığı düşüktür.[49]

Nöron spesifik enolaz (NSE); nöroblastom hücreleri tarafından salgılanan ve yüksek serum değerleri Ewing sarkomu, feokromasitoma, küçük hücreli akciğer kanseri gibi tümörlerde de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Serum NSE düzeyi hastalığın yayılımı ile orantılıdır, yüksek NSE düzeyi olan hastaların yarısına yakınnda metastatik hastalık bulunmaktadır.[13,14,50]

Ferritin; nöroblastlar tarafından üretilir ve salgılanırlar ve yüksek değerleri özellikle evre 4 hastalıkta bulunur, kötü klinik gidiş ile ilişkilidir. İzlem sırasında kan transfüzyonları nedeniyle serum düzeyi etkilenebileceğinden yüksek riskli hastalığın belirleyicisi olarak kullanılabileceği fakat tanı veya izlem için kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir.[13,14,49]

Laktat dehidrogenaz (LDH) özgüllügü düşük bir tümör belirleyicidir. Hızlı hücre döngüsü ve fazla tümör yükünü gösterir. Büyük tümörlerde ve yüksek riskli hastalıkta yükselir. Moleküler belirleyicilerin yokluğunda evre ve yaş ile birlikte prognoz belirleyici olarak kullanılabilir.[13,14,51]

Kromogranin A ve nöropeptid Y diğer tümör belirleyicileridir. Kromogranin A katekolaminler ile beraber depolanır ve salgılanır. Yüksek serum düzeyleri evre, yaş ve prognoz ile oranlıdır. Nöropeptid Y nöroblastom ve feokromasitomada yüksek evre ve düşük farklılaşma düzeyi ile oranlı olarak salgılanır.[14]

2.1.9. Radyolojik Tanı Yöntemleri

Nöroblastomun tanı ve evrelemesinde görüntüleme yöntemleri çok önem taşımaktadır ve doğru bir sıra ile yapılması gerekmektedir. Radyografi, akciğer grafisi ve kemik grafilerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Ultrasonografi, primer

bölgenin değerlendirilmesinde ve lezyonun büyüklüğünün belirlenmesinde kullanılabilmektedir. Ayrıca, karaciğerdeki metastazlarının değerlendirilmesi ve fontanel açıksa intrakranial patolojilerin değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir. Süt çocuklarının ve epidural uzanımı olmayan düşük riskli pelvik veya abdominal tümörlerin izlemi sedasyon ve kontrast madde gerekmemesi nedeniyle yalnızca US ile yapılabilir. Radyolojik tetkikler hastalığın başlangıcında çekilmeli, tümöral yayılım mevcutsa bu lezyonların takibi yapılmalıdır. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve BT tümörün üç boyutlu gösterilmesini sağlamaktadır. Kranial MRG; evre 4 hastalarda intrakraniyal veya orbital tutulumu göstermek için çekilir. Primer bölgenin değerlendirilmesi, özellikle paravertebral kitlelerde spinal MRG gerekmektedir.[52,53]

2.1.10. Sintigrafik Tanı Yöntemleri

Sintigrafik çalışmaların, nöroblastomun evrelenmesinde ve hastaların izleminde önemli bir yeri bulunmaktadır. Yeni tanı alan hastaların kortikal kemik tutulumu varsa *99mTc-dimerkaptofosfonat* (MDP) ile kemik sintigrafisi ile gösterilmektedir fakat bilinmelidir ki normal büyüme plaklarında ve travma sonrası zedelenmelerde de tutulum olabilir.[54,55]

Metil-iyodobenzilguanidin (MIBG) bir guanetidin analoğu olup yapısal olarak norepinefrine benzemektedir. Bu benzerlik sebebiyle nöroadrenerjik hücrelerdeki nörosekretuar granüllerde tutulmaktadır. Bu sebeple nörosekretuar granül bulunduran tüm nöral krista kaynaklı tümörlerde MIBG tutulumu gözlenir. Görüntülemede üstün özellikleri ve radyasyon dozunun düşük olması ve katekolamin öncüllerinin analoğu olması nedeniyle ^{131}I veya ^{123}I ile işaretlenerek yeni veya tekrarlayan hastalığın tanımlanmasında duyarlı ve özgül bir yöntem olarak kullanılır.. Metabolik olarak aktif ganglionöromların MIBG tuttukları da bildirilmiştir, MIBG tutmayan tümörlerde yanlış negatif sonuçlar alınabilir.[56] Kemik, kemik iliği ve lenf nodlarındaki tutulumu % 90-95 oranında gösterir.[57] Tanı anında kemik iliği aspirasyonu veya radyolojik yöntemler ile saptanamamış metastazları gösterebildiği gibi evrelemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca tedaviye cevabın ve yaşam beklentisinin değerlendirilmesinde de kullanılır. MIBG tutan alanların sayısı ve yaygınlığına dayanarak bir skorlama sistemi yapılmaktadır. Bu skorlama sistemi ile indüksiyon kemoterapisine iyi veya kötü cevabı; aynı zamanda indüksiyon sonrasında MIBG tutulumunun devam etmesinin yaşam beklentisinin

kısalığı ile ilişkilendirilmiştir.[54,55,58-60]

Pozitron emisyon tomografisi (PET) ile *18-floro deoksiglukoz* (FDG) kullanılarak yumuşak doku ve iskelette mevcut hastalığın tanısına yönelik bulgular saptanabilmektedir ve de BT ile birlikte kullanıldığında küçük lezyonları tanımlamada ve üç-boyutlu görüntüde MIBG'den daha iyi olduğu gösterilmiştir. FDG tutma miktarları diğer görüntüleme yöntemleri ile kemoterapi sonrasında yanıtsız olan kitlelerde tümörün canlı olup olmadığını gösterebilir. Çalışmalar az sayıda ve sınırlı olmakla beraber MIBG dahil diğer görüntüleme yöntemleri ile tanımlanan hastalık yaygınlığı FDG PET ile de aynı şekilde tanımlanmıştır.[55,58,61]

2.1.11. Patolojik İnceleme

Işık mikroskobu altında, küçük, yuvarlak, mavi hücreleri olarak görünürler. Morfolojik olarak, Ewing sarkomu, non-Hodgkin lenfoma, rabdomyosarkom ve primitif nöroektodermal tümör (PNET'ler) ve yumuşak doku içeren diğer küçük yuvarlak mavi hücreli tümörlerinkine benzer.[62] Morfolojik benzerlikleri nedeniyle, bu tümörlerin ışık mikroskobik bulguları altında ayırt edilmesi zordur. Farklılaşmaya yardımcı olmak için elektron mikroskopisi veya dokuya özgü monoklonal antikor panelleri kullanılabilir. Nöroblastomlar tipik olarak nöral dokuyu (ör. Nörona özgü enolaz (NSE), sinaptofizin, kromogranin ve S100) ayıran antikorlarla reaksiyona girer. NSE diğer tümörlerde (örn. rabdomiyosarkom) odak olarak pozitif olabilirken, boyama paterni karakteristik olarak dağınıktır, nöroblastomlar ise güçlü bir şekilde pozitiftir. Nöroblastomda histolojik bulgular prognoz açısından önemlidir. Shimeda ve arkadaşlarının oluşturduğu prognostik sınıflamada hasta yaşı, schwannian stromanın varlığı-yokluğu, diferansiasyon derecesi ve mitoz-karyoreksiz indeksi (MKI) ile histopatoloji favorable-iyi veya unfavorable-kötü olarak belirlenmiştir. 1999'dan beri *Shimada* sistemi baz alınarak oluşturulan uluslararası nöroblastom patolojik sınıflaması kullanılmaktadır.[63,64]

Tümör hücrelerinin matürasyonu ve farklılaşmasını gösteren 3 histopatolojik tipi vardır.

-Nöroblastom: *Eosinofilik nöropil* çevresindeki nöroblastlar *Homer-Wright pseudorozetlerini* oluşturur homojen, küçük ve yuvarlak hücrelerin arasında nöropil tipik olarak bulunmaktadır. Nöroblastom bu tümör ailesinin en farklılaşmamış-görüneni ve agresifidir. Farklılaşmış, az farklılaşmış ve farklılaşmamış olarak 3 farklı alt gruba

ayrılır.

- Ganglionöroblastom: Heterojen özellikte bir tümördür hem nöroblastomun hem ganglionöronun özelliklerini taşımaktadır. Tümör diffuz yada fokal olabilir, fokal ganglionöroblastom genelde daha agresif seyretmektedir ve nöroblastik komponenti ise MYCN amplifikasyonu ile beraber bulunabilmektedir. Nodüler, intermiks ve nodüler atipik olarak 3 alt gruba ayrılır.

- Ganglionörom: Tamamen diferansiye benign tümördür. Schwannian hücre ağırlıklı olarak olgunlaşan veya tamamen olgun ganglion hücreleri ile çevrili Schwannian hücrelerinden oluşur tümörü oluşturur ve daha çok büyük çocuklarda görülmektedir. Matürleşmekte olan ve matür olmak üzere 2 alt gruba ayrılır.[65]

2.1.12. Tanıda Cerrahinin Yeri

Cerrahi, hastalığın evresini belirlemeye yardımcı olmak, genetik çalışmalar ve histopatolojik tanı için yeterli miktarda tümör dokusu elde etmek açısından önemlidir. Eğer mümkünse tümörün tamamını çıkartmak gerekmektedir. Evre 4S hastalık haricinde, tümörün en az % 90'ı güvenle çıkartılmalı, uygunsa tanıda tümör eksizyonu yapılmalı ancak tanıda metastatik hastalık varlığında veya görüntüleme yöntemleri ile tümör çıkarılamayacak gibi görünüyor ise primer tümörden veya metastazlardan biyopsi almak yeterli olabilir. Cerrahi işlem sonrasında rezidüel tümör mevcutsa kemoterapi verilip izlenmeli ve kemoterapinin ardından kalan rezidüel tümör ikincil cerrahi operasyon ile eksize edilmelidir.[66]

2.1.13. Evreleme

Hastalığın vücuttaki yayılımı uygun tedavinin seçimi için çok önemlidir. Nöroblastomun evrelendirilmesinde tümörün büyüklüğü, lenf bezlerinde tutulum olup olmaması ve tümörün metastaz yapıp yapmadığı dikkate alınırken tümörün cerrahi olarak çıkarılabilirliği de önemlidir. Bu sebeple doğru evreleme ancak cerrahi girişim sonrası yapılabilir.

- Evre 1'de, lokalize bir tümör mevcuttur ve cerrahi operasyonla çıkarılır mikroskobik tümör rezidü kalmış olabilir. Tümöre yakın lenf nodları tutulmuş olsada aynı taraf lenf nodları tutulmamıştır

- Evre 2A'da, tamamen çıkarılamamış tümör (orta hattı geçmemiş) tümörün

çevresindeki lenf bezlerinde tutulum yok. Evre 2B'de, tamamen çıkarılmış veya çıkarılamamış tümör (orta hattı geçmemiş) tümörün komşuluğundaki lenf bezlerinde de tutulum mevcuttur.

- Evre 3'de, orta hattı aşmış tümör bölgesel lenf nodu tutulumu olabilir, unilateral tümör kontralateral lenf nodu tutulumu ya da orta hat tümörü bilateral lenf nodu tutulumu olabilir.

- Evre 4'de, uzak lenf nodu, kemik, kemik iliği, karaciğer veya diğer organlar içeren yaygın hastalıklar olarak kabul edilir.

- Evre 4S, iyi prognoza sahip farklı bir gruptur. Bu grubu, 1 yaşından küçük evre 4 gibi seyreden hastalardan ayırmak önemlidir. Bu ayırımı yaparken, tümör dokusundan yapılan genetik analizlerin önemli bir yer bulunmaktadır. Evre 4S tümörlerin birçoğunda DI hiperdiploiddir ve hastaların en fazla % 10'nunda MYCN amplifikasyon bulunmaktadır. Evre 4'de ise DI daha sık olarak diploiddir ve MYCN amplifikasyonu daha sık olarak bulunmaktadır (1/3 olguda). Ayrıca, kemik iliğinin tutulumu (>% 10) evre 4 olarak kabul edilir.[67]

2.1.14. Prognostik Faktörler

Hastalığın evresi: Nöroblastomun bilinen en önemli prognostik faktörlerinden bir tanesidir. Hastaların yaklaşık dörtte birinde tümör sınırlı ve düşük evre olup prognozu iyidir. Fakat % 60 hastada hastalık tanı anında yaygındır ve bu grupta geliştirilmiş yoğun tedavilere rağmen prognoz oldukça kötüdür.[68]

Tanı anındaki yaş: Yaşam hızını doğrudan etkileyen bağımsız bir faktördür. Tanı anında bir yaşın altında olan hastaların prognozunun, büyük yaştaki hastalara göre daha iyi prognoza sahip oldukları bilinir. NB için yaş sınırı 18 ay olarak belirlenmiştir, çünkü yapılan çalışmlarda evre 4, MYCN negatif hastalarda; 12 aydan küçükler ile 12-18 ay arasındakilerin sonuçları benzer bulunmuştur. Adölesan yaş grubunda tanı alan hastalarda prognozun kötü olduğu bilinmektedir.[69,70] Tablo 1 ve tablo 2'de prognostik faktörler verilmiştir.

Tablo 1. Bazı prognostik faktörler[71]

Prognostik faktör	İyi	Kötü
Klinik faktörler		
evre	1,2,4S	3,4
yaş*	<1	>1
Tümör belirleyiciler		
ferritin	Düşük	Kötü
LDH	Düşük	Kötü
NSE	Düşük	Kötü
histoloji	İyi histoloji	Kötü histoloji
Biyolojik faktörler		
MYC-N onkogeni	Normal kopya sayısı	Artmış kopya sayısı
DNA indeksi	Hiperdiploid	Diploid
1p kromozomu	Normal	Delesyon
17q kromozomu	Normal	Fazla
TRK-A ekpresyonu	Yüksek	Düşük
TRK-C ekpresyonu	Yüksek	Düşük
TRK-B ekpresyonu		Yüksek
CD44 ekpresyonu	Yüksek	Düşük
MRP ekpresyonu	Düşük	Yüksek
Vaskülarite	Düşük	Yüksek

*bazı yayınlarda 18 ay olarak kabul edilmekte

Tablo 2. Shimada sistemine göre prognostik sınıflama [71]

Shimada prognostik sınıfı	Yaş	Diferensiasyon	Mitoz karyoreksis indeksi
Kötü	<18 ay	Andiferansiye	Herhangi
İyi	<18 ay	Az diferansiye veya Diferansiye	Düşük(<%2) veya orta (%2-4)
Kötü	<18 ay	Herhangi	Yüksek (>%4)
Kötü	18 ay-5yaş	Andiferansiye veya Az diferansiye	Herhangi
İyi	18 ay-5yaş	Diferansiye	Düşük (<%2)
Kötü	18 ay-5yaş	Diferansiye	Orta (%2-4) veya Yüksek (>%4)
Kötü	>5 yaş	Herhangi	Herhangi

Tümör histopatolojisi: İyi veya kötü prognostik gruplar Schwann stroma miktarı, hücresel farklılaşma ve mitoz-karyoreksis indeksine göre tanımlanır ve bu özellikler malign alt grubun davranışını belirler. Tümörler baskın nöroblastik komponentin tipi, farklılaşma derecesi ve mitoz karyoreksis indeksini (MKİ) belirleyen mitotik ve karyorektik hücre oranı esas alınarak gruplanır. Nöroblastom ve ganglionöroblastom kötü, ganglionörom ise iyi histolojili grupta yer alır. Mikroskop sahasında sayılan hücre oranına göre MKİ % 2'nin altında ise düşük, % 4'ten fazla ise yüksek, % 2-4 ise orta riskli grupta değerlendirilir. Kötü histolojili tümörlerin daha agresif seyrettiği ve MYCN onkogen kopya sayısının bu tümörlerle sıklıkla birlikte bulunduğu bildirilmiştir.[63,64]

MYCN onkogen sayısı: Nöroblastomda klinik gidiş ile yakın ilişkili olduğu ispatlanmış en önemli genetik değişikliklerden biri artmış MYCN onkogen kopya sayısıdır. Hastaların risk grubunun belirlenmesinde, tedaviye yanıt, genel yaşam hızlarının tahmininde hastanın yaşından ve evresinden bağımsız olarak gösterilen önemli bir göstergedir. Tümöründe artmış MYCN onkogen kopya sayısı gösterilen hastalarda baslangıçta yaygın hastalık, hızlı hastalık progresyonu, tedaviye yanıtsızlık ve ölüm oranı yüksektir. Kopya sayısı 10'un üzerinde olan hastalarda prognoz kötüdür.[19,20]

Tümör dokusunun DNA içeriği: Hiperdiploidi sıklıkla 1 yaş altı tümörlerde görülür, yaşam hızları oldukça iyidir. Bu yaş grubundaki diploid tümörlerde ise erken tedavi başarısızlığı sık görülür. Diploidi ile artmış MYCN kopya sayısı sıklıkla birliktedir, ancak aksi raporlar da vardır.[23,24]

Serum tümör belirleyicileri: LDH yüksekliği (>1500 U/L), NSE değerinin 100 ng/mL üzerinde olması, ferritin yüksekliği (>150 ng/mL), VMA/HVA oranının >1 olması NBL için kötü prognostik özelliklerdir.[13,14]

Kromozom anormallikleri: En sık görülen genetik anomali 17. kromozom uzun kolunda trizomidir. Tüm kromozomun trizomisi düşük evreli tümörlerle birlikte görülürken, parsiyel trizomi yüksek evreli tümörlerle ve kötü gidiş ile ilişkilidir. Trizomi 17 sıklıkla dengeli olmayan 1:17 translokasyon şeklinde görülür ve 1p distal kısmında delesyon ile birliktedir. Allelik 1p kaybı yüksek riskli nöroblastom özellikleri ile birliktedir. Tek başına 11q kaybı kötü yaşam hızı ile bağlantılı değilken, normal MYCN kopya sayısına sahip tümörlerde daha düşük yaşam hızı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Nörotropinler ve Nörotropin Reseptörleri: Nörotrofin sinyali, normal

nöron gelişiminde rol oynadığı ve sempatik sinir sistemi hücrelerinin NBL hücrelerine dönüşmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Nörotrofin reseptörlerinin (Trk-A, Trk-B ve Trk-C) ve onların ligandlarının (NGF, BDNF ve NT-3) NBL gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Trk-A ekspresyonunun, hücrelerin farklılaşması ve apopitoziste rol oynadığı bilinmektedir. Trk-A/NGF yolağı nöroblastların ganglion hücresine farklılaşmasına veya Evre 4S tümörlerde görülen apopitozis yoluyla tümörün spontan regresyonuna aracılık eder. Trk-A yüksek aktivasyonu iyi klinik özellikler (küçük yaş, düşük evre), MYCN amplifikasyonunun bulunmaması ile ilişkilidir ve iyi prognozu gösterir. Trk-B ise proliferatif, migratuar özelliklere sahiptir, ilaç direncini arttırır ve MYCN pozitif olan hastalarda daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir, kötü prognozu gösterir. Trk-C ise TrkA reseptörü ile benzer özellikler gösterir. TRK-C daha çok iyi prognoza sahip tümörlerde gösterilmiştir.[32,33]

2.1.15. Tedavi

Nöroblastom tedavisinde cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli tedavi yöntemleri yer almaktadır. Yukarıda sayılanların yanısıra diğer terapiler de uygulanabilir. Bu seçenekler şunlardır: Radyoaktif madde ile işaretlenmiş *metiliyotbenzilguanidin* (MIBG terapisi), bir yüksek dozajlı kemoterapi (megaterapi de denir) ve bunu takiben otolog kök hücre nakli ve retinoik asit de kullanılabilir. Klinik tablo çok çeşitli olduğu için tedavi yöntemleride aynı şekilde çeşitlilik göstermektedir bu nedenle nöroblastomun tedavi seçimi klinik ve biyolojik bulguları ile oluşturulan risk gruplarına göre yapılmaktadır. Tablo 3'te nöroblastomda risk sınıflaması verilmiştir.

Tablo 3. Çocuk onkoloji grubunun (COG) kabul ettiği ve TPOG NB 2009 protokolünde kullanılan nöroblastom risk sınıflaması[71]

INSS Evre	Yaş (yıl)	MYCN Amplifikasyonu	Shimada Histolojisi	1p veya 11q veya 17q aberasyonu
Düşük Risk				
1	0-21	Herhangi	Herhangi	Herhangi
2A-2B	<18 ay	Herhangi	Herhangi	Herhangi
2A-2B	≥18 ay	(-)	Herhangi	(-)
4S	<12 ay	(-)	İyi	(-)
Orta Risk				
İyi histoloji				
2A-2B	≥18 ay	(-)	herhangi	(+)
3	herhangi	(-)	iyi	(-)
4	<18 ay	(-)	iyi	(-)
4S	<12 ay	(-)	iyi	herhangi
Kötü histoloji				
4	<1	(-)	kötü	>1
3-4	≥1	(-)	kötü	herhangi
3				
4S	<1	(-)	iyi	1
Yüksek risk				
2A-2B	≥18 ay	(+)	herhangi	herhangi
3	0-21	(+)	herhangi	herhangi
3	≥18 ay	(-)	kötü	herhangi
4	≥18 ay	herhangi	herhangi	herhangi
4	<18 ay	(+)	herhangi	herhangi
4S	<12 ay	(+)	herhangi	herhangi

2.1.15.1. Düşük Riskli Hasta Grubunda Tedavi

Evre 1, Evre2A-2B ve 4S nöroblastomların büyük kısmı düşük risk grubu kabul edilmektedir. Tüm Evre 1 hastalarda tümörün cerrahi rezeksiyonu yeterlidir ancak rezeksiyon tam yapılamadıysa bile iyi biyolojik özelliklere sahip olanlarda KT başlanmamasını önerenler var hastalık nüks olursa KT ile tedavi edilir. Totala yakın eksizyon ile genel yaşam tüm yaşlarda > % 90 bulunmuştur. Evre 2A ve 2B de hasta 1 yaşından küçükse ve iyi biyolojik özelliklere sahipse yalnızca totale yakın cerrahi tedavi yeterliyken; % 50'ten daha azı çıkarılabilen Evre 2 tümörlerde ise kısa süreli ve hafif yoğunlukta kemoterapiden sonra ikincil cerrahi operasyon önerilmektedir.[72,73] Evre 4S olup hiperdiploidili, iyi histolojiliye sahip ve MYCN amplifikasyonu bulunmayan hastalarda genel yaşam % 85'tir. Her Evre 4S düşünülen hastada tanısal biyopsi

yapılmalıdır. Tanı koymak amacı ile yapılan biyopsi ve genetik incelemeler sonucunda düşük risk grubuna giren özellikle 6 ayın altındaki hastalar spontan regresyon açısından yakın takip edilir. Masif hepatomegali sebebiyle bası bulguları olan veya ağır solunum sıkıntısı olan hastalara KT ve RT verilir. Kötü biyolojik özelliklere sahip Evre 4S hastalar orta veya yüksek risk grubuna dahil edilir ve buna uygun tedavi verilir.[74,75] Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Nöroblastom 2009 çalışmasında hastaların % 31'i düşük risk grubunda olup 5 yıllık olaysız sağkalım % 90, genel sağkalım % 98 bulunmuştur.[71]

2.1.15.2. Orta Riskli Grubunda Tedavi

Heterojen özellikleri nedeniyle orta risk grubu, histopatolojilerine göre 2 alt gruba ayrılır ve tedavileri buna göre planlanmaktadır. Metastatik hastalığı olan (INSS Evre 4) infantlar ve MYCN amplifikasyonu olmayan, iyi biyolojik özelliklere sahip tüm Evre 3 hastalar ve Evre 4S, MYCN amplifikasyonu olmayan, kötü histolojili olan ve/veya DI=1 olan hastalar da bu gruba dahil olurlar. Tanıda tümörün % 90 eksizyonu yapılamayacak hastalarda sadece biyopsi yapılır, histopatolojik ve biyolojik özelliklerine göre siklofosfamid, karboplatin, etoposid ve doksorubisin içeren KT protokolleri 4-8 kür verilir.[76,77] Kemoterapi sonrası küçülen tümöre gecikmiş cerrahi uygulanır. Radyoterapi ise kemoterapinin ardından uygulanan cerrahi sonrasında patoloji raporunda canlı tümör bulunması yada tanı anında MIBG (+) hastalarda kemoterapi sonrasıda MIBG tutulumunun devam etmesi durumunda verilebilir. Heterojen bir grup olduğundan farklı sağ kalım oranları bildirilmiştir. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Nöroblastom 2009 çalışmasında hastaların % 22'si orta risk grubundadır. İyi histolojili grupta 5 yıllık olaysız sağkalım % 93, genel sağkalım % 100; kötü histolojili grupta ise sırasıyla % 76 ve % 90 olarak bulunmuştur.[71]

2.1.15.3. Yüksek Riskli Hasta Grubunda Tedavi

Yüksek risk grubunda; Evre 2a-2b, 1 yaşından büyük olan, MYCN (+) ve kötü histolojiye sahip hastalar; Evre 3, 1 yaşından büyük olan, kötü histolojiye sahip hastalar; Evre 4, 1 yaşından büyük tüm hastalar ve Evre 3, 4 veya 4S, MYCN (+) bütün hastalar yer almaktadır. Yoğun KT rejimleri ile tam ve kısmi remisyon oranları artmıştır, ancak genel yaşam oranı % 40'ın altındadır. Bu gruptaki hastaların tedavisi indüksiyon,

konsolidasyon ve idame olmak üzere 3 bölümden oluşur.

İndüksiyon kemoterapisi; Amaç primer tümör ve metastazlarında maksimum küçülme sağlanarak tümör yükünden azaltmaktır. Farklı tedavi protokolleri mevcuttur en sık kullanılan ilaçlar; siklofosfamid, karboplatin, etoposid, vinkristin, doksorubisin ve topotekandır. Tedavi yaklaşık 6 ay sürmektedir. Tedavi sonunda yanıt ile uzun dönem sağ kalım arasında ilişki bulunmaktadır. Kemik veya Kİ metastazlarının indüksiyon sonunda stabil kalması ise kötü prognozu gösterir. Yoğun tedaviye rağmen hastaların %10'unda tedavi altında progresyon gelişir.[2]

Konsolidasyon tedavisi; Konsolidasyon tedavisinin amacı miyeloablatif tedavi ve ardından otolog kök hücre nakli (OKHN) yaparak hastalığı tamamen ortadan kaldırmaktır. Miyeloablatif tedavi en sık kullanılan karboplatin, etoposid ve melfelandır. Periferal kök hücre transplantasyonu hematolojik düzelmenin daha hızlı, malign hücre kontaminasyonu az olması ve morbiditenin daha düşük olması nedenleriyle kök hücre kaynağı olarak önerilmekte, 3-4 kür indüksiyon tedavisinden sonra hücrelerin toplanması ile in-vivo tümör hücreleri temizlenmektedir. Cerrahi ile patolojik canlı tümör gösterilmiş olgularda yada tanı anında MIBG çalışılmış ve pozitif bulunmuş hastalarda hastalarda miyeloablatif tedaviden önce ya da sonra primer tümör bölgesinde aktif rezidüel tümör dokusu mevcut ise radyoterapi uygulanabilir. Diğer solid tümörlerde de üstünlüğü olmayan allojenik transplantasyonun, nöroblastomada da bir üstünlüğü gösterilmemiştir.[2]

İdame tedavisi; Yüksek riskli nöroblastom tanılı hastaların yaklaşık yarısı etkili indüksiyon ve konsolidasyon tedavilerine rağmen relaps yapar. Tedavinin bu aşamasında amaç minimal rezidüel tümörü ortadan kaldırmaktır. Bu amaçla 13-cis retinoik asit, anti-gangliosid (GD2) monoclonal antikorlar, granülosit- makrofaj uyarıcı faktör (GM-CSF) veya interlökin-2 (IL-2) sitokinleri kullanılabilir. Yapılan randomize çalışmalarda, yüksek risk grubundaki minimal rezidüel hastalık tedavisinde 13-cis retinoik asit kullanımının etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir.[78-81]

2.1.16. Cerrahi Tedavi

Cerrahi girişim hem tanı koymak, hemde tedavi yapmak için kullanıldığından nöroblastom tedavisinde önemli rol oynar. Bütün çocukluk çağı tümörlerinde olduğu gibi tümörün tamamen eksize edilmesi veya mümkün olan en küçük hale getirilmesi

prognoz açısından önemlidir. Tedavi verilmeden önce yapılan primer cerrahinin amacı; biyolojik incelemeler için doku örneği almak (biyopsi) ve tanı koymak, tümörün yayılımını (evreleme) belirlemek ve mümkünse tümörün çıkarmaktır (eksizyon). Geç primer veya ikincil bakış cerrahi ise; cerrah rezidü tümörü çıkarır ve de önceden verilmiş olan tedaviye cevabın değerlendirilmesine katkıda bulunur.[53]

2.1.17. Radyoterapi

Düşük risk grubundaki nöroblastom hastalarında radyoterapinin rolü bulunmamaktadır. Orta risk grubundaki hastalarda ise COG (*Children's Oncology Group*) çalışmaları radyoterapi kullanımı sınırlı tutmaktadır ancak üçüncül cerrahi sonrasında canlı tümör hücresi bulunan hastalarda primer tümör bölgesine adjuvan radyoterapi uygulamasına yapılmaktadır. Yüksek risk hasta grubunda radyoterapinin rolü orta risk grubuna göre daha fazladır. İleri evre nöroblastomda yoğun sistemik tedavinin yanında primer tümöre cerrahi yapılmasının tümörün lokal kontrolünü sağladığı ve sağkalımı arttırdığı bilinmektedir. Hastalığın sistemik tedavi sonrasında relaps olasılığı bulunmaktadır. Bu sebeple primer tümör bölgesine ve uzak metastazlara uygulanan radyoterapi sağkalım arttırabilir. Radyoterapi uzak metastazı olan hastalarda semptomların, hızlı büyüyen bir tümörün oluşturduğu basının ve kemik ya da viseral metastazlara ilişkin ağrının azaltılmasında kullanılabilmektedir.[53]

2.1.18. MIBG Tedavisi

Radyoaktif işaretli MIBG (^{131}I-MIBG) nöroblastom için oldukça duyarlı ve özgül bir belirleyicidir. Tümöre özgül radyoterapinin organ hasarı olmaksızın yüksek dozlarda verilebilmesi nedeniyle 1980'lerden beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Tanı sırasında MIBG pozitifliği olan hastalarda; 6 blok indüksiyon kemoterapisinden sonra yoğun KT almış olan her hastaya rezidüel tümörün MIBG tutup tutmaması göz önüne alınmadan MIBG tedavisi uygulanabilir. Tanı sırasında tümörü MIBG tutmayan hastalara; MIBG tedavisi uygulanmaz. Son çalışmalarda ileri evre tedaviye yanıtsız nöroblastomlu hastalarda geniş aralıklarla multipl ^{131}I-MIBG infüzyonları verilmesinin tek infüzyona göre daha etkin olduğu ve yanıt oranının % 39'a çıktığı bildirilmiştir. Başlangıçta ^{131}I-MIBG tedavisine yanıt veren, ancak diger tedavilerini alırken progresyon gösteren hastaların da ikinci MIBG infüzyonuna yanıt verdigi bildirilmiştir.

Tedaviye yanıtsız hastalarda ^{131}I-MIBG ile kombine olarak kemoterapi verilmesi de denenmiş ve etkili bulunmuştur. Akut yan etkileri; kemik iliği toksitesi, ektravazasyon halinde dermal nekroz, göğüs ağrısı, ateş, interstisyel, pnömoni, mukozit. Geç yan etkileri; tiroid fonksiyonlarında bozulma, sekonder kanserler.[53]

2.1.19. Yeni Tedavi Yaklaşımları

Farklı biyolojik özelliklere sahip tümörün moleküler yapısı anlaşıldıkça yeni anti-tümör tedaviler bulunmaktadır. Klasik tedaviler ile başarı sağlanamayan relaps ya da refrakter hastalarda apopitotik ajanlar, monoklonal antikorlar, MIBG tedavisi, differansiye edici tedaviler ve anti-anjiojenik ajanlar gibi alternatif yeni tedaviler denenebilir.

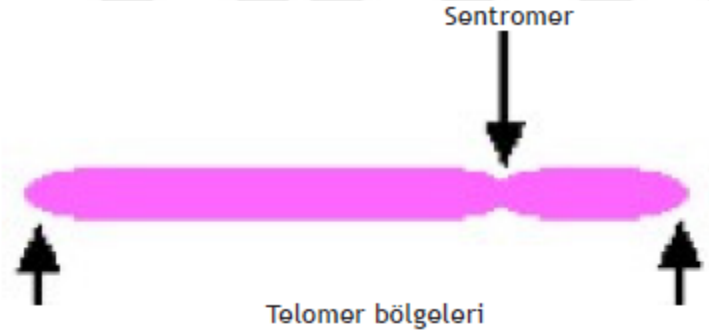
2.1.20. Tedavinin Geç Yan Etkileri

Nöroblastomlu hastalar tedavisi için uygulanan cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin geç yan etkilerine maruz kalırlar. Düşük veya orta riskli hastalarda daha çok kas ve iskelet sistemi sorunları ile paraspinal hastalık veya cerrahinin neden olduğu parestezi, parapleji ve nörojenik mesane görülür. Yüksek riskli hastalarda ise geç etkiler, almış oldukları çoklu ve ağır tedaviler nedeniyle daha ağırdır. Platin bileşikleri nöroblastomda kemoterapi şemaları içinde sık kullanılmaktadır ve sisplatine bağlı işitme kaybı görülmektedir.[82] Özellikle genç yaştaki işitme kaybı konuşma ve öğrenmede güçlük yaratır, hayat kalitesini olumsuz etkiler. Baş ve boyun bölgesine verilen radyoterapi ve MIBG tedavisi; tiroid fonksiyon bozukluğu, yüksek dozda alkilleyici ajanlar ve radyoterapi; over ve testis fonksiyon bozuklukları, KİT öncesi hazırlık şemalarında verilebilen tüm vücut ışınlama; büyüme geriliği gibi endokrin sorunlara neden olur.[83] Pulmoner, kardiyak, renal ve nörolojik problemler ortaya çıkabileceği gibi geç dönemde lösemi, tiroid tümörleri, yumuşak doku sarkomları ve osteosarkom gibi ikincil tümörler de bildirilmiştir.[84]

2.2. Telomeraz Enzimi

2.2.1. Telomer

Kromozomların uçlarında yer alan protein ve DNA içeren, tekrarlayan TTAGGG ünitelerinden oluşan bölgelerdir. Kromozomların uç bölgesinin bütünlüğünün korunması, DNA replikasyonunun doğru bir biçimde yapılabilmesi ve interfaz çekirdeğinin üç boyutlu yapısının kurulmasında da önemli görev aldığı bilinmektedir.[85] Her hücresel bölünmede DNA polimerazın kesintisiz zincirin 3'ucunu tamamını replike edememesi sebebiyle, telomerik uçlardan bir miktar DNA kaybedilmekte ve bu kısalmanın da hücresel yaşlanmaya yol açtığı ileri sürülmektedir. Hücrenin yaşlanmadan ölümsüzlüğe ulaşabilmesi için bu kontrol edici mekanizmanın atlatılması gerekmektedir.[86] Şekil 1'de telomerlerin kromozom üzerindeki yerleri gösterilmiştir.



Şekil 1. Telomerlerin kromozomdaki yeri [85]

2.2.2.Telomeraz

Kendi RNA alt birimini kalıp olarak kullanarak sentezlediği hekzamerik tekrarları (TTAGGG), telomer uçlarına ekleyen ribonükleoprotein yapısında DNA polimerazdır. Hücrelerin sınırsızca çoğalma yeteneği kazanmasında telomerazın yeniden aktivasyonunun en önemli mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Telomerazın yeniden aktivasyonu, birçok insan malignitesinde ağırlıklı olarak bulunmuştur, bu da telomeraz aktivasyonunun malign tümör büyümesinde etkili bir rol oynadığını düşündürmektedir ancak normal somatik insan dokusunda ağırlıklı olarak telomeraz aktivitesi bulunmamaktadır. Bu nedenle telomeraz enzimini hem kanser tanısında hem

de tedavisinde önemli hale gelmiştir.[87,88]

2.2.3. Telomeraz Enzimleri ve Alt Birimleri

Greider ve Blackburn tarafından 1985 yılında "*tetrahymena thermophila*"da, tanımlanmış olan telomeraz enzimi, 550 kDa boyutunda hücresel bir ribonükleoproteindir.[87] Telomeraz enzimi ters transkriptaz aktivitesine sahip katalitik bir alt birim (hTERT) ve bir RNA (hTR) alt ünitesinden oluşur. Telomeraz aktivitesi için her iki alt birimin varlığı zorunludur. Her ne kadar hTR yapısal olarak tüm dokularda eksprese edilmiş olsa da, hTERT ekspresyonu telomeraz pozitif doku ile sınırlı görünmektedir, bu da hTERT'nin telomeraz aktivitesi için sınırlayıcı faktör olduğunu gösterir.[89,90]

2.2.4. Telomeraz Enzimi Ölçüm Yöntemleri

Kim ve arkadaşları (1994) hücre ve dokulardaki telomeraz aktivitesinin belirleyebilmek için TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol Telomerik Tekrarların Çoğaltılması) yöntemi geliştirmiş ve 24 farklı kanser türünde çalışarak, kanser ile telomeraz aktivasyonu arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Fakat bu yöntemde aktiviteyi saptamak zor ve güvenilir değildir bu nedenle sonuçlar negatif veya pozitif olarak değerlendirilmektedir. TRAP'da karşılaşılan zorlukları aşabilmek ve uygulamayı kolaylaştırmak için TRAP-eze ve TRAP-eze-Elisa kitleri geliştirilmiştir.[91]

Yajima ve arkadaşları hTER'in gösterilme düzeyini belirlemek için RTPCR yöntemini geliştirmişlerdir. Bu yöntemde spesifik PCR ürününün değerlendirilmesi için DNA polimerazın 5'→3' ekzonükleaz aktivitesinden yararlanılır.[92]

Fletcher ve arkadaşları primerin parçalanmamış olan çekirdeğin içerisine uzatılmasını sağlayan bir sistem bulmuşlardır. İnsan T-lösemik hücrelerinden izotonik olarak izole edilen çekirdeklerdeki telomeraz aktivitesi çok düşük bir seviyededir. Ancak dört kadar TTAGGG telomerik tekrar dizisini ekleyebilir. Telomeraz aktivitesinin doğal ortamında araştırılması, enzimin işlevinin tam olarak aydınlatılmasına yardımcı olabileceği gibi yeni bulunan telomeraz inhibitörlerinin değerlendirilmesinde de kullanışlı bir sistem olduğu düşünülmüştür.[93]

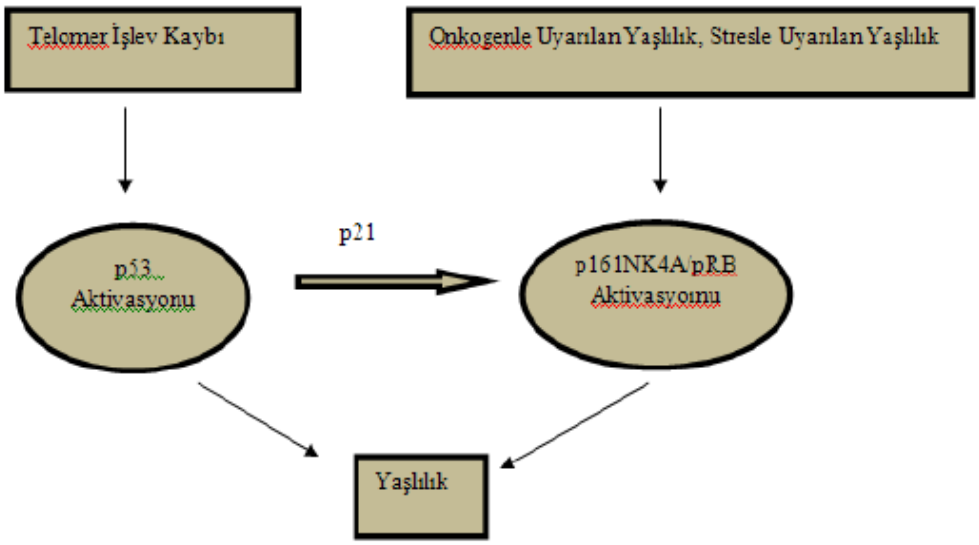
Hirose ve arkadaşları TMA/HPA yöntemini önermişlerdir. Bu yöntemin uygulaması kolay ve hızlıdır; ayrıca klinik örneklerden gelebilecek TRAP

inhibitörlerinden çok az etkilenmektedir. Bu yöntem RNA'larla hibridize olmuş ve olmamış probların farklı şekilde hidroliz olmalarına ve telomeraz tarafından uzatılacak primere promotor eklenmesi temeline dayanır.[94]

Eğer TRAP yöntemi kullanılacaksa *PicoGreen* ile *"stretchPCR"* yönteminin uygulanması, RT-PCR yöntemi kullanılacaksa hTERT'in ifade edilme düzeyinin saptanması tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalar, hTERT ve telomeraz aktivitesi arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir.[91]

2.2.5. Normal ve Kanser Hücrelerindeki Telomeraz Aktivitesi

Çoğalma yeteneği fazla olan germ hücreleri, hematopoietik, epidermal, intestinal hücreler ile bazı kök hücre toplulukları dışındaki diğer somatik hücrelerde telomeraz aktivasyonu yoktur ve ilerleyen yaşla beraber mitotik replikasyona bağlı olarak telomerlerde gözlenen kısalma, hücresel yaşlanmaya neden olmaktadır.[95] İnsan hücrelerinde replikasyonu sınırlayan iki yolak vardır. Bunlardan birincisi telomer bağımlı (p53 bağımlı), ikinci ise p16INK4A ve pRB tümör supresörlerine bağlı (kısmen tanımlanmış ve stres sinyalleri ile uyarılan) yolaklardır. Genelde bu yolaklar onkogenler tarafından uyarılarak yaşlılık sırasında aktive olabilirmektedir. p53/p21 ve p161NK4A/pRB genleri stres bağlı olarak erken yaşlılığı tetikleyebilir ve sonrasında da bozulmuş telomer işlevi yaşlanmayı başlatabilir.[96] Şekil 2'de yaşlanma mekanizması verilmiştir.



Şekil 2. Yaşlanma mekanizması[96]

Yaşlanmadan kaçarak ölümsüzlük kazanan tümör hücrelerinin, genetik durumunu ve telomer uzunluğunu sürdürebilmesi için telomeraz aktivitesine ihtiyaçları bulunmaktadır. Fakat telomeraz enzimi tek başına normal bir hücreyi kanser hücresine dönüştüremez ancak hücrelerin sınırsız çoğalma kapasitesine sahip olmasını sağlar. Böylece hücreler ölümsüz hale gelerek ve telomer uzunluklarını koruyabilir. Retinadaki pigment epitel hücreleri, fibroblastlar ve umblikal korddaki endotel hücreleri gibi normal hücrelere hTERT geninin aktarılmasıyla, bu hücrelerin çoğalma kapasitelerini arttığı fakat transformasyona uğramadığı, hücre siklusundaki kontrol noktalarının çalıştığı, bu hücrelerin yumuşak agarda ve "nude" farede tümör hücresi oluşturamadıkları gösterilmiştir. İyi huylu tümörlerde telomeraz aktivitesi yoktur ve telomerleri kısaldıkça erken evrelerine geri dönmektedirler. Agresif ilerleyen metastatik tümörlerde ise yüksek telomeraz aktivitesi gösterilmiştir.[97]

2.2.6. Telomeraz İnhibitörleri

Telomeraz inhibisyonu; hTR veya hTERT'nin transkripsiyonu engellenerek, hTR veya hTERT mRNA'sı parçalanarak, hTERT'nin sentezi ve sentez sonrası modifikasyonları engellenerek, enzimin aktif olan bölgesi inaktif hale getirilerek, hTR ile hTERT'nin birleşmesi, oluşan enzim kompleksinin çekirdeğin içine transfer edilmesi

veya ürünü olan telomerlere bağlanması önlenerek inhibisyon sağlanabilir. Tablo 4'te bugüne kadar üretilen telomeraz inhibitörleri verilmiştir.[98]

Telomeraz inhibitörlerinin kanser tedavisisindeki yeri;

Telomeraz inhibitörü ilaçlar telomerlere karşı etkili ajanlar olarak önerilebilmektedir. Henüz spesifik inhibitörleri bulunmamakla beraber kanser tedavisi için umut vericidir. Agresif kanser hücrelerinin tekrar çoğalmasını önüne geçmek için diğer tedavilerle beraber veya tedavilerden sonra kullanılabilmektedir. Tümöre spesifik olan ilk tedavi şeklidir fakat telomeraz aktivitesi gösteren hücrelerde (hematopoetik hücreler, üreme hücreleri, aktive T ve B lenfositler, proliferatif hücreler) yan etkileri görülebilir. Tablo 4'te telomeraz inhibitörleri verilmiştir.

Telomeraz inhibitörlerinin yıkılmadan vücutta daha uzun süre kalabilecek şekilde ve özellikle malign hücreler tarafından alınacak şekilde kapsüle edilmesi hedeflenmektedir.[99,100]

Tablo 4. Telomeraz inhibitörleri[101]

TELOMERAZ İNHİBİTÖRLERİ
1. Telomeraz katalitik alt birimini (HTERT) hedef alanlar
HTERT transkripsiyon inhibitörler
Revers transkriptaz inhibitörleri
"Hammerhead" ribozimler
2. Telomerazın RNA komponentini hedef alan inhibitörler
"Hammerhead" ribozimler
Peptid nükleik asitler (PNA)
Antisense oligonükleotidler
2,5-oligoadenilat antisense oligonükletidler
2'-ucu modifiye edilmiş RNA analogları
N3' P5' fosforamidatlar, N3'→P5' tiyofosforamidat oligonükleotidler
3. Telomeraza yönelik immün tedavi
4. Telomeraza yönelik gen tedavisi

Telomeraza yönelik immün tedavi

Evrensel bir tümör antijeni olarak son yıllarda dikkat çeken hTERT kaynaklı peptidlerin HLA-2 ile etkileşip işlendiği bilinmektedir. Antijenik peptidler, makrofaj ve dendritik hücreler gibi otolog antijen sunan hücreler (APC) tarafından işlenip endoplazmik retikuluma taşınarak MHC sınıf I lökosit antijen HLA-2 ile birleşmektedir. Ag-MHC kompleksleri sitotoksik T-lenfosit-lerinin (CTL) reseptörlerine bağlanarak koruyucu immün yanıtı indüklemektedir. Telomeraz enzimi için uygulanan immün tedavinin avantajı, telomerik kısalma ve büyümenin duraklatılması için gecikme fazına ihtiyaç duymamasıdır. Yapılan incelemelerde CTL'nin prostat, kolon, meme, akciğer ve melanoma tümör hücrelerini öldürdüğü, ancak CD34 pozitif olan hematopoietik hücreler üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır ki bu da, hTERT'nin kök hücrelerde zayıf bir otoantijen olabileceğini göstermektedir. İleri evre hastalığa sahip olan kişilerde etkili olması beklenmemekle beraber, minimal rezidüel hastalığı olan veya kanser gelişimi açısından risk altında olan kişilere koruma amacıyla immün tedavi uygulanması olasıdır.[102,103]

Telomeraza yönelik gen tedavisi

Plazmidlerin direk tümör içine enjeksiyonu veya telomeraz öncülleri içeren adenoviral vektörler ile gen transferinin yapıldığı "suicide" gen stratejileri umut vermektedir. *"Tumor-specific Replication competent ADdenoviral (hTERTP-TRAD)"* gen tedavisinde, adenoviral vektör ile hem normal hücreyi hem de tümör hücresini infekte etmekte, fakat sadece telomeraz aktivitesi olan hücrelerde çoğalabilmektedir. Çoğaldığı hücreyi parçalar ve çevreye yayılır. Birkaç hafta boyunca aktivitesini korur ve komşu hücreleri bu süreçte infekte eder. hTERTp-TRAD enjeksiyonlarının tümörün boyutunda kısa zamanda küçülme sağlayacağı düşünülmektedir çünkü etkisinin görülmesi için gecikme fazına ihtiyaç duyulmamaktadır. Sistemik hTERTp-TRAD tedavisinden sonra, proliferasyon gösteren intestinal kriptler, spermatositler, bazal ve suprabazal epidermal hücrelerde yan etkilerin diğer sitotoksik ilaçlardan daha az görüldüğü, hematopoietik ve immun hücreler ise adenovirüs ile kolay infekte olmadıkları için etkilenmeleri beklenmemektedir.[99]

3. HASTALAR ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Onkoloji Bilim Dalında 2011-2019 yılları arasında takip ve tedavi edilen ve hastanemizde biyopsi materyalleri bulunan 87 hasta dahil edildi.

Çalışmanın etik kurul onayı 01.06.2018 tarihinde alınmıştır. Ayrıca Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalından hastaların biyopsi materyalleri elde edilmiştir. TTU-2018-11287 numaralı projemiz Çukurova Üniversitesi BAP tarafından desteklendi.

Çalışmaya alınan hastaların dosyaları geriye dönük olarak incelendi. Takip ve tedavi edilen tüm olguların doğum tarihi, başvuru tarihi, yaşı, cinsiyeti, hastalığın evresi, risk faktörü, myc-n amplifikasyonu, VMA düzeyi, tedavi alıp almadığı, relaps varlığı, KİT yapılıp yapılmadığı, son durumu, relaps, progresyon gösterip göstermediği ve tarihleri dosyalardan ve otomasyon sisteminden bulunarak kayıt edildi.

3.1. Telomeraz Enzimi Açısından Örneklerin Değerlendirilmesi

3.1.1. Roche High Pure FFPET RNA Isolation Kit Deparafinizasyonu

En fazla 5 μm büyüklüğünde kesitler 1.5 ml'lik ependorf tüpüne alınarak 800 μl Ksilen eklendi, çok kısa süreli aralıklarla vortekslenerek üzerine 400 μl *Absolute Etanol* eklendi ve kısaca vortekslendi. 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve pellete zarar vermeden süpernatant atıldı ve üzerine 1 ml *Absolute Etanol* eklenerek vortekslendi. 13,200 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve pellete zarar vermeden süpernatant atıldı. *Absolute Etanol* kalıntısını almak için spin down yapılıp pipetle iyice ependorf tüpündeki sıvı alındı. Etanol kalıntısından kurtulmak için tüpün ağzı kağıt havluya dokundurulduru. Pelleti kurutmak için tüpün kapağı açık olacak şekilde 55°C sıcaklıkta 10 dk bekletildi. Gerekli görüldüğünde en fazla 20 dk bekletildi. RNA izolasyon protokolünün 1.basamağına geçildi.

3.1.2. Roche High Pure FFPET RNA Isolation Kit Uygulama Basamakları

Deparafinizasyonu tamamlanan doku parçası temiz bir 1,5ml. ependorf tüpüne alındı.

Üzerine 100 µl RNA *Tissue Lysis Buffer*, 16 ul %10 SDS ve 40 ul *Proteinase K* eklendi.

Tissue Lysis Buffer = 100 µl

%10 SDS = 16 µl

Proteinase K = 40

Toplam = 156 µl

Karışım vortexlendi ve spin yapıldı**.** 600 rpm'de çalkalanarak 85°C sıcaklıkta 30 dk bekletildi. Süre sonunda tüp spin yapıldı ve 55°C sıcaklığa düşmesi beklendi. 80 µl *Proteinase K* eklendi. Karışım vortexlenidi ve spin yapıldı**.** 600 rpm'de çalkalanarak 55°C sıcaklıkta 30 dk bekletildi. Bu aşama sonunda *lysate* net şekilde görülmeli, partikül varsa süre 10 dk daha uzatıldı.

325 ul RNA *Binding Buffer* ve 325 ul *Absolute Etanol* eklendi.

Binding Buffer = 325 µl

Absolute Ethanol = 325 µl

Toplam = 650 µl

Karışım vortekslendi ve *High Pure* Filtreli tüplere alındı, altınada *High Pure Collection* Tüp konuldu. Ardından 8000 rpm'de 30 sn santrifüj edilerek collection tüp değiştirilir. Filtrenin kuruması için 8000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve 100 µl *DNase Working Solution* eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk bekletildi.

DNase Working Solutıon hazırlama:

Her bir örnek için; 90 µl *DNase Incubation Buffer* + 10 µl *DNase I*

500 µl *Wash Buffer* 1 eklenerek 8000 rpm'de 20 sn santrifüj edilir ve *collection* tüp boşaltıldı. 500 µl *Wash Buffer* 2 eklenerek 8000 rpm'de 20 sn santrifüj edilir ve *collection* tüp boşaltıldı. 500 µl *Wash Buffer* 2 eklenerek 8000rpm'de 20 sn santrifüj edilir ve collection tüp boşaltıldı. Filtrenin kuruması için 13200 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Ardından *High Pure* Filtreli tüpün altına temiz bir ependorf tüp konuldu. -25-50 µl arası *Elution Buffer* eklenir ve oda sıcaklığında 1 dk beklendi**.** 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi ve total RNA eldesi gerçekleştirildi.

Transcriptor High Fidelity cDNA *Synthesis* Kit

1. aşamada 1 örnek için;

Random Hexamer Primer (Vial6) = 2 µl

PCR Grade Water (Vial 7) = 2 µl

Total RNA = 9 µl

Toplam = 13 µl

Bu karışım *Thermal Cycler'da*, 65°C'de 10 dk işleme alındı.

2. Aşamada 1 örnek için ise;

Transcriptor High Fidelty Reverse Transcriptase Reaction Buffer (Vial2) = 4 µl

Protector RNase İnhibitor (Vial3) =0,5 µl

dNTP (Vial4) = 2 µl

TRT (Vial1) =0,5 µl

Toplam (Tüplere dağıtılacak miktar) =7 µl

İlk aşamada elde edilen 13 µl Total Hacim üzerine 7µl bu karışım konur.

TOPLAM (Her Tüp içerisindeki hacim) = 20µl

Thermal Cycler'la

25°C'de 10 dk,

50°C'de 60 dk,

85°C'de 5 dk işleme alındı ve cDNA'lar sentezlendi.

3.1.3. Real Time PCR Aşaması

Referans Gen + *Target Gen Mix* Hazırlama *(REAL TIME READY)*

Primer &Probe (Real Time Ready) = 1 µl

Probe Master = 10 µl

Grade water (D.S.) = 4 µl

Total hacim = 15 µl Hazırlanan stoklar playtlere dağıtılır.

Her bir örnek için yukarıdaki protokole 5'er µl cDNA eklenerek, Cobas z 480 cihazında çalışıldı.

Real Time PCR Heat Protokol

Detection format: 3 color hydrolysis probe

LightCycler cihazındaki ısı

Den:

95°C → 10 dk →1 *cycler* (*none*)

Amp:

95°C → 10sn →45 *cycler (none)*

60°C → 30sn →45 *cycler (none)(quantifiye)*

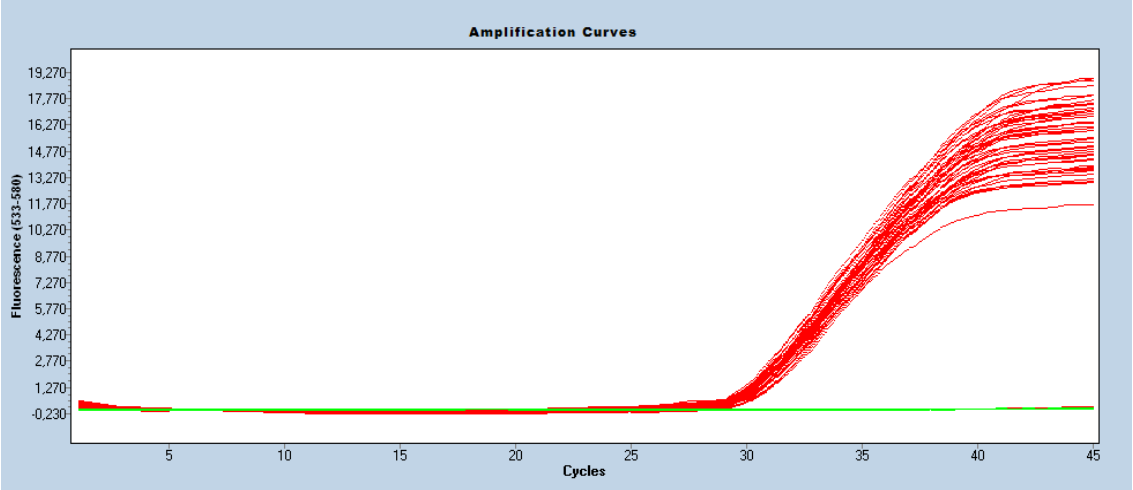
72°C → 1sn →45 *cycler (single)*

Cool:

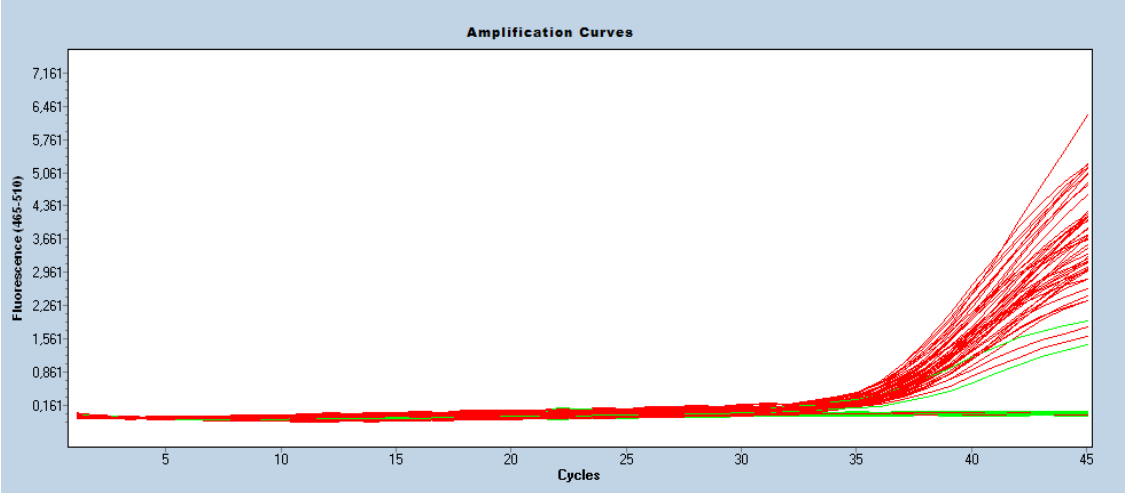
40°C → 1 dk →1 *cycler (none)*

Bu çalışmaların sonunda telomeraz aktivitesi olan örnekler cihazda ışıma vererek maximum dalga boylarına ulaşan örnekler telomeraz aktivitesi var (30-40 cycles arasında), cihazda ışıma yapmayan dalga boyu oluşturmayan görüntüler ise telomeraz aktivitesi yok olarak kayıt edildi.

Roche Cobas z 480 real-time cihazı ile çalışma yapılan örneklerin görüntüsü:



Şekil 3. Referans geni (β-actin) görüntüsü



Şekil 4. hTERT geninin görüntüsü

3.2. İstatistiksel Yöntem

Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Hastalara ait özelliklerin ile sağ kalım ile ilişkisini incelemede Kaplan-Meier analizi altında Log-Rank testi yapıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı. SPSS referansı: IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 Armonk, NY: IBM Corp.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 46 erkek (% 52,9), 41 kız (% 47,1) olmak üzere toplam 87 hasta alınmıştır. Hastalığın en sık tanı alma yaşı 3,39 ± 3,04 yıl idi.

Çalışmamıza katılan 87 hastanın evre, risk grubu, myc-n amplifikasyonu ve VMA düzeyi sistemden ve dosyadan bakılarak çalışmaya alındı. Hastalarımızın 32'si düşük evre (% 36,8), 55'i yüksek evreydi (% 63,2) yine bu hastaların 34'ü düşük risk grubunda (% 39,1), 53'ü yüksek risk grubunda bulunmaktaydı (% 60,9). Çalışmaya alınan hastalarımızın; 9'unda myc-n gen amplifikasyonu pozitif (% 10,3), 45'inde negatif (% 51,7), 33'ünde ise myc-n gen amplifikasyonu çalışılamamıştır (% 37,9), ayrıca 31 hastanın tanı anında idrarda VMA düzeyi yüksek (% 35,6), 55'inde normal (% 63,2) bulunmuş olup, 1 hastada çalışılmamıştır (% 1,1). Nöroblastomlu hastaların klinik özellikleri Tablo 5' te gösterilmiştir.

Tablo 5. Nöroblastom hastalarının klinik özellikleri

Klinik özellikler	**Hasta n (%)**
Evre	
Düşük	32 (36.8)
Yüksek	55 (63.2)
Risk grubu	
Düşük	34 (39.1)
Yüksek	53 (60.9)
Myc-n	
Var	9 (10.3)
Yok	45 (51.7)
Çalışılamadı	33 (37.9)
VMA	
Yüksek	31 (35.6)
Normal	55 (63.2)
Çalışılamadı	1 (1.1)

VMA: Vanil mandelik asit

Hastalarımızın 20'si (% 23) tedaviye gerek görülmeden opere edilerek ya da sık izlem ile takip edildi, 60'ı (% 77) evre ve risk grubuna göre tedavi edilerek takip edildi. 20 hastamıza (% 23) radyoterapi verilirken, 67 hastamız (% 77) radyoterapi almadan takip edilmiştir. 9 hastamız (% 10,3) MIBG tedavisi almışken, 78 hastamız (% 89,7) MIBG tedavisi almamıştır. 13 hastamıza (% 14,9) KİT yapılmıştır, 62 hastamıza (% 71,3) KİT yapılmadan takip edilmiştir ve 12 hastamız da (% 13,8) tedavilerine dış

merkezlerde devam ettiği için bilgilerine ulaşılamamıştır. Hastaların tedavi ayrıntıları Tablo 6' da gösterilmiştir.

Tablo 6. Nöroblastom hastalarının tedavi ayrıntıları

	Hasta n (%)
Tedavi	
Aldı	67 (77)
Almadı	20 (23)
Radyoterapi	
Aldı	20 (23)
Almadı	67 (77)
MIBG tedavisi	
Aldı	9 (10.3)
Almadı	78 (89.7)
KİT	
Yapıldı	13 (14.9)
Yapılmadı	74 (85,1)

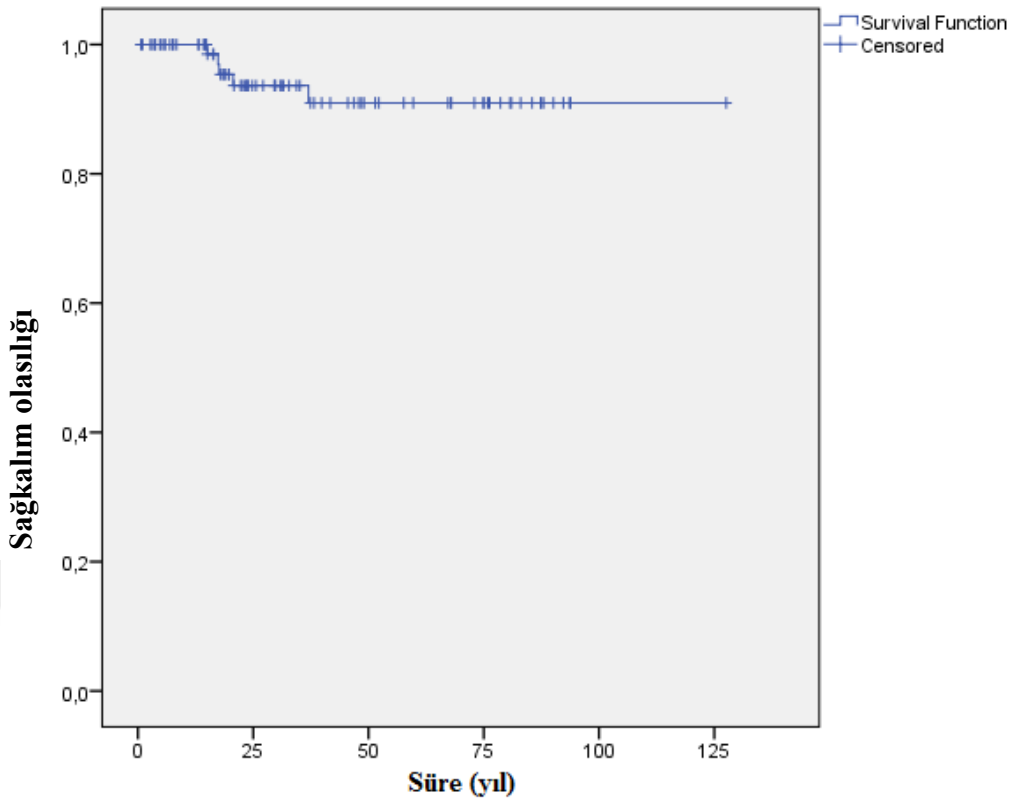
KİT: Kemik iliği transplantasyonu
MIBG: Meta-iyodobenzilguanidin

Hastalarımızın 20'sinde (% 23) relaps gerçeklemiş olup, 67'sinde (% 77) relaps gerçekleşmemiştir. Çalışmaya aldığımız 87 hastanın 62'si (% 71,3) yaşamaktadır, 17'si (% 19,5) ex olmuştur ve 8 (% 9,2) hastanın verilerine ulaşılamamıştır. 49 hastada (% 56,3) progresyon veya relaps görülmüştür. Nöroblastomlu hastaların relaps ve son durumları Tablo 7'de verilmiştir.

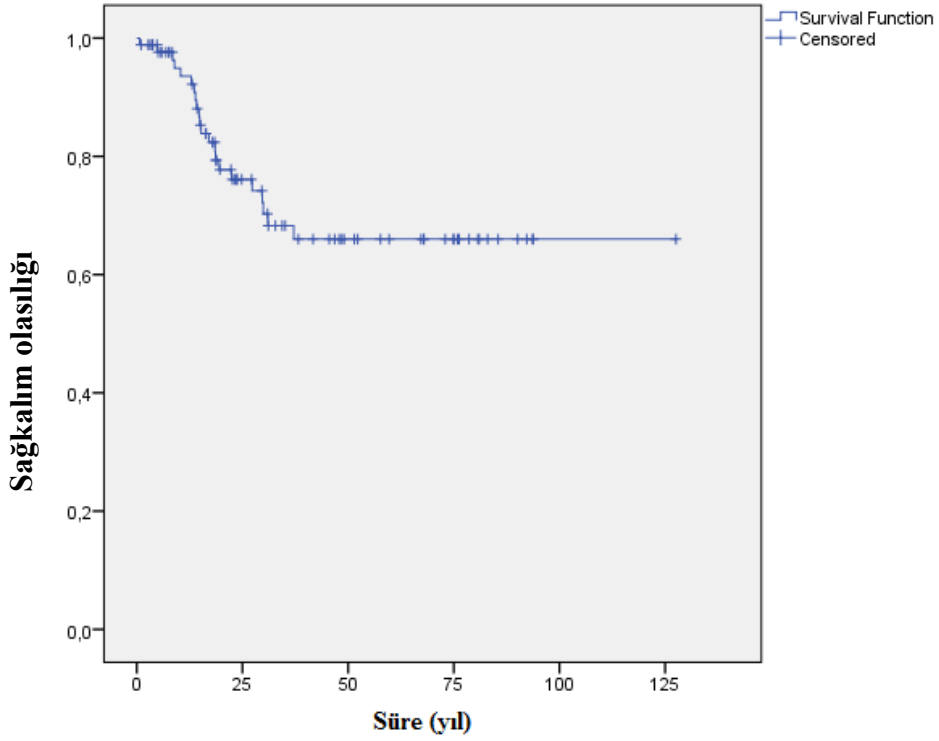
Tablo 7. Nöroblastomlu hastalarda relaps ve son durum

	Hasta n (%)
Relaps	
Var	20 (23)
Yok	67 (77)
Son durum	
Yaşıyor	62 (71.3)
Ex	17 (19.5)
Takipsiz	8 (9.2)

Çalışmamıza alınan nöroblastom hastalarının ortalama 29,6 aylık (0,66-93,8) izlem süresince 8 yıla kadar genel sağkalım olasılığı % 91 bulunmuştur. Şekil 5'te gösterilmiştir. Aynı şekilde bütün nöroblastom hastalarının 29,6 aylık izlem süresince 8 yıla kadar olaysız sağkalım olasılığı ise % 66 bulunmuştur. Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 5. Nöroblastomlu hastalarda sağkalım olasılığı



Şekil 6. Nöroblastomlu hastalarda olaysız sağkalım olasılığı

Çalışmamızda toplam 87 hasta mevcuttu ve bu hastaların 23'ünde (% 26,4) telomeraz aktivitesi vardı, 64'ünde (% 73,6) telomeraz aktivitesi yoktu. Telomeraz aktivitesinin cinsiyet ile ilişkisi açısından yapılan karşılaştırmada kız cinsiyette telomeraz aktivisitesi olanların oranı % 26,8 iken, telomeraz aktivitesi olmayanların oranı % 73,2, telomeraz aktivitesi olan erkeklerin oranı % 26,1 iken telomeraz aktivitesi olmayanların oranı % 73,9 bulunmuştur (p=0,1). Çalışmaya aldığımız hastalarda cinsiyet ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. 0-18 ay arasında olan hastalarda telomeraz aktivitesi olanların oranı % 8,7 iken olmayanların oranı % 24,3 bulunmuştur. 18 aydan büyük hastalarda ise telomeraz aktivitesi olanların oranı % 14,3 iken, olmayanların oranı % 39,7 bulunmuştur. İstatistiksel olarak arada anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=054). Telomeraz aktivitesinin cinsiyet ve yaş arasındaki ilişki Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Telomeraz aktivitesinin cinsiyet ve yaş ilişkisi

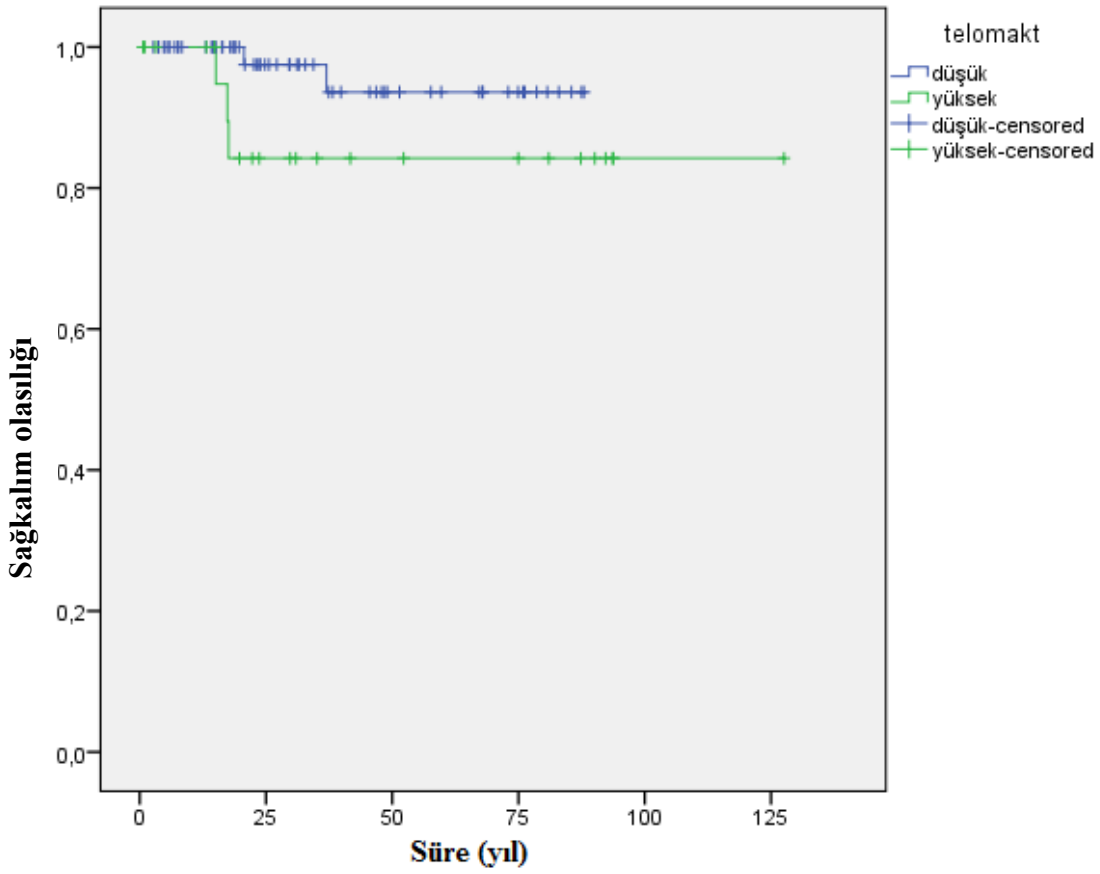
Telomeraz aktivitesi	**Var n (%)**	**Yok n (%)**	**p değeri**
Cinsiyet			
Kız	11 (26,8)	30 (73,2)	0,1
Erkek	12 (26,1)	34 (73,9)	
Yaş (%)			
0-18 ay	7 (8,7)	26 (24,3)	0,54
>18 ay	16 (14,3)	38 (39,7)	

Telomeraz aktivitesi olan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 84 iken, telomeraz aktivitesi olmayan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 93 bulunmuştur ve yaşam süreleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,112). Tablo 9'da ve Şekil 7'de gösterilmiştir.

Tablo 9. Telomeraz aktvitesinin yaşam süresi ile ilişkisi

	Hasta n (%)	**OS %**	**p değeri**
Telomeraz aktivitesi			
Var	23 (23,6)	84	0,112
Yok	64 (76,4)	93	

OS: son durum



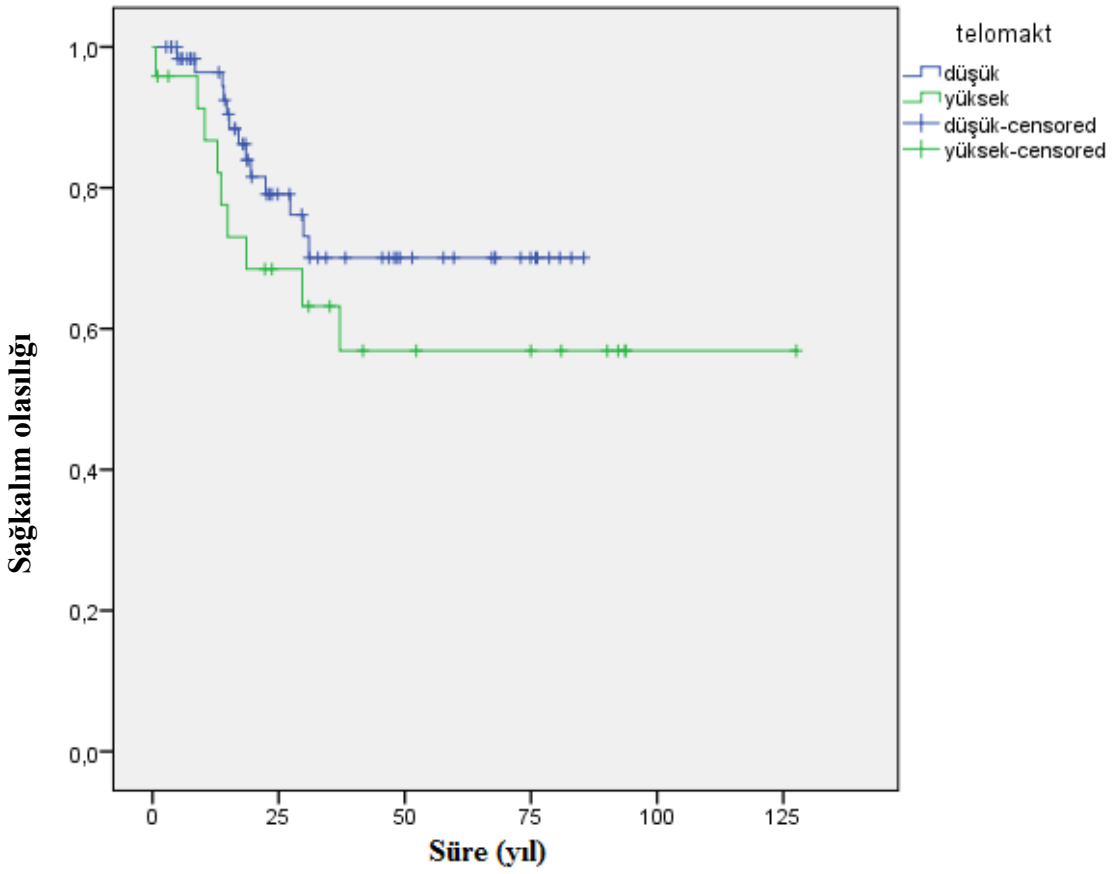
Şekil 7. Telomeraz aktivitesinin yaşam süresi ile ilişkisi

Çalışmaya alınan hastalarımızda telomeraz aktivitesi olanların 8 yıla kadar olaysız yaşam olasılığı % 56 iken telomeraz aktivitesi olmayanların 8 yıla kadar olaysız yaşam olasılığı % 70 olarak bulundu aralarında istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,222). Tablo 10'da ve şekil 8'de gösterilmiştir.

Tablo10. Telomeraz aktvitesinin olaysız yaşam süresi ile ilişkisi

	Hasta n (%)	**EFS %**	**p değeri**
Telomeraz aktivitesi			
Var	23 (23,6)	56	0,222
Yok	64 (76,4)	70	

EFS: Olaysız sağkalım



Şekil 8. Olaysız sağkalım olasılığı

Düşük evreli hasta grubunda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 31,2 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 68,8 olarak bulunmuştur. Yüksek evreli hasta grubunda ise telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 23,6 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 76,4 olarak gelmiştir (p=0,600). İstatiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktaydı. Düşük riskli gruptaki hastalarda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 32,4 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 67,6 olarak bulunmuştur. Yüksek risk grubundaki hastalarda ise telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 22,6 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 77,4 olarak bulunmuştur (p=0,451). Risk grubu ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Telomeraz aktivitesinin evre ve risk grubu ile ilişkisi Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo11. Telomeraz aktivitesinin evre ve risk grubu ile ilişkisi

Telomeraz aktivitesi	Var n (%)	Yok n (%)	p değeri
Evre			
Düşük	10 (31,2)	22 (68,8)	0,600
Yüksek	13 (23,6)	42 (76,4)	
Risk			
Düşük	11 (32,4)	23 (67,6)	0,451
Yüksek	12 (22,6)	41 (77,4)	

Myc-n amplifikasyonu pozitif olan hastaların % 33,3'ünde telomeraz aktivitesi bulunurken, % 66,7'sinde telomeraz aktivitesi bulunmamaktadır. Myc-n aktivitesi olmayan hastaların % 26,7'sinde telomeraz aktivitesi bulunurken, % 73,3'ünde telomeraz aktivitesi bulunmamaktaydı (p=0,854). İstatiksel olarak myc-n amplifikasyonu ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı fark yoktu. Relaps olan hastaların % 35'inde telomeraz aktivitesi mevcutken, % 65'inde telomeraz aktivitesi yoktu. Relaps olmayan hastaların % 16'sında telomeraz aktivitesi varken, % 51'inde telomeraz aktivitesi yoktu (p=0,484). Relaps ile telomeraz aktivitesi arasındaki ilişki istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Telomeraz aktivitesinin myc-n ve relaps ile ilişkisi

Telomeraz aktivitesi	Var n (%)	Yok n (%)	p değeri
Myc-n (%)			
Var	3 (33,3)	6 (66,7)	0,854
Yok	12 (26,7)	33 (73,3)	
Relaps (%)			
Var	7 (35)	13 (65)	0,484
Yok	16 (23,9)	51 (76,1)	

5. TARTIŞMA

Nöroblastom, çocukluk döneminin sık görülen ekstrakranyal tümörüdür. En önemli klinik özeliklerinden birisi tümörün biyolojik davranışının heterojen olmasıdır. Nöroblastom köken aldığı embriyolojik yapı, farklı klinik bulguları, değişik biyolojik yapısı, salgıladığı hormonlar ve bu hormonların neden olduğu tablolar nedeniyle diğer çocukluk çağı kanserlerinden farklı bir tümördür. Tümörün diğer çocukluk çağı tümörlerinde görülmeyen bu değişik formlarının altında yatan biyolojik nedenler tam olarak bilinmemektetir. Bu nedenlerin gösterilmesinin nöroblastomun tedavisi ve önlenmesi konusunda önemli katkısı olacaktır. Be nedenle telomeraz aktivitesinin yaş, cinsiyet, evre, risk grubu, prognoz, relaps, sağkalım üzerine etkisi araştırmak amacı ile bu çalışma yapılmıştır.

Nöroblastom erkeklerde kızlara göre biraz daha sık görülmektedir. Erkek/kız oranı 1.2 civarındadır.[3] Çalışmaya alınan hastalarımızın 46'sı erkek, 41'i kız cinsiyetteydi ve erkek/kız oranı 1.1 olarak bulundu. Çalışmamızda telomeraz aktivitesinin cinsiyetle arasında bir ilişki bulunamamıştır. Hyo-Sung Jeon ve arkadaşlarının yaptığı teleomeraz aktivitesi ve akciğer kanseri riski isimli çalışmasında cinsiyet ve telomeraz aktivitesi arasında bir ilişki olmadığı bulunmuştur.[104]

Çalışmamızda hastalığın en sık tanı alma yaşı 3,39 ± 3,04 yıl idi. Goodman MT ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ortalama yaşı 17,3 aydır ve hastaların yüzde 40'ı bir yaşından önce tespit edilmektedir.[3] 0-18 ay arasında olan hastalarda telomeraz aktivitesi olanların oranı % 8,7 iken olmayanların oranı % 24,3 bulunmuştur. 18 aydan büyük hastalarda ise telomeraz aktivitesi olanların oranı % 14,3 iken, olmayanların oranı % 39,7 bulunmuştur. İstatistiksel olarak arada anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=054). Hyo-Sung Jeon ve arkadaşlarının yaptığı teleomeraz aktivitesi ve akciğer kanseri riski isimli çalışmasında yaş ve telomeraz aktivitesi arasında ilişki bulunamamıştır.[104]

Hastalarımızın 31'inde (% 35,6) tanı anında idrarda VMA düzeyi yüksek, 55'inde (% 63,2) normal bulunmuş olup, 1 (% 1,1) hastada çalışılmamıştır. İdrar VMA düzeylerinin ölçülmesi hastalığın tanısında ve tedavinin izlenmesinde yardımcı olur fakat relaps olan hastanın tanısında duyarlılığı düşüktür.[49] Çin'de Cai J. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 1998-2013 yılları arasında tedavi gören 118 nöroblastomlu çocuğun kayıtları incelenmiş olup yüksek VMA seviyesi, eksik tümör

rezeksiyonu, kemik iliğinde kalıcı MRD ve kötü küratif etki daha kötü prognoz ile ilişkilidir olduğu sonucuna varılmıştır.[105] Cangemi G ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada idrar ve plazmatik VMA/HVA oranı, myc-n amplifikasyonu olmayan lokalize hastalığı olan hastalarda daha iyi bir prognozun bağımsız bir öngördürücüsü olduğu vurgulanmıştır.[106]

Hastalarımızın 20'si (% 23) ilaç tedavisine gerek görülmeden opere edilerek ve sık izlem ile takip edildi, 60'ı (% 77) evre ve risk grubuna göre tedavi edilerek takip edildi. Hem tanı anında hem de tedavi sırasında cerrahinin önemli bir rolü vardır. Tanıda hayatı veya organı tehdit eden semptomlar olmadıkça, perinatal nöroblastom tek başına yakın gözlemle tedavi edilebilir. Tahmini sağkalımı > % 98 olan asemptomatik düşük riskli hastaların tedavisi genellikle sadece gözlem veya cerrahi rezeksiyondur. Evre 1 ve asemptomatik Evre 2 düşük riskli hastalık, tek başına cerrahi tedavi ile mükemmel bir prognoza sahiptir. Bu gruptaki 3 yıllık OS % 97'ye yaklaşmaktadır. Primer rezeksiyon için uygun olmayan "orta riskli" grup tümörleri olan hastalar, hızlı tümör ilerlemesini durdurmak, hayatı tehdit eden semptomları tedavi etmek veya tümör rezektabilitesini iyileştirmek için kemoterapi alırlar Metastaz remisyonda ise ve primer tümör % 50'den fazla yanıt verdiyse, başka bir kemoterapi olmadan tam rezeksiyon yapılabilir.[107] "Yüksek riskli" hasta grubunda ise şu anda mevcut olan literatür, farklı kurumlardaki değişken tedavi protokolleri ve kemoterapi rejimleri nedeniyle farklı gözlemsel çalışmalardır.[108] Yapılan çalışmalar cerrahi rezeksiyondan önce dört kür kemoterapi alan yüksek riskli hastaların diğer yüksek riskli hasta grubuna göre daha iyi sağkalımı olduğu şeklindedir. Ancak, yüksek riskli hastaların 5 yıllık toplam sağkalım oranı yaklaşık% 40-50 şeklindedir.[109]

İleri evre nöroblastomda yoğun sistemik tedavinin yanında primer tümöre cerrahi yapılmasının tümörün lokal kontrolünü sağladığı ve sağkalımı arttırdığı bilinmektedir. Diğer risk gruplarında ise hastanın ve tümörün durumuna göre RT kararı verilmektedir. Çalışmalarda gösterilen RT alan hastalarda hastalığın relaps olma olasılığının önemli düzeyde azaldığı şeklindedir.[53] Çalışmamıza alınan 20 hastaya (% 23) radyoterapi verildi, 67 hasta (% 77) ise radyoterapi vermeden takip edildi.

9 hastamız (% 10,3) MIBG tedavisi almışken, 78 hastamız (% 89,7) MIBG tedavisi almamıştır. MIBG'nin antitümör aktivitesi 1980'lerde bildirilmiştir fakat yeni tanı almış hastaların tedavilerine eklenip eklenmeyeceği hala belirsizliğini

korumaktadır.[110] Nüks ve relaps nöroblastomların erken dönemlerinde alınan yanıt umut vericidir. 164 hasta ile yapılmış olan bir çalışmada hastaların % 37'si kısmi veya tam yanıt vermiştir.[111] Avrupa Nükleer Tıp Derneği prosedür kılavuzlarında endikasyonları; I-131 MIBG tedavisinden önce tanı I-123 MIBG veya I-131 MIBG sintigrafisinde MIBG tutan lezyonları olan Evre III veya IV nöroblastom şeklinde verilmiştir.[112] Mutlak kontrendikasyonları ise diyaliz gerektiren böbrek yetmezliğidir ve refrakter kemik ağrısı olmadıkça 3 aydan daha az beklenen ömür şeklinde belirtilmiştir.[113] Nöroblastomda MIBG tedavisinin kullanım alanlarının genişletilmesi için çalışmalar sürmektedir.

13 hastamıza (% 14,9) KİT yapılmıştır, 62 hastamıza (% 71,3) KİT yapılmadan takip edilmiştir ve 12 hastamız da (% 13,8) tedavilerine dış merkezlerde devam ettiği için bilgilerine ulaşılamamıştır. Yapılan çalışmalarda yüksek doz terapi, otolog kök hücre nakli ve yoğunlaştırılmış konsolidasyon tedavileri yapılan randomize bir COG deneme testinde % 70'in üzerinde 3 yıllık genel sağkalım oranları bildirilmiştir.[114]

Yüksek riskli hasta grubunda relaps olasılığı % 17-74'tür.[53] Bizim hastalarımızın 20'sinde (% 23) relaps gerçeklemiş olup, 67'sinde (% 77) relaps gerçekleşmemiştir. Wendy B. Londra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2266 relaps olan nöroblastom hastası ile yapılan çalışmada en yüksek ölüm riski taşıyan hastaların tanıdan 6 ila 18 ay sonra relaps olan hastalar olduğu görülmüştür. Bu hasta grubunun ölüm oranları 36 aydan sonra relaps olan hastalara göre yaklaşık 2,5 kat fazladır. Nöroblastomda ilk relapstan sonra ise 5 yıllık sağkalım olasılığı % 20 olarak verilmiştir. Bu sonuçlar relapsın görülme zamanına ve başlangıçtaki tümörün evresine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu durumda relaps olan hastaların ek tedaviye ihtiyaç duyduğunu göstermiştir.[115,116] Retrospektif bir çalışmada Garaventa ve arkadaşları, tümör nüksü yaşayan 781 nöroblastomlu çocukta yaptıkları çalışmada on yıllık sağkalımın, progresyondan sonra % 6,8 ve relapstan sonra % 14,4 olduğu sonucuna varmışlardır.[117] Çalışmaya aldığımız 87 hastanın 62'si (% 71,3) yaşamaktadır, 17'si ex (% 19,5) olmuştur ve 8 hastanın (% 9,2) verilerine ulaşılamamıştır. 49 hastada (% 56,3) progresyon veya relaps görülmüştür.

Hastalarımızın 32'si (% 36,8) düşük evre, 55'i (% 63,2) yüksek evreydi yine bu hastaların 34'ü (% 39,1) düşük risk grubunda, 53'ü (% 60,9) yüksek risk grubunda bulunmaktaydı. Düşük evreli hasta grubunda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı

% 31,2 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 68,8 olarak bulunmuştur. Yüksek evreli hasta grubunda ise telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 23,6 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 76,4 olarak gelmiştir (p=0,600). İstatiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktaydı. Düşük riskli gruptaki hastalarda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 32,4 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 67,6 olarak bulunmuştur. Yüksek risk grubundaki hastalarda ise telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 22,6 iken telomeraz aktivitesi olmayan hastaların oranı % 77,4 olarak bulunmuştur (p=0,451). Risk grubu ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Martin Peifer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 56 nöroblastom hastasının (yüksek riskli, n = 39; düşük riskli, n = 17) tam genom dizilimi gerçekleştirilmiş ve telomeraz revers transkriptaz geninin (TERT) 5p15.33 proksimalinde bir kromozomal bölgeyi etkileyen tekrarlayan genomik yeniden düzenlemeler keşfedilmiş. Bu yeniden düzenlemeler sadece yüksek riskli nöroblastomlu hastaların 12'sinde (% 31) bu tümör tipinde bilinen genetik olaylar olarak bilinen MYCN amplifikasyonları ve ATRX mutasyonları ile karşılıklı olarak ayrı bir şekilde meydana gelmiştir. Yani nöroblastomdaki TERT'nin transkripsiyonel susturulmasını ortadan kaldırdığını ve bu tümörlerin büyük bir kısmında telomeraz aktivasyonunu transformasyonun merkezine yerleştirdiğini göstermektedir.[118]

Çalışmaya alınan hastalarımızın; 9'unda myc-n gen amplifikasyonu pozitif (% 10,3), 45'inde negatif (% 51,7), 33'ünde ise myn-n gen amplifikasyonu çalışılamamıştır (% 37,9). Kaczowka P. Ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1991-2015 yılları arasında tek merkezde tedavi edilmiş 160 nöroblastom hastasının 140'nın myc-n duurmu biliniyordu ve bunlar çalışmaya alındı bunların myc-n amplifikasyon sıklığı % 17,9 idi. Myc-n amplifikasyonu olan hastaların % 64'ü evre 4 nöroblastom kabul olarak sınıflandırıldı. NBL: ferritin, dopamin, NSE ve LDH'nin biyokimyasal belirteç düzeyleri, myc-n amplifikasyonu olan grupta anlamlı olarak daha yüksekken, VMA ve HVA seviyeleri daha düşüktü. OS ve FFS, myc-n amplifikasyonu olan çocuklarda kontrol grubundaki çocuklara göre anlamlı olarak daha düşüktü. Myc-n en önemli prognostik faktörlerinden biri olup varlığı ileri evre, yüksek risk relaps, hızlı tümör ve kötü prognozla ilişkilidir.[119] Bu prognostik önemi nedeni ile birçok merkezde rutin olarak bakılmakta olup tedavi plan şemasını etkilemektedir.[20] A.Nakagawara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada amplifiye myc-n tümörlerin başlangıçta kemoterapiye

duyarlı olduğunu sonrasında ise sıklıkla tedaviye direnç gösterip relaps olup sonucunda hastaların ölümüne sebep olduğunu göstermişlerdir.[120]. Rubie H. ve arkadaşları 316 nöroblastom hastası ile yaptıkları çalışmada LDH, NSE, makroskopik kalıntı, pozitif lenf nodları ve myc-n amplifikasyonunun OS ve EFS'yi olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. Fakat en güçlü olumsuz faktörün myc-n amplifikasyonu olduğunu, myc-n amplifikasyonu çoğalmış tümörlerin OS ve EFS oranları % 36 ve % 32 iken, çoğalmamış tümörlerde % 98 ve % 90 olarak bulundu.[121] Çalışmamızda myc-n amplifikasyonu pozitif olan hastaların % 33,3'ünde telomeraz aktivitesi bulunurken, % 66,7'sinde telomeraz aktivitesi bulunmamaktadır. Myc-n aktivitesi olamayan hastaların % 26,7'sinde telomeraz aktivitesi bulunurken, % 73,3'ünde telomeraz aktivitesi bulunmamaktaydı (p=0,854). İstatistiksel olarak myc-n amplifikasyonu ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı fark yoktu.

Çalışmamıza alınan nöroblastom hastalarının 8 yıla kadar genel sağkalım olasılığı % 91 bulunmuştur, 8 yıla kadar olaysız sağkalım olasılığı ise % 66 bulunmuştur. C.Piette ve arkadaşlarının 23 nöroblastom hastası ile yaptığı çalışmada ise 5 yıla kadar sağkalım % 83, 5 yıla kadar olaysız sağkalım ise % 75 bulunmuştur.[122] T.Sımon'ın nöroblastom hastalarında yaptığı çalışmada hastaların 5 yıllık genel sağkalım oranları gözlem grubunda % 96, orta risk grubunda % 89 ve yüksek risk grubunda % 50 bulunmuştur.[123]

Çalışmamızda toplam 87 hasta mevcuttu ve bu hastaların 23'ünde (% 26,4) telomeraz aktivitesi vardı, 64'ünde (% 73,6) telomeraz aktivitesi yoktu. Martin Peifer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 56 nöroblastom hastasının (yüksek riskli, n = 39; düşük riskli, n = 17) tam genom dizilimi gerçekleştirilmiş ve telomeraz revers transkriptaz geninin (TERT) 5p15.33 proksimalinde bir kromozomal bölgeyi etkileyen tekrarlayan genomik yeniden düzenlemeler keşfedilmiş. Bu yeniden düzenlemeler sadece yüksek riskli nöroblastomlu hastaların 12'sinde (% 31) tüm nöroblastom hastalarının % 21'inde görülmüştür.[118] E.hiyama ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 105 nöroblastom hasta incelenmiş ve 23'ünde (% 22) telomeraz aktivitesi yüksek, 78'inde (% 74) düşük aktivite, 4'ünde (% 4) telomeraz aktivitesi saptanmamıştır.[124]

Telomeraz aktivitesi olan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 84 iken, telomeraz aktivitesi olmayan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 93 bulunmuştur ve yaşam süreleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0,112).

Çalışmaya alınan hastalarımızda telomeraz aktivitesi olanların 8 yıla kadar olaysız yaşam olasılığı % 56 iken telomeraz aktivitesi olmayanların 8 yıla kadar yaşam olasılığı % 70 olarak bulundu aralarında istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,222). C.Nozaki ve arkadaşlarının nöroblastomlu hastalarda telomeraz aktivitesinin prognostik etkisini inceleyen çalışmada 5 yıllık olaysız sağkalım (EFS) oranı, telomeraz aktivitesi düşük olan hastalarda % 86,5 iken, yüksek telomeraz aktivitesi olan hastalarda % 53,8 idi. Telomeraz aktivitesi ve TrkA ekspresyonu kombinasyonuyla bakılan 5 yıllık EFS oranında yüksek TrkA ekspresyonu ve düşük veya var olmayan telomeraz aktivitesi (% 91,7) olan hastalar arasında en yüksekti, düşük TrkA ekspresyonu ve yüksek bir telomeraz aktivitesi olanlarda ise EFS en düşük olarak bulunmuştur. Dolayısıyla telomeraz aktivitesinin nöroblastom için yararlı bir prognostik faktör olacağı düşünülmektedir.[125]

Bu çalışmamızda referans merkezi oluşumuz nedeni ile hastaların geç evrede gelmesi, mesafe sorunu nedeni ile bazı hastalarımızın tedavilerini yarıda kesip başka merkezlerde tedaviye devam etmesi bazen de yatak sıkıntısı nedeni ile hastaları başka merkezlere yönlendirmemiz takipsiz hasta sayımızın fazla olmasına neden olmuştur. Retrospektif bir çalışma olduğundan dolayı bazı hastaların patoloji spesmenlerine ulaşılamadı (dış merkezlerde tanı alıp gelen hastalar mevcuttu) ya da yetersiz örnek alımı nedeni ile çalışma yapılamadı ve patoloji spesmenlerinin yetersizliği nedeni ile önemli bir prognostik gösterge olan myc-n amplifikasyonu birçok hastada çalışılamamıştır. Ayrıca Suriye'de başlayan iç savaştan sonra çok sayıda mülteci hasta kurumumuzda tedavi edildi. Bu hasta grubunun dil, hijyen koşulları, ilaç ve kan ürünleri temini, kalacak yer sıkıntısı gibi nedenlerle takiplerinin düzenli olmayışı gibi sebepler çalışmamızda kısıtlılıklara neden olmuştur.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmada telomeraz aktivitesi ile incelediğimiz değişkenler arasında anlamlı bir ilişki bulamadık fakat sağkalım oranlarının telomeraz negatif hasta gruplarında daha iyi olduğunu gördük. Nöroblastom hastalarında telomeraz aktivitesinin risk grupları ve sağkalım ile ilişkisini daha iyi değerlendirmek üzere prospektif olarak dizayn edilmiş geniş serilere ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan 87 hastanın 23'ünde (% 26,4) telomeraz aktivitesi vardı, 64 ünde (% 73,6) sında telomeraz aktivitesi yoktu.
2. Çalışmamıza 87 hasta alınmıştır bunların 46 erkek (% 52,9), 41 kız (% 47,1) cinsiyetteydi. Çalışmamızda kız cinsiyette telomeraz aktivisitesi olanların oranı % 26,8 iken telomeraz aktivitesi olan erkeklerin oranı % 26,1 bulunmuştur.
3. Hastalığın en sık tanı alma yaşı 3,39 ± 3,04 yıl idi. 0-18 ay arasında olan hastalarda telomeraz aktivitesi olanların oranı % 8,7 iken olmayanların oranı % 24,3 bulunmuştur. 18 aydan büyük hastalarda ise telomeraz aktivitesi olanların oranı % 14,3 iken, olmayanların oranı % 39,7 bulunmuştur.
4. Hastalarımızın 32'si düşük evre (% 36,8), 55'i yüksek evreydi (% 63,2) yine bu hastaların 34'ü düşük risk grubunda (% 39,1), 53'ü yüksek risk grubunda bulunmaktaydı (% 60,9).
5. Çalışmaya alınan hastalarımızın; 9'unda myc-n gen amplifikasyonu pozitif (% 10,3), 45'inde negatif (% 51,7), 33'ünde ise myc-n gen amplifikasyonu çalışılamamıştır (% 37,9).
6. 31 hastanın tanı anında idrarda VMA düzeyi yüksek (% 35,6), 55'inde normaldi (% 63,2) bulunmuş olup, 1 hastada çalışılmamıştır (% 1,1).
7. Çalışmaya alınan hastalarımızın; 9'unda myc-n gen amplifikasyonu pozitif (% 10,3), 45'inde negatif (% 51,7), 33'ünde ise myc-n gen amplifikasyonu çalışılamamıştır (% 37,9). Myc-n amplifikasyonu pozitif olan hastaların % 33,3'ünde, myc-n aktivitesi olmayan hastaların % 26,7'sinde telomeraz aktivitesi bulunmaktaydı.
8. Hastalarımızın 32'si düşük evre (% 36,8), 55'i yüksek evreydi (% 63,2). Düşük evreli hasta grubunda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 31,2 iken yüksek evreli hasta grubunda ise telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 23,6 olarak bulundu.
9. Hastlarımızın 34'ü düşük risk grubunda (% 39,1), 53'ü yüksek risk grubunda bulunmaktaydı (% 60,9). Düşük riskli gruptaki hastalarda telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 32,4 iken yüksek risk grubundaki hastalarda ise

telomeraz aktivitesi olan hastaların oranı % 22,6 bulunmuştur.

10. Hastalarımızın 20'si (% 23) tedaviye gerek görülmeden opere edilerek ya da sık izlem ile takip edildi, 60'ı (% 77) evre ve risk grubuna göre tedavi edilerek takip edildi.
11. 20 hastamıza (% 23) radyoterapi verilirken, 67 hastamız (% 77) radyoterapi almadan takip edilmiştir. 9 hastamız (% 10,3) MIBG tedavisi almışken,78 hastamız (% 89,7) MIBG tedavisi almamıştır. 13 hastamıza (% 14,9) KİT yapılmıştır, 62 hastamıza (% 71,3) KİT yapılmadan takip edilmiştir ve 12 hastamız da (% 13,8) tedavilerine dış merkezlerde devam ettiği için bilgilerine ulaşılamamıştır.
12. Hastalarımızın 20'sinde (% 23) relaps gerçeklemiş olup, 67'sinde (% 77) relaps gerçekleşmemiştir. Relaps olan hastaların % 35'inde, relaps olmayan hastaların % 16'sında telomeraz aktivitesi vardı.
13. Çalışmaya aldığımız 87 hastanın 62'si (% 71,3) yaşamaktadır, 17'si (% 19,5) ex olmuştur ve 8 (% 9,2) hastanın verilerine ulaşılamamıştır.
14. Çalışmamıza alınan nöroblastom hastalarının ortalama 29,6 aylık (0,66-93,8) izlem süresince 8 yıla kadar genel sağkalım olasılığı % 91 bulunmuştur. Aynı şekilde bütün nöroblastom hastalarının 29,6 aylık izlem süresince 8 yıla kadar olaysız sağkalım olasılığı ise % 66 bulunmuştur.
15. Telomeraz aktivitesi olan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 84 iken, telomeraz aktivitesi olmayan hastaların 8 yıla kadar yaşam oranı % 93 bulunmuştur.
16. Çalışmaya alınan hastalarımızda telomeraz aktivitesi olanların 8 yıla kadar olaysız yaşam olasılığı % 56 iken telomeraz aktivitesi olmayanların 8 yıla kadar yaşam olasılığı % 70 olarak bulundu.
17. Yaptığımız çalışmada sağkalım oranlarının telomeraz negatif hasta gruplarında daha iyi olduğunu gördük. Fakat çalışmamızın kısıtlılıkları bulunmaktaydı, daha geniş gruplarda yapılacak prospektif çalışmalar daha doğru sonuçlar verebilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Ries LAG, Smith M, Gurney JG.** Cancer incidence and survival among children and adolescents. **1999;** 179.

2. **Brodeur GM, Hogarty MD, Mosse YP, Maris JM.** Neuroblastoma. *In: Principles and Practice of Pediatric Oncology, Pizzo PA, Poplack D), Lippincott Williams & Wilkins,* Philadelphia **2011;** 886.

3. **Goodman MT, Gurney JG, Smith MA, Olshan AF.** Sympathetic nervous system tumors. In: Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program, 1975-1995, Ries, LA, Smith, MA, Gurney, JG, et al, National Cancer Institute, Bethesda, MD **1999;** 35.

4. **Demirkaya M, Sevinir B.** Nöroblastom. *Güncel Pediatri* **2006;** 3:128-132.

5. **Aksoylar S.** Nöroblastom. Pediatrik onkoloji. *Klinik gelişim* **2007;** 20:62-74.

6. **Landuzzi L, Strippoli P, Giovanni CD, Nicoletti G, Rossi I, Tonelli R, Frabetti F, Nanni P, Bagnara GP, Lollini PL.** Production of stem cell factor and ezpression of Ckit in human rhabdomtosarcoma cells: Lack of autocrine growth modulation. *International Journal of Cancer* **1998;** 78:441-445.

7. **Påhlman S, Stockhausen M-T, Fredlund E, Axelson H.** Notch signaling in neuroblastoma. *Seminars in cancer biology;* **2004**: Elsevier.

8. **Schwartzbaum JA.** Influence of the mother's prenatal drug consumption on risk of neuroblastoma in the child. *Am J Epidemiol.* **1992;** 135:1358-67.

9. **Michalek AM, Buck GM, Nasca PC, Freedman AN, Baptiste MS, Mahoney MC.** Gravid health status, medication use, and risk of neuroblastoma. *Am J Epidemiol.* **1996;** 143:996-1001.

10. **Kramer S, Ward E, Meadows AT, Malone KE.** Medical and drug risk factors associated with neuroblastoma: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* **1987;** 78:797-804.

11. **Olshan AF, Smith JC, Bondy ML, Neglia JP, Pollock BH.** Maternal vitamin use and reduced risk of neuroblastoma. *Epidemiol Camb Mass.* **2002;** 13:575-80.

12. **Rios P, Bailey HD, Orsi L, Lacour B, Valteau-Couanet D, Levy D.** Risk of neuroblastoma, birth-related characteristics, congenital malformations and perinatal exposures: A pooled analysis of the ESCALE and ESTELLE French studies (SFCE). *Int J Cancer.* **2016;** 139:1936-48.

13. **Haase GM, Perez C, Atkinson JB, et al.** Current aspects of biology, risk assessment, and treatment of neuroblastoma. *Seminars in surgical oncology.* **1999;** 16:91-104.

14. **Cheung N, Cohn S.** Neuroblastoma. *Springer-Verlag* **2005**.

15. **Shahar E, Shinawi M.** Neurocristopathies presenting with neurologic abnormalities associated with Hirschsprung's disease. *Pediatr Neurol.* **2003;** 28:385-91.

16. **Nemecek ER, Sawin RW, Park J.** Treatment of neuroblastoma in patients with neurocristopathy syndromes. *J Pediatr Hematol Oncol* **2003;** 25:159-62.

17. **Louis CU, Shohet JM.** Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy. *Annu Rev Med.* **2015;** 66:49-63.

18. **Cheung N-KV, Dyer MA.** Neuroblastoma: developmental biology, cancer genomics and immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* **2013;** 13:397-411.

19. **Corvi R, Amler LC, Savelyeva L, Gehring, M. & Schwab M.** MYCN is retained in single copy at chromosome 2 band p23-24 during amplification in human neuroblastoma cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1994;** 91:5523-5527.

20. **Seeger RC, Broudeur GM, Sather H, et al.** Association of multiple copies of the Nmyc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* **1985;** 313:1111-1116.

21. **Wada RK, Seeger RC, Brodeur GM, et al.** Human neuroblastoma cell lines that Express Nmyc without gene amplification. *Cancer* **1993;** 72:3346-3354.

22. **Nakagawara A, Arima M, Azar CG, et al.**Inverse relationship between trk expression and Nmyc amplification in human neuroblastomas. *Cancer Res* **1992;** 52:1364-1368.

23. **Look AT, Hayes FA, Nitschke R, et al.** Cellular DNA content as a predictor of response to chemotherapy in infants with unresectable neuroblastoma. *N Eng J Med* **1984;** 311:231-235.

24. **Koneko Y, Knudson AG.** Mechanism and relevance of ploidy in neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* **2000;** 29: 89-95.

25. **Bown N, et al.** Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. *N. Engl. J. Med.* **1999;** 340:1954-1961.

26. **Lastowska M, et al.** Breakpoint position on 17q identifies the most aggressive neuroblastoma tumors. *Genes Chromosom. Cancer* **2002;** 34:428-436.

27. **Bown N, Cotterill S, Lastowska M, O'Neill S, Pearson AD, Plantaz D, et al.** Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med.* **1999;** 340:1954-61.

28. **Krona C, Ejeskär K, Abel F, Kogner P, Bjelke J, Björk E, et al.** Screening for gene mutations in a 500 kb neuroblastoma tumor suppressor candidate region in chromosome 1p; mutation and stage-specific expression in UBE4B/UFD2. *Oncogene.* **2003;** 22:2343-51.

29. **Shaffer LG, Heilstedt HA.** Terminal deletion of 1p36. *Lancet* **2001;** 358.

30. **J.M. Maris, C. Guo, P.S. White, M.D. Hogarty, P.M, et al.** Thompson, D.O. Stram, et al., Allelic deletion at chromosome bands 11q14-23 is common in neuroblastoma, *Med. Pediatr. Oncol.* **2001;** 36:24-27.

31. **Attiyeh EF, London WB, Mossé YP, Wang Q, Winter C, Khazi D, et al.** Children's Oncology Group. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Engl J Med* **2005;** 24;353:2243-2253.

32. **Yano H, Chao MV.** Neurotrophin receptor structure and interactions. *Pharm Acta Helv* **2000;** 74:253-260.

33. **Maris JM, Hogarty MD, Bagetell R, Cohn SL.** Neuroblastoma. *Lancet* **2007;** 369:2106-2120.

34. **Krams M, Hero B, Berthold F, et al.** Full-length telomerase reverse transcriptase messenger RNA as an independent prognostic factorin neuroblastoma. *Am J Pathol* **2003;** 162:1019.

35. Neuroblastic tumours of adrenal gland and sympathetic nervous system. In: Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System, World Health Organization, Lyon **2000:**153.

36. **DuBois SG, Kalika Y, Lukens JN, Brodeur GM, Seeger RC, Atkinson JB, et al.** Metastatic sites in stage IV and IVS neuroblastoma correlate with age, tumor biology, and survival. *J Pediatr Hematol Oncol.* **1999;** 21:181-9.

37. **Ingram L, Rivera GK, Shapiro DN. S**uperior vena cava syndrome associated with childhood malignancy: analysis of 24 cases. *Med Pediatr Oncol.* **1990;** 18:476-81.

38. **Brodeur GM.** Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nat Rev Cancer* **2003;** 3:203-216.

39. **Musarella MA, Chan HS, DeBoer G, Gallie BL.** Ocular involvement in neuroblastoma: prognostic implications. *Ophthalmology.* **1984;** 91:936-40.

40. **Scott JP, Morgan E.** Coagulopathy of disseminated neuroblastoma. *J Pediatr.* **1983;** 103(2):219-22.

41. **Quinn JJ, Altman AJ.** The multiple hematologic manifestations of neuroblastoma. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* **1979;** 1:201-5.

42. **Lucky AW, McGuire J, Komp DM.** Infantile neuroblastoma presenting with cutaneous blanching nodules. *J Am Acad Dermatol.* **1982;** 6:389-91.

43. **Brunklaus A, Pohl K, Zuberi SM, de Sousa C.** Investigating neuroblastoma in childhood opsoclonus-myoclonus syndrome. *Arch Dis Child.* **2012;** 97:461-3.

44. **Rudnick E, Khakoo Y, Antunes NL, Seeger RC, Brodeur GM, Shimada H, et al.** Opsoclonusmyoclonus-ataxia syndrome in neuroblastoma: clinical outcome and antineuronal antibodies-a reportfrom the Children's Cancer Group Study. *Med Pediatr Oncol* **2000;** 36:612-622.

45. **Wilken B, Baumann M, Bien CG, Hero B, Rostasy K, Hanefeld F.** Chronic relapsing opsoclonusmyoclonussyndrome: combination of cyclophosphamide and dexamethasone pulses. *Eur J Paediatr Neurol* **2008;** 12:51-55.

46. **Tuchman M, Ramnaraine ML, Woods WG, Krivit W.** Three years of experience with random urinary homovanillic and vanillylmandelic acid levels in the diagnosis of neuroblastoma. *Pediatrics.* **1987;** 79:203-5.

47. **Tuchman M, Morris CL, Ramnaraine ML, Bowers LD, Krivit W.** Value of random urinary homovanillic acid and vanillylmandelic acid levels in the diagnosis and management of patients with neuroblastoma: comparison with 24-hour urine collections. *Pediatrics.* **1985;** 75:324-8.

48. **Monsaingeon M, Perel Y, Simonnet G, Corcuff JB.** Comparative values of catecholamines and metabolites for the diagnosis of neuroblastoma. *European journal of pediatrics.* **2003;** 162:397-402.

49. **Simon T, Hero B, Hunneman DH, Berthold F.** Tumour markers are poor predictors for relapse or progression in neuroblastoma. *European journal of cancer* **2003;** 39:1899-903.

50. **Berthold F, Engelhardt-Fahrner U, Schneider A, Schumacher R, Zieschang J.** Age dependence and prognostic impact of neuron specific enolase (NSE) in children with neuroblastoma. In vivo **1991;** 5:245-7.

51. **Shuster JJ, McWilliams NB, Castleberry R, Nitschke R, Smith EI, Altshuler G, et al.** Serum lactate dehydrogenase in childhood neuroblastoma. A Pediatric Oncology Group recursive partitioning study. *American journal of clinical oncology.* **1992;** 15:295-303.

52. **Weinstein JL, Katzenstein HM, Cohn SL.** Advances in the diagnosis and treatment of neuroblastoma. *Oncologist.* **2003;** 8(3):278-92.

53. Türkiye Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Nöroblastom 2009 Tedavi Protokolü. **2009.**

54. **Hiorns M, Owens CJEr.** Radiology of neuroblastoma in children. **2001;** 11:2071-81.

55. **Kushner BH.** Neuroblastoma: a disease requiring a multitude of imaging studies. Journal of nuclear medicine : official publication, *Society of Nuclear Medicine.* **2004;** 45:1172-88.

56. **Geoerger B, Hero B, Harms D, Grebe J, Scheidhauer K, Berthold F.** Metabolic activity and clinical features of primary ganglioneuromas. *Cancer.* **2001;** 91:1905-13.

57. **Vik TA, Pfluger T, Kadota R, Castel V, Tulchinsky M, Farto JCA, et al.** (123)I-mIBG scintigraphy in patients with known or suspected neuroblastoma: Results from a prospective multicenter trial. *Pediatr Blood Cancer.* **2009;** 52:784-90.

58. **Abramson SJ.** Adrenal neoplasms in children. *Radiologic clinics of North America.* **1997;** 35:1415-53.

59. **Frappaz D, Bonneu A, Chauvot P, Edeline V, Giammarile F, Siles S, et al.** Metaiodobenzylguanidine assessment of metastatic neuroblastoma: observer 72 dependency and chemosensitivity evaluation. The SFOP Group. *Medical and pediatric oncology.* **2000;** 34:237-41.

60. **Matthay KK, Edeline V, Lumbroso J, Tanguy ML, Asselain B, Zucker JM, et al.** Correlation of early metastatic response by 123I-metaiodobenzylguanidine scintigraphy with overall response and event-free survival in stage IV neuroblastoma. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. **2003;** 21:2486-91.

61. **Kushner BH, Yeung HW, Larson SM, Kramer K, Cheung N-KVJJoco.** Extending positron emission tomography scan utility to high-risk neuroblastoma: fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography as sole imaging modality in follow-up of patients. **2001;** 19:3397-405.

62. **Golden CB, Feusner JH.** Malignant abdominal masses in children: quick guide to evaluation and diagnosis. *Pediatr Clin North Am.* **2002;** 49:1369-1392.

63. **Shimada H, Umehara S, Monobe Y, Hachitanda Y, Nakagawa A, Goto S, et al.** International neuroblastoma pathology classification for prognostic evaluation of patients with peripheral neuroblastic tumors: a report from the Children's Cancer Group. **2001;** 92:2451-61.

64. **Joshi VV.** Peripheral neuroblastic tumors: pathologic classification based on recommendations of international neuroblastoma pathology committee (Modification of shimada classification). Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society. **2000;** 3:184-99.

65. **Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr, Sachs N, Hamoudi AB, Chiba T, et al.** Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. *J Natl Cancer Inst.* **1984;** 73:405-16.

66. **Olgun N, Aksoylar S.** Nöroblastom. Özkan A. Pediatrik Onkoloji.1.Baskı, İstanbul: Nobel Tıp kitapevleri Ltd Şti, **2009:**763-786.

67. **Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, et al.** Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging and response to treatment. *J Clin Oncol* **1993;** 11:1466-1477.

68. Castleberry RP, Shuster JJ, Smith EI. The Pediatric Oncology Group experience with the international staging system criteria for neuroblastoma. Member Institutions of the Pediatric Oncology Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **1994;** 12:2378-81.

69. Gaspar N, Hartmann O, Munzer C, Bergeron C, Millot F, Cousin-Lafay L, et al. Neuroblastoma in adolescents. **2003;** 98:349-55.

70. London WB, Castleberry RP, Matthay KK, Look AT, Seeger RC, Shimada H, et al. Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **2005;** 23:6459-65.

71. Olgun N. TPOG 2009 Nöroblastom Protokolü Çalıştayı. Ulusal Kanser Kongresi **2015**.

72. Alvarado CS, London WB, Look AT, Brodeur GM, Altmiller DH, Thorner PS, et al. Natural history and biology of stage A neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group Study. *J Pediatr Hematol Oncol.* **2000;** 22:197-205.

73. Perez CA, Matthay KK, Atkinson JB, Seeger RC, Shimada H, Haase GM, et al. Biologic variables in the outcome of stages I and II neuroblastoma treated with surgery as primary therapy: a children's cancer group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **2000;** 18:18-26.

74. D'Angio GJ, Evans AE, Koop CE. Special pattern of widespread neuroblastoma with a favourable prognosis. *Lancet Lond Engl.* **1971;** 1:1046-9.

75. Katzenstein HM, Bowman LC, Brodeur GM, Thorner PS, Joshi VV, Smith EI, et al. Prognostic significance of age, MYCN oncogene amplification, tumor cell ploidy, and histology in 110 infants with stage D(S) neuroblastoma: the pediatric oncology group experience--a pediatric oncology group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **1998;** 16:2007-17.

76. Matthay KK, Perez C, Seeger RC, Brodeur GM, Shimada H, Atkinson J, et al. Successful treatment of stage III neuroblastoma based on prospective biologic staging: a Children's Cancer Group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **1998;** 16:1256-64.

77. Baker DL, Schmidt ML, Cohn SL, Maris JM, London WB, Buxton A, et al. Outcome after reduced chemotherapy for intermediate-risk neuroblastoma. *N Engl J Med.* **2010;** 363:1313-23.

78. Matthay KK, Villablanca JG, Seeger RC, Stram DO, Harris RE, Ramsay NK, et al. Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. *N Engl J Med.* **1999;** 341:1165-73.

79. Matthay KK, Reynolds CP, Seeger RC, Shimada H, Adkins ES, Haas-Kogan D, et al. Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **2009;** 27:1007-13.

80. **Peinemann F, van Dalen EC, Enk H, Tytgat GA.** Anti-GD2 antibody-containing immunotherapy postconsolidation therapy for people with high-risk neuroblastoma treated with autologous haematopoietic stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* **2019;** 4:12-442.

81. **Shusterman S, London WB, Gillies SD, Hank JA, Voss SD, Seeger RC, et al.** Antitumor activity of hu14.18-IL2 in patients with relapsed/refractory neuroblastoma: a Children's Oncology Group (COG) phase II study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **2010;** 28:4969-75.

82. **Bergeron C, Dubourg L, Chastagner P, Mechinaud F, Plouvier E, Desfachelles AS, et al.** Long-term renal and hearing toxicity of carboplatin in infants treated for localized and unresectable neuroblastoma: results of the SFOP NBL90 study. *Pediatric blood & cancer*. **2005;** 45:32-6.

83. **Van Santen HM, De Kraker J, Vulsma T.** Endocrine late effects from multi-modality treatment of neuroblastoma. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990).* **2005;** 41:1767-74.

84. **Garaventa A, Gambini C, Villavecchia G, Di Cataldo A, Bertolazzi L, Pizzitola MR, et al.** Second malignancies in children with neuroblastoma after combined treatment with 131I-*metaiodobenzylguanidine*. **2003;** 97:1332-8.

85. **Atlı K, Bozcuk AN**. Telomerler ve Hücresel Yaşlanma. Geriatri **2002;** 5:111-4.

86. **Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, et al**. In vivo loss of telome- ric repeats with age in humans. *Mutat Res* **1991;** 256:45-8.

87. **Greider CW, Blackburn EH.** Identification of a specific telo- mere terminal transferase activity in tetrahymena extracts. *Cell* **1985;** 43:405-13.

88. **Avilion AA,Piatyszek MA,Grupta J, et al.** Human telomerase RNA and telomerase activity tumor tissues. *Cancer Res.* **1996;** 56:645-50.

89. **Blackburn EH.** Telomerases. *Annu Rev Biochem* **1992;** 61:113-29.

90. **Feng J, Funk WD, Wang SS, et al.** The RNA component of human telomerase. *Science* **1995;** 269:1236-41.

91. **Durusoy M.** Telomeraz aktivitesini değerlendirmede kullanılan yöntemler ve dayandıkları esaslar. *Turk J Biochem* **2003;** 28:25-29.

92. **Yajıma T, Yagihashi A, Kameshima H, et al.** Quantitative reverse transcription-PCR assay of the RNA component of human telomerase using the TaqMan fluorogenic detection system. *Clin Chem.***1998;** 44:2441-2445.

93. **Fletcher TM, Trevino A, Woynarowski JM.** Enzymatic activity of endogenous telomerase associated with intact nuclei from human leukemia CEM cells. *Biochem Biophys Res Commun* **1999;** 265:51-56.

94. **Hirose M, Hashımoto JA, Tahara H, et al.** New method to measure telomerase activity by transcription-mediated amplification and hybridization protection assay. *Clin Chem.* **1998;** 44:2446-2452.

95. **Keith WK, Bilsland A, Evans TR, et al.** Telomerase-directed molecular therapeutics. *Expert Rev Mol Med* **2002;** 22:1-25.

96. **Geyikli İ, Bayıl S, Çiçek H.** Yaşlanma ve Telomeraz. *Türk Klin Biyok Der.* **2007;** 5:111-115.

97. **Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, et al.** Extension of life- span by introduction of telomerase into normal human cells. **1998;** 279:349-52.

98. **Lichtsteiner SP, Lebkowski JS, Vasserot AP.** Telomerase: A Target for Anticancer Therapy- *Ann NY Acad* **1999;** 886:1-11.

99. **Shay JW, Wright WE.** Telomerase Activity in Human Cancer. *Curr Opin Oncol* **1996;** 8:66-71.

100. **Kim NW.** Clinical Implications of Telomerase in Cancer. *Europ J Canc* **1997;** 33:781-6.

101. **Dikmen GZ, Dikmen E, Doğan P.** Kanserde telomeraza yönelik tedavi stratejileri. *Hacettepe Tıp Der.* **2006;** 37:49-55.

102. **Vonderheide RH, Schultze JL, Anderson KS, et al.** Equiva- lent induction of telomerase-specific cytotoxic T lymphocytes from tumor-bearing patients and healthy in- dividuals. *Cancer Res* **2001;** 61:8366-70.

103. **Vonderheide RH, Anderson KS, Hahn WC, et al.** Characte- rization of HLA-A3-restricted cytotoxic T lymphocytes reac- tive against the widely expressed tumor antigen telomera- se. *Clin Cancer Res* **2001;** 7:3343-8.

104. **Jeon H-S, Choi JE, Jung DK, Choi YY, Kang HG, Lee W-K, et al.** Telomerase activity and the risk of lung cancer. *J Korean Med Sci.* **2012;** 27:141-5.

105. **Cai J, Pan C, Tang Y, Chen J, Zhou M, Li B, et al.** Multivariate analysis of risk factors for patients with stage 4 neuroblastoma who were older than 18 months at diagnosis: a report from a single institute in Shanghai, China. *J Cancer Res Clin Oncol*. **2017;** 143:1327-35.

106. **Cangemi G, Reggiardo G, Barco S, Barbagallo L, Conte M, D'Angelo P, et al.** Prognostic value of ferritin, neuron-specific enolase, lactate dehydrogenase, and urinary and plasmatic catecholamine metabolites in children with neuroblastoma. *OncoTargets Ther.* **2012;** 5:417-23.

107. **Parikh NS, Howard SC, Chantada G, Israels T, Khattab M, Alcasabas P, et al.** SIOP-PODC adapted risk stratification and treatment guidelines: Recommendations for neuroblastoma in low - And middle-income settings. *Pediatr Blood Cancer.* **2015;** 62:1305-16.

108. Mullassery D, Farrelly P, Losty PD. Does aggressive surgical resection improve survival in advanced stage 3 and 4 neuroblastoma? A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Hematol Oncol.* **2014;** 37:1008-9.

109. Pinto NR, Applebaum MA, Volchenboum SL, Matthay KK, London WB, Ambros PF, et al. Advances in risk classification and treatment strategies for neuroblastoma. *J Clin Oncol.* **2015;** 33:3008-17.

110. Wilson JS, Gains JE, Moroz V.A, et al. systematic review of 131I-meta iodobenzylguanidine molecular radiotherapy for neuroblastoma. *Eur J Cancer.* **2014;** 50:801-15.

111. Matthay KK, Yanik G, Messina J, et al. Phase II study on the effect of disease sites, age, and prior therapy on response to iodine-131-metaiodobenzylguanidine therapy in refractory neuroblastoma. *J Clin Oncol.* **2007;** 25:1054-60.

112. Giammarile F, Chiti A, Lassmann M, Brans B, Flux G. EANM procedure guidelines for 131I-meta-iodobenzylguanidine (131I-mIBG) therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* **2008;** 35:1039-47.

113. Nakajo M, Yoshinaga K, Oriuchi N, Kinuya S, Yokoyama K, Yamaguchi T, et al. (Guideline draft of appropriate use of 131I-MIBG for internal radiotherapy of neuroendocrine tumors). *Kaku Igaku.* **2008;** 45:1-40.

114. Park JR, Kreissman SG, London W, et al. A phase III randomized clinical trial (RCT) of tandem myeloablative autologous stem cell transplant (ASCT) using peripheral blood stem cell (PBSC) as consolidation therapy for high-risk neuroblastoma (HR-NB): A Children's Oncology Group (COG) study. *J Clin Oncol.* **2016;** 34 suppl abstr LBA3. Phase 3 trial demonstrating the survival benefit of trandem compared to single autologous stem cell transplant in newly diagnosed high-risk neuroblastoma.

115. London W.B, Castel V, Monclair T, Ambros P.F, Pearson A.D.J, Cohn S.L, Berthold F, Nakagawara A, Ladenstein R.L, Lehara T, et al. Clinical and Biologic Features Predictive of Survival After Relapse of Neuroblastoma: A Report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. *J. Clin. Oncol.* **2011;** 29:3286-3292.

116. London W.B, Bagatell R, Weigel B.J, Fox E, Guo D, Van Ryn C, Naranjo A, Park J.R. Historical time to disease progression and progression-free survival in patients with recurrent/refractory neuroblastoma treated in the modern era on Children's Oncology Group early-phase trials. *Cancer.* **2017;** 123:4914-4923.

117. Garaventa A, Parodi S, De Bernardi B, et al. Outcome of children with neuroblastoma after progression or relapse: A retrospective study of the Italian neuroblastoma registry. *Eur J Cancer.* **2009;** 45:2835-2842.

118. Peifer M, Hertwig F, Roels F, Dreidax D, Gartlgruber M, Menon R, et al. Telomerase activation by genomic rearrangements in high-risk neuroblastoma. *Nature.* **2015;** 526:700-4.

119. Kaczówka P, Wieczorek A, Czogała M, Książek T, Szewczyk K, Balwierz W. The role of N-Myc gene amplification in neuroblastoma childhood tumour - single-centre experience. *Contemp Oncol Poznan Pol.* **2018;** 22:223-8.

120. Nakagawara A, Kadomatsu K, Sato S, Kohno K, Takano H, Akazawa K, et al. Inverse correlation between expression of multidrug resistance gene and N-myc oncogene in human neuroblastomas. *Cancer Res.* **1990;** 50:3043-7.

121. Rubie H, Hartmann O, Michon J, Frappaz D, Coze C, Chastagner P, et al. N-Myc gene amplification is a major prognostic factor in localized neuroblastoma: results of the French NBL 90 study. Neuroblastoma Study Group of the Société Francaise d'Oncologie Pédiatrique. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* **1997;** 15:1171-82.

122. Piette C, Dresse MF, Forget P, Schmitz V, Demarche M, Erpicum P, et al. Clinical evaluation of 23 children with neuroblastoma. The experience of a single institution. *Rev Med Liege.* **2005;** 60:173-80.

123. Simon T. Neuroblastoma. *Urol Ausg A.* **2005;** 44:543-554; 555.

124. Hiyama E, Hiyama K, Ohtsu K, Yamaoka H, Ichikawa T, Shay JW, et al. Telomerase activity in neuroblastoma: is it a prognostic indicator of clinical behaviour? Eur J Cancer Oxf Engl 1990. **1997;** 33:1932-6.

125. Nozaki C, Horibe K, Iwata H, Ishiguro Y, Hamaguchi M, Takahashi M. Prognostic impact of telomerase activity in patients with neuroblastoma. *Int J Oncol.* **2000;** 17:341-5.

8.EKLER

8.1. Ek 1. Tez Föyü

1. Ad Soyad
2. Dosya Numarası
3. Yaş
    - 0-18 ay
    - >18 aydan büyük
4. Cinsiyet
5. Tanı Alma Tarihi
6. Evresi
7. Risk Grubu
8. Aldığı Tedavi Protokolü
9. Radyoterapi
    - Var
    - Yok
10. MIBG Tedavisi
    - Var
    - Yok
11. Myc-n amplifikasyonu
    - Pozitif
    - Negatif

12. Telomeraz Aktivitesi
    - Var
    - Yok
13. Relaps
    - Var
    - Yok
14. KİT tedavisi
    - Aldı

- Almadı

15. Sağ kalım
    - Yaşıyor
    - Ex
    - Takipsiz
16. Tanı anında idrar VMA değeri?
17. Son görülme tarihi?
18. Sağ kalım
    - Var
    - Yok
    - Takipsiz
19. Olaysız sağ kalım (progresyon/relaps/ölüm)
    - Var
    - Yok
    - Takipsiz

8.2. Ek 2. Etik Kurul Onayı

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
78		1 Haziran 2018

KARAR NO 11- Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Serhan Küpeli yönetiminde, Prof. Dr. Şeyda Erdoğan'ın katkısıyla, Araş. Gör. Dr. Çağla Bayergi tarafından yürütülmesi öngörülen, "Nöroblastomda Telomeraz Aktivitesinin Prognazla İlişkisi" başlıklı tıpta uzmanlık tez projesi araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	**Doç Dr Selim Kadıoğlu** Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	**Prof Dr Davut Alptekin** Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Prof Dr Murat Gündüz Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Doç Dr Ezgi Özyılmaz Saraç Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	Toplantıya Katılmadı
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	Toplantıya Katılmadı

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	**:** Çağla BÜYÜKBOZAT
Doğum Tarihi ve Yeri	**:** 30.07.1990 ADANA
Medeni durumu	**:** Evli
Adres	**:** Gürselpaşa mah.75551 sok. Sera Park 4 Sitesi C blok Kat: 3 No: 5
Telefon	**:** 05062717813
E-posta	**:** caglabayergi@hotmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	**:** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev yerleri	**:** ÇÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Yabancı Dil	**:** İngilizce