



**T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK DERECELİ KAS-İNVAZİV OLMAYAN
MESANE KANSERİNDE PD-L1 EKSPRESYONUNUN BCG
İMMÜNÖTERAPİSİNE DİRENÇ GELİŞMESİ VE TÜMÖR
PROGRESYONUNA ETKİSİ**

Dr. Ahmet Murat AYDIN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2018**



**T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK DERECELİ KAS-İNVAZİV OLMAYAN
MESANE KANSERİNDE PD-L1 EKSPRESYONUNUN BCG
İMMÜNÖTERAPİSİNE DİRENÇ GELİŞMESİ VE TÜMÖR
PROGRESYONUNA ETKİSİ**

Dr. Ahmet Murat AYDIN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Cenk Yücel BİLEN**

**ANKARA
2018**

Bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı aşağıda adı geçen kişi ve kurumlara:

Prof. Dr. Cenk Yücel Bilen'e tez çalışması için gerekli ortamı sağlaması ve desteği için,

Prof. Dr. Dilek Ertoy Baydar'a immünohistokimyasal değerlendirme aşamasında verdiği emek için,

H.Ü. BAP Koordinasyon Birimi'ne uzmanlık tezi araştırma fonu ile kimyasal malzemelerin satın alınmasına sağladığı destek için,

Üroloji Anabilim Dalı'ndaki hocalarıma alanımla ilgili değerli birikimlerini paylaştıkları ve uzmanlık eğitimim boyunca gösterdikleri ilgi için,

Hacettepe'de beraber çalışma şansı yakaladığım tüm asistan, hemşire, teknisyen, sekreter ve yardımcı sağlık personeli arkadaşlarıma yardımları için,

Aileme tüm eğitim hayatım boyunca desteğini benden esirgemediği ve eğitimimi her şeyin önünde tutmuş olduğu için,

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ahmet Murat Aydın

ÖZET

Aydın, A.M., Yüksek dereceli kas-invaziv olmayan mesane kanserinde PD-L1 ekspresyonunun BCG immünoterapisine direnç gelişmesi ve tümör progresyonuna etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Tezi. Ankara, 2018. Hastanemizde 2004-2017 yılları arasında tanı almış, en az 6 kür adjuvan intravezikal BCG immünoterapisini tamamlamış, primer ve yüksek dereceli kas-invaziv olmayan mesane kanseri (KİOMK) hastalarının medikal verileri retrospektif olarak incelendi. İntravezikal BCG immünoterapisi sonrası tedavi başarısızlığı gelişen (refrakter, relaps veya progresif KİOMK) 70 hasta ile intravezikal BCG tedavisine tam yanıt vermiş ve en az 2 yıl rekürrensiz izlenmiş 71 hasta çalışmaya dahil edildi. Toplam 117 hastanın BCG tedavisi öncesi ve 49 nüks izlenen hastanın BCG tedavisi sonrası formalinle fikse-parafin gömülü doku örnekleri SP-142 immunohistokimya (İHK) testi (Ventana, Arizona, ABD) ile programlanmış hücre ölümü ligand 1 (PD-L1) ekspresyonu açısından incelendi. PD-L1 İHK skorlaması, PD-L1+ tümör infiltre eden inflamatuvar hücrelerin (İH) tümör içerisinde tuttuğu alanın yüzdesine göre belirlendi. BCG tedavisi öncesi, pozitif PD-L1 ekspresyonu, pT1 tümörlerde pTis/pTa tümörlere göre daha sık izlendi (%54.0-%23.3, p=0.05). pT1 tümörle CIS tümör birlikteliğinde ve lamina propria invazyonunun derin izlendiği pT1b tümörlerde, PD-L1 ekspresyon sıklığı daha da yüksek saptandı (sırasıyla %60.0 ve %69.6). Refrakter KİOMK'de %71.4 oranında pozitif PD-L1 ekspresyonu saptandı (p=0.050). KİOMK'ta rekürrensiz veya progresyonsuz sağkalım ile PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişkili saptanmadı. Çok değişkenli analizde, indüksiyon BCG tedavisi sonrası idame için alınan her bir siklus BCG'nin, rekürrens ve progresyon ihtimalini azalttığı saptandı (p=0.009 and p=0.040). Ürotelyal karsinoma iki ve daha fazla varyant histoloji eşlik ettiğinde progresyonsuz sağkalım ihtimalinin azaldığı belirlendi (p=0.004). Kas-invazyonsuz yüzeysel mesane tümörü nüksü ve ilk 6 ay içerisinde refrakter tümör nüksü gösteren hasta gruplarında, BCG sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyinin belirgin olarak azaldığı saptandı (p=0.029 ve p=0.012). Ancak kas-invazyonu göstermiş veya izlemde lenf nodu/ uzak metastaz geliştirdiği saptanmış hastalarda PD-L1 down/upregülasyonu saptanmadı. BCG tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyleri bu hastalarda sabit kaldı. Bu bulgulara göre, KİOMK'de PD-L1 ekspresyonu bazı kötü histopatolojik faktörler ile ilişkili olmakla beraber, rekürrens ve progresyon için prognostik bir değer taşımamaktadır. Genel anlamda PD-L1 ekspresyon düzeyleri BCG tedavisinden etkilenmemiştir. Bu nedenle ilk kanser tanısı koyulduğu sırada yapılan PD-L1 analizinin, tümör mikroçevresini yansıtmada ve anti-PD-L1 antikor tedavilerden fayda görebilecek hastaların seçiminde yeterli olabileceği düşünülmüştür. Ancak istisnai bir durum olarak, PD-L1 ekspresyonunun tedavi öncesi oldukça sık izlendiği BCG refrakter hastalarda, PD-L1 ekspresyonunun düzeyi BCG tedavisi sonrası anlamlı bir şekilde düşüş göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biobelirteçler; kanser, Calmette-Guerin Bacillus, Hastalık progresyonu, Mesane kanseri, Programlanmış hücre ölümü ligand 1

Destekleyen Kuruluşlar: H.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, TTU-2017-15644

ABSTRACT

Aydin, A.M., The effect of PD-L1 expression on development of BCG resistance and tumor progression in high-grade non-muscle-invasive bladder cancer, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Urology. Ankara, 2018.

Medical records of patients with primary high-grade non-muscle invasive bladder carcinoma (NMIBC) who was diagnosed between 2004 and 2017 at our institution and treated with at least 6 cycles of adjuvant intravesical BCG immunotherapy were retrospectively reviewed. Seventy patients with treatment failure (refractory, relapsing and progressive NMIBC) following intravesical BCG immunotherapy and 71 patients with a complete response to BCG who remained recurrence-free for at least 2 years were included in the study. A total of 166 formalin-fixed paraffin-embedded tissue samples obtained prior to BCG therapy (117) and at the time of recurrence (49) were analysed for Programmed Cell Death Ligand-1 (PD-L1) expression by SP-142 immunohistochemistry (IHC) test (Ventana, Arizona, USA). PD-L1 IHC scoring was based on percentage of PD-L1+ tumor infiltrating immune cells (IC) covering the tumor area. Prior to BCG therapy, PD-L1 expression was more frequent in pT1 tumors compared to pTis/pTa tumors (%54.0 vs %23.3, $p=0.05$). In pT1 tumors with co-existing CIS and in pT1b tumors which shows deep lamina propria invasion, the frequency of PD-L1 expression were noted even higher (%60.0 and %69.6 respectively). The frequency of PD-L1 expression was 71.4% in refractory NMIBC ($p=0.050$). In NMIBC, no association was demonstrated between PD-L1 expression and recurrence/progression-free survival. In multivariable analysis, every one more BCG cycle following induction BCG therapy was associated with a decrease in probability of recurrence and progression ($p=0.009$ and $p=0.040$). In coexistence of two and more variant histology with urothelial carcinoma, a decrease in the probability of progression-free survival was also noted ($p=0.004$). A significant decrease in the levels of PD-L1 expression was noted in patients with non-muscle invasive superficial recurrence and with refractory recurrence in the first 6 months ($p=0.029$ and $p=0.012$). However, no PD-L1 down/up regulation was observed during BCG therapy in either patients who had muscle-invasive progression or patients who had lymph node/distant site metastasis in the later disease course. Pre-treatment and post-treatment levels of PD-L1 expression were stable in these patients. According to the findings of the study, despite being associated with some unfavorable histopathologic factors, PD-L1 expression does not have any prognostic significance for recurrence and progression. In overall, PD-L1 expression level is not affected by BCG therapy. Therefore it is considered that PD-L1 analysis performed at the time of bladder carcinoma diagnosis seems adequate for reflection of tumor microenvironment and for selection of patients who benefit from anti-PD-L1 antibody therapy. But as an exception, BCG refractory patients who have quite frequent PD-L1 expression prior to treatment have significantly decreased levels of PD-L1 expression after BCG therapy.

Keywords: Biomarkers; cancer, Calmette-Guerin Bacillus, Disease progression, Bladder cancer, Programmed Cell Death 1 Ligand 1

Supported by H.U. Scientific Research Projects Coordination Unit, TTU-2017-15644

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
TEŞEKKÜRLER	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	1
1.2. Hipotez	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Temel Bilgiler	3
2.1.1. Kas-İnvaziv Olmayan Mesane Kanseri (KİOMK)	3
2.1.2. KİOMK Risk Sınıflandırması	5
2.1.3. Bağışıklık Sistemi ve Kanser	6
2.1.4. Programlanmış Hücre Ölümü Ligand-1 (PD-L1) ve İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri (İKNi)	9
2.2. Klinik Bilgiler	11
2.2.1. Transüretal Mesane Tümörü Rezeksiyonu	11
2.2.2. İntravezikal BCG İmmunoterapisi	12
2.2.3. KİOMK'ta İkincil Tedavi Seçenekleri	13
3. OLGULAR VE YÖNTEM	17

3.1. Yöntem	17
3.1.1. Hasta Seçimi	17
3.1.2. İmmünohistokimyasal (İHK) İnceleme	20
3.2. İstatistik	23
4. BULGULAR	24
4.1. Yüksek Dereceli KİOMK Hastalarında PD-L1 Ekspresyonu	24
4.1.1. Demografik, Klinik ve Histopatolojik Veriler	24
4.1.2. PD-L1 İHK Verileri	27
4.1.3. PD-L1 Ekspresyonu ile Demografik, Klinik ve Histopatolojik Veriler ve Tedavi Sonuçları Arasındaki İlişki	27
4.1.4. Rekürrensiz ve Progresyonsuz Sağkalım Verileri	28
4.2. BCG Tedavisi Öncesi ve Sonrası PD-L1 Ekspresyon Düzeyi	36
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇLAR	46
7. KAYNAKLAR	47
8. EKLER	
EK 1	
EK 2	

SİMGELER VE KISALTMALAR

AD	: Anabilim Dalı
ark.	: arkadaşları
BCG	: Bacillus Calmette-Guérin
CI	: Güven aralığı
CIS	: Karsinoma in situ
CTLA-4	: Sitotoksik T-lenfosit–ilişkili antijen-4
CUETO	: İspanya Ürolojik Kanserler Tedavi Grubu
DMA	: Doku mikroarray
EAU	: Avrupa Üroloji Derneği
EORTC	: Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
HÜTF	: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
HR	: Tehlike oranı (Hazard ratio)
KİMK	: Kas-invaziv mesane kanseri
KİOMK	: Kas-invaziv olmayan mesane kanseri
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
İH	: Tümörü infiltre eden inflamatuvar hücreler
İY 0/1/2/3	: Tümördeki inflamatuvar infiltrasyon yüzde skoru 0/1/2/3
İnfH 0/1/2/3	: PD-L1 ekspresyon skoru 0/1/2/3
İHK	: İmmünohistokimya
İKNi	: İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri
PD-1	: Programlanmış hücre ölümü-1

PD-L1	: Programlanmış hücre ölümü ligand-1
RS	: Radikal sistektomi
SS	: Standart sapma
TH	: Tümör hücreleri
TH 0/1	: Tümör hücrelerinin PD-L1 statüsü
TURM	: Transüretral mesane tümörü rezeksiyonu

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa No:
Şekil 2.1.1. Mesane kanseri TNM evrelemesi	4
Şekil 2.1.4. İmmün kontrol noktası inhibitörleri (CTLA-4/PD-1/PD-L1) yolağı	10
Şekil 2.2.2. İntravezikal BCG instilasyonu sonrası mesane mukozası bağışıklık yanıtı	13
Şekil 3.1.1. Dahil olma ve dışlama kriterlerine göre çalışmadaki yüksek dereceli KİOMK vakalarının hasta seçimi akış şeması	19
Tablo 4.1.1. Çalışmadaki intravezikal BCG immunoterapisi ile tedavi edilen primer, yüksek dereceli KİOMK hastalarının baseline demografik, klinik ve histopatolojik özellikleri	25-26
Tablo 4.1.2. SP142 IHK testi ile değerlendirilen toplam 117 primer, yüksek dereceli KİOMK hastasının PD-L1 boyanma özellikleri	28
Tablo 4.1.3. Toplam 117 yüksek dereceli KİOMK hastasında PD-L1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik parametreler ve tedavi sonuçları arasındaki ilişki	29
Şekil 4.1.4.a. Lamina propria invazyonu, toplam BCG siklus sayısı ve PD-L1 ekspresyonuna göre rekürrensiz sağkalım eğrileri	31
Şekil 4.1.4.b. Eşlik eden varyant histoloji, re-staging TURM ve PD-L1 ekspresyonuna göre progresyonsuz sağkalım eğrileri	32
Tablo 4.1.4.a. Toplam 141 yüksek dereceli KİOMK hastasında ilk rekürrensi ve progresyonu öngören faktörlerin tek değişkenli Cox regresyon analizi	34
Tablo 4.1.4.b. Toplam 141 yüksek dereceli KİOMK hastalarında ilk rekürrensi ve progresyonu öngören faktörlerin çok değişkenli Cox regresyon analizi	35
Tablo 4.2. Tedavi başarısızlığı gelişen toplam 49 hastanın BCG tedavisi öncesi ve sonrası PD-L1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması	37

1. GİRİŞ

1.1. AMAÇ

Yüksek dereceli kas-invaziv olmayan mesane kanserinin (KİOMK) altın standart tedavisi transüretral mesane rezeksiyonu ve 1-3 yıl süreyle adjuvan intravezikal BCG immünoterapisidir.¹ Ancak intravezikal BCG immünoterapisine rağmen yüksek dereceli T1 mesane kanseri olgularının yaklaşık %20'si ilk 5 yılda progresyon göstermektedir.² BCG'ye tam yanıt veren karsinoma in situ (CIS) lezyonlu hastaların yaklaşık %15-20'sinde de izlem sırasında progresyon görülmektedir.³ Bu sebeple temel klinik ve histopatolojik faktörler yanında progresyon riskini yüksek kesinlik ile öngörebilen yeni biobelirteçlere ihtiyaç vardır. Rekürrens ve progresyon riskinin daha iyi hesaplanması bazı hastalar için yoğun tedavi ve izlem protokolleri geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Bu çalışmada primer, yüksek dereceli KİOMK hastaları arasında intravezikal BCG immünoterapisi başarısızlığı (refrakter, relaps ve progresif) gelişmiş hastalar ile intravezikal BCG tedavisine tam yanıt vermiş hastaların tedavi öncesi programlanmış hücre ölümü ligand 1 (PD-L1) ekspresyon düzeyleri kıyaslanmıştır. Böylece PD-L1 ekspresyon düzeyinin KİOMK'deki prognostik önemini, BCG tedavisine yanıtındaki rolünü, klinik ve histopatolojik faktörlerle ilişkisini saptamak amaçlanmıştır.

BCG toksisitesi ciddi bir sağlık sorunu olup, BCG sepsisi gibi hayatı tehdit eden ciddi yan etkiler tedavi sırasında gelişebilmektedir.¹ Üretimindeki zorluklar ve bazı firmaların pazardan çıkması nedeniyle hastaların tedavileri sırasında BCG kısıtlılığı yaşanabilmektedir.⁴ BCG başarısızlığı gelişen hastalarda en etkili ikincil tedavi seçeneği radikal sistektomidir (RS).⁵ Ancak RS yüksek komorbiditeye ve yaşam kalitesinde olumsuz etkilere yol açan oldukça agresif bir tedavidir. Dolayısıyla BCG kısıtlılığında, BCG'ye bağlı yan etkiler görüldüğünde veya BCG tedavisine direnç geliştiğinde etkili ikincil tedavilere ihtiyaç vardır. Metastatik ve lokal ileri evre mesane kanserlerinin tedavisinde immün kontrol noktası molekülleri inhibitörleri (İKNi) ile yeni umut verici sonuçlar elde edilmiş; objektif cevap oranları, artmış PD-L1 ekspresyonu saptanan hastalarda daha yüksek bildirilmiştir.⁶ Eğer BCG başarısızlığı yaşanmış KİOMK hastalarında PD-L1 ekspresyonu varsa bu hastalar teorik olarak anti-PD-L1 antikolar ile tedaviden fayda görebilir. Bu

çalışmada BCG tedavisi sonrası başarısızlık gelişen yüksek dereceli KİOMK hastalarının tedavi sonrası PD-L1 ekspresyon düzeylerinin incelenmesi de amaçlanmıştır.

1.2. HİPOTEZ

Yüksek dereceli KİOMK hastalarında intravezikal BCG immünoterapisi öncesi tümör hücreleri (TH) ve tümörü infiltre eden inflamatuvar hücrelerdeki (İH) PD-L1 ekspresyon düzeyleri, tedaviye tam yanıt veren hastalarda, tedavi başarısızlığı gelişenlere göre daha yüksektir.

BCG başarısızlığı gelişmiş yüksek dereceli KİOMK hastalarında tedavi sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyleri, tedavi öncesi düzeylere göre azalış gösterir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TEMEL BİLGİLER

2.1.1. Kas-İnvaziv Olmayan Mesane Kanseri (KİOMK)

Türkiye’de 2016 yılı verilerine göre kanser, ölüm nedenlerinin en sık ikinci nedeni olup tüm ölümlerin %19.7’sini (erkeklerde %23.5, kadınlarda %15.1) oluşturmaktadır.⁷ Mesane kanseri ise erkeklerde en sık görülen 4. kanser türüdür ve tüm kanserlerin % 7.7’sini oluşturmaktadır.⁸ Ülkemizde mesane kanseri görülme hızı 2014 yılı verilerine göre erkeklerde ve kadınlarda sırasıyla 100.000 de 19.3 ve 2.8 olarak saptanmıştır.

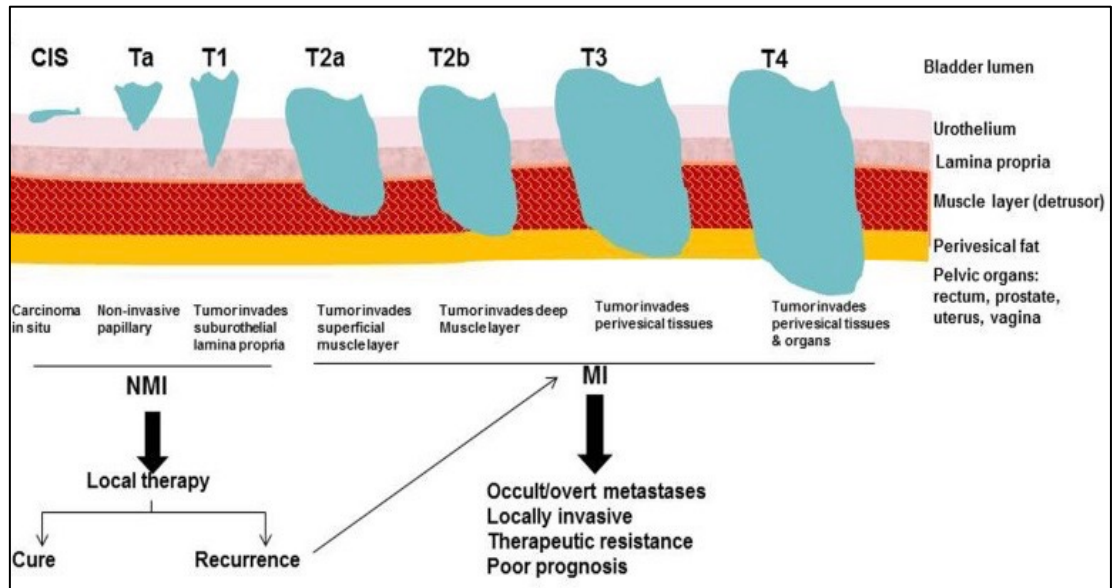
Mesane kanseri dünyada genelinde de önemli bir sağlık sorunudur ve en sık görülen 9. kanser türüdür.⁹ Avrupa, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika ve Türkiye’nin de içinde bulunduğu Batı Asya, mesane kanserinin en yaygın görüldüğü bölgelerdir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı’nın (IARC) raporuna göre dünyada 2012 yılında 330.380 erkek ve 99.413 kadın mesane kanseri tanısı almıştır. Aynı yıl 123.051 erkek ve 42.033 kadın hasta ise mesane kanseri nedeniyle kaybedilmiştir. Tüm dünyada mesane kanseri insidansı ve mortalitesi erkeklerde kadınlara oranla 4 kat daha sık olup bu oran ülkemizde 8 kata kadar çıkmaktadır.^{7,10}

Tüm mesane kanserlerinin yaklaşık %75’ini kas-invaziv olmayan mesane kanserleri (KİOMK) oluşturur.¹¹ KİOMK, muskularis propriayı tutmaz ve sadece mukoza [Tis/CIS (karsinoma in situ) ve Ta] ve submukozaya (T1) sınırlı tümörleri kapsar¹² (Şekil 2.2.1).

KİOMK’nin tipik bulgusu, hematüri (mikroskobik veya gross) olmakla birlikte olguların yaklaşık %5’i sadece alt üriner sistem depolama semptomları ile klinik bulgu verebilir.¹³ Sistoskopide tümör açısından şüpheli papiller veya hiperemik kadifemsi lezyonların rezeksiyonu veya örneklenmesi sonrası yapılan histopatolojik inceleme ile KİOMK tanısı konur.¹ İdrar sitolojisi, özellikle yüksek dereceli tümörlerin tanısı için sistoskopiye destekleyen bir tetkiktir. KİOMK tanısını

takiben hastalar risk sınıflandırmasına göre farklı sıklıkta ve tipte adjuvan intravezikal tedavi alırlar ve sistoskopi/idrar sitolojileri ile takip edilirler.

Ancak KİOMK sık görülmesi, ömür boyu izlem gerektirmesi ve tedavisi sırasında gelişebilen komplikasyonlara bağlı hospitalizasyon ihtiyacının doğabilmesi nedeniyle tedavi maliyeti oldukça yüksektir.^{14,15} ABD 2001 verilerine göre bir hastanın tanıdan ölüme kadar geçen süre içinde toplam tedavi/izlem/bakım masraflarının en yüksek olduğu kanser türü (96.000-187.000 ABD doları) mesane kanseridir. Genel toplam sağlık harcamaları içinde ise mesane kanseri en masraflı 5. kanserdir. Üstelik mesane kanseri için yıllık toplam tedavi masrafı yıllar içerisinde artma eğilimi göstermiştir.^{15,16} ABD verilerine göre 2001 yılında toplam 3.7 milyar Amerikan doları olan toplam masraf, 2014 yılında 4 milyar Amerikan dolarına yükselmiştir. Bu rakamın 2020 yılında ise 5 milyar Amerikan dolarına ulaşması beklenmektedir.



Şekil 2.1.1. Mesane kanseri TNM evrelemesi. Said N.'den alıntıdır.¹⁷ Oncotarget. 2016.

Yüksek maliyeti artıran bir diğer önemli neden ise KİOMK'nin sık rekürrens göstermesidir.¹⁸ İzlem sırasında yapılan ek tedaviler tümör progresyonundan ziyade, çok daha sık görüldüğü için tümör rekürrensleri için yapılmaktadır ve bu durum genel sağkalıma belirgin bir katkı sağlamamaktadır. Ayrıca rekürrensler sık

tekrarlayabildiğinden yoğun bir hasta izlemi gerektirmekte dolayısıyla tedavi maliyetindeki artışın önüne geçilememektedir. Maliyeti düşürmek için ekonomik ve kişilere özgü izlem şemaları ve tedavi protokollerinin geliştirilmesi büyük bir gereklilik arz etmektedir. Progresyon ve rekürrens riskini daha iyi öngören biobelirteçlerin belirlenmesi daha kesin risk analizi yapılmasına yardımcı olarak belirli hasta grupları için daha ekonomik izlem/tedavi protokollerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilecektir.

2.1.2. KİOMK Risk Sınıflandırması

KİOMK, klinik ve histopatolojik özelliklere bağlı olarak birbirlerinden ciddi farklılıklar gösterir, oldukça heterojen bir hastalık grubunu kapsar. Histopatolojik incelemede mesane lümeninden köken alan papiller lezyonlar tümör derecelendirmesine göre ürotelyal papillom, düşük malignite potansiyelli papiller ürotelyal neoplazm, düşük dereceli papiller ürotelyal kanser ve yüksek dereceli papiller ürotelyal kanser olmak üzere 4 gruba ayrılır.¹⁹ Karsinoma in situ tümörler ise papiller yapıda olmayıp, yassı ve mukozaya sınırlı yüksek dereceli tümörlerdir. KİOMK'de tümör derecesi dışında prognostik öneme sahip olduğu saptanmış diğer histopatolojik parametreler ise lenfovasküler invazyon ve varyant histoloji (mikropapiller, plasmositoid, sarkamatoid vs.) varlığıdır.¹ Klinik olarak ise tümörler soliter veya multipl, 3 cm'den küçük veya büyük, primer veya rekürren olarak birbirinden ayrılırlar.

KİOMK, rekürrens ve progresyon gelişimi açısından birbirlerinden farklılık gösterdiklerinden düşük, orta ve yüksek riskli KİOMK olarak 3 grupta sınıflandırılırlar.¹ Primer, soliter, mukozaya sınırlı (Ta), düşük dereceli, 3 cm'den küçük ve CIS birlikteliği izlenmeyen tümörler düşük-riskli KİOMK olarak sınıflandırılır. Yüksek dereceli veya submukoza tutulumu olan (T1) veya CIS tümörler yüksek-riskli KİOMK'yi oluşturur. Hem multipl, hem rekürren hem de >3 cm'den büyük düşük dereceli Ta tümörler de yüksek riskli kabul edilirler. Bu özellikleri tam olarak karşılamayan diğer tüm tümörler ise orta-riskli KİOMK'yi oluşturur.

KİOMK'de rekürrens ve progresyon riski Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu (EORTC) tarafından toplam 6 kriter (tümör sayısı, tümör büyüklüğü, rekürrens hızı, T evresi, eş zamanlı CIS varlığı ve tümör derecesi) göz önüne alınarak yapılmıştır.²⁰ En düşük risk kriterlere sahip grupta rekürrens ve progresyon riski 1. yılda sırasıyla %15 ve %1 ve 5. yılda %31 ve %1 iken, en yüksek risk kriterlere sahip grupta rekürrens ve progresyon riski 1. yılda sırasıyla %61 ve %17, 5. yılda ise %78 ve %45 olarak saptanmıştır.

İspanya Ürolojik Kanserler Tedavi Grubu (CUETO) ise rekürrens ve progresyon riskini, EORTC'nin 6 kriterine yaş ve cinsiyet kriterlerini ekleyip tümör büyüklüğü kriterini tümör statüsü kriteri (primer veya rekürren) ile değiştirerek toplam 7 kriter üzerinden değerlendirmiştir.²¹ Bu çalışmada EORTC çalışmasından farklı olarak hasta grubununun çok büyük çoğunluğunu intravezikal kemoterapi alan hastalar değil intravezikal BCG tedavisi alan hastalar oluşturmuş ve yüksek riskli grupta rekürrens ve progresyon riski 1. yılda (sırasıyla %41 ve %13) ve 5. yılda (sırasıyla %67 ve %33) daha düşük saptanmıştır. EORTC hesaplamasında progresyon için en yüksek riskli kriter CIS varlığı, CUETO hesaplamasında ise yüksek tümör derecesidir. Rekürrens için en yüksek riskli kriter ise EORTC hesaplamasında tümör sayısı, CUETO hesaplamasında ise tümör rekürrensidir.

2.1.3 Bağışıklık Sistemi ve Kanser

Kanser hücreleri, biyolojik yetenekleri sayesinde büyüme ve metastaz yapma potansiyeline sahiptir.²² Kanserin temel 6 özelliği; kendi büyüme faktörlerine sahip olabilme, büyümeyi engelleyici faktörlerden kurtulabilme, hücre ölümüne karşı direnebilme, sürekli bölünme yeteneği sayesinde ölümsüzlük kazanabilme, yeni damar oluşumunu indükleyebilme (anjyogenez) ve invazyon/metastaz yapabilmedir. Bunlara ek olarak kanserli hücrelerin enerji metabolizmalarını düzenleyebilme ve bağışıklık yanıtının tümör yıkımından kaçabilme gibi 2 yeni ayırıcı özelliği daha saptanmıştır.

Güncel çalışmalar bağışıklık sisteminin kanserin eliminasyonunda ve rekürrensini önlemede önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Kim ve ark.,

immünsuprese farelerde kanser oluşumuna yol açan hücre klonlarının immünkompetant hücrelerde kanser oluşturamadığını, ancak immünkompetant farelerde kanser oluşturan hücrelerin immünsuprese farelerde de kanser oluşturabildiğini saptamıştır.^{22,23} Bu bulgular, tümör hücrelerinin bağışıklık yanıtını atlatmak için çeşitli mekanizmalar ile rezistans geliştirdiğini göstermektedir. İmmünsuprese mikroçevrede gelişmiş tümör hücreleri, immunokompetant farelere transfer edildiğinde ise yüksek immünojenitelerinden dolayı eliminasyona uğramışlardır. T lenfositler veya doğal öldürücü hücrelerin yokluğunda/fonksiyon kayıplarında da tümör insidansında artış olduğu saptanmış, dolayısıyla hem adaptif hem de doğal bağışıklık sisteminin tümör eliminasyonunda rol oynadığı sonucuna varılmıştır.²⁴

Antikanser özelliklerine rağmen, bağışıklık sisteminin, tümör indükleyici bir yanının olduğu gözlenmiştir.²² Qian ve ark., bağışıklık sistemi sonrası gelişen inflamasyonun ve makrofajların kanser gelişimi için gerekli büyüme sinyalleri ve anjiogenetik faktörleri indüklediğini bildirmiştir.²⁵ İnflamatuar hücreler ile tümör hücreleri, kanser gelişiminin en erken evrelerinden metastazına kadar yoğun, kompleks ve dinamik bir etkileşim içinde bulunmaktadır.²⁶ Bu etkileşim sırasında inflamatuar hücreler antitümöral etkilerinin yanı sıra, çeşitli kimyasallar salgılayarak tümör hücrelerinde DNA hasarına katkı yapabilir, mutajenik bir etki göstebilirler.

Bağışıklık sisteminin hem tümör indükleyici hem de tümör baskılayıcı özelliklerinin saptanması, bağışıklık sisteminin temel rolünün kanser hücrelerini tanıyarak yok etmek olduğunu öne süren immün-gözetim (immunosurveillance) teorisinden uzaklaşılmasına neden olmuştur.^{27,28} Daha yeni ve kabul gören ‘kanserin immün şekillendirilmesi’ (cancer immunoediting) teorisine göre, bağışıklık sistemi ile tümör hücrelerinin etkileşimi; eliminasyon (elimination), denge (equilibrium) ve immüniteden kaçış (escape) olmak üzere birbirini izleyen üç temel fazın ortaya çıkmasına neden olur.

Bu teoriye göre ilk olarak ‘iç tümör baskılayıcı’ apoptozis, DNA tamiri gibi mekanizmaların başarısızlığı nedeniyle normal hücrelerden tümör hücreleri gelişir.

Daha sonra bağışıklık sistemi 'dış tümör baskılayıcı' bir mekanizma olarak devreye girer. Sitokin salınımı ve antijen prezentasyonu yapan hücreler aracılığıyla bağışıklık sistemi tümör hücrelerine karşı uyarılır. Tümör hücreleri tarafından doğal bağışıklık sistemine ait hücre reseptör ligandlarının ekspresyonu da uyarıcı bir mekanizmadır. Bir diğere uyarıcı mekanizma ise tümör hücreleri ve hasarlı hücrelerden hyaluranik asit fragmanları gibi hasar ilişkili moleküler paternlerin salgılanmasıdır. Bu uyarılar sonrası, CD4+/ CD8+ T hücreler ve doğal öldürücü hücreler ile tümör hücreleri tamamen öldürülerek kanser eliminasyonu sağlanır. Böylece klinik olarak anlamlı kanser gelişmeden önce tümör hücrelerinde ölüm gerçekleşir (yok etme/ eliminasyon fazı).

Ancak bazı alt tümör hücre grupları eliminasyon fazında yok edilemeyebilir. Bu durumda, tümör hücrelerinin büyümesi adaptif bağışıklık tarafından kısıtlanarak bir denge fazında tutulur. Bu denge fazı ile klinik anlamlı kanserin gelişmesi bazen hayat boyu kısıtlanabilir, bağışıklık sisteminin devamlı gözetimi veya reaktivasyonları ile tümör hücreleri baskı altında tutulabilir (denge/ equilibrium fazı). Ancak genetik olarak kararsız tümör hücreleri üzerlerindeki immünolojik seçim baskısından kaçabilmek için yeni mekanizmalar geliştirmeye çalışır. Bunlar bazı immünolojik antijenlerin kaybedilmesi, bağışıklık yanıtının efektör mekanizmalarına rezistans geliştirilmesi veya immünbaskılayıcı bir mikroçevre oluşturma olabilir. Zayıf immünojenite gösteren yeni tümör hücre grupları, bağışıklık sisteminden kaçarak büyüüp gelişir ve klinik olarak anlamlı kansere yol açar (kaçış/ escape fazı).

Özetle, bağışıklık sisteminin hem tümör baskılayıcı hem de tümör indükleyici rolü vardır. Kompleks mekanizmalar ve etkileşimlerle kanser hücreleri bir immün şekillendirmeye maruz kalmaktadır.²² Bağışıklık sisteminin antitümöral etkilerini güçlendirici, tümör indükleyici etkilerini baskılayıcı yeni terapilerin geliştirilmesi ile gelecekte kanser tedavisinde başarının artması beklenmektedir.

2.1.4 Programlanmış Ölüm Antijeni Ligand-1 (PD-L1) ve İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri (İKNi)

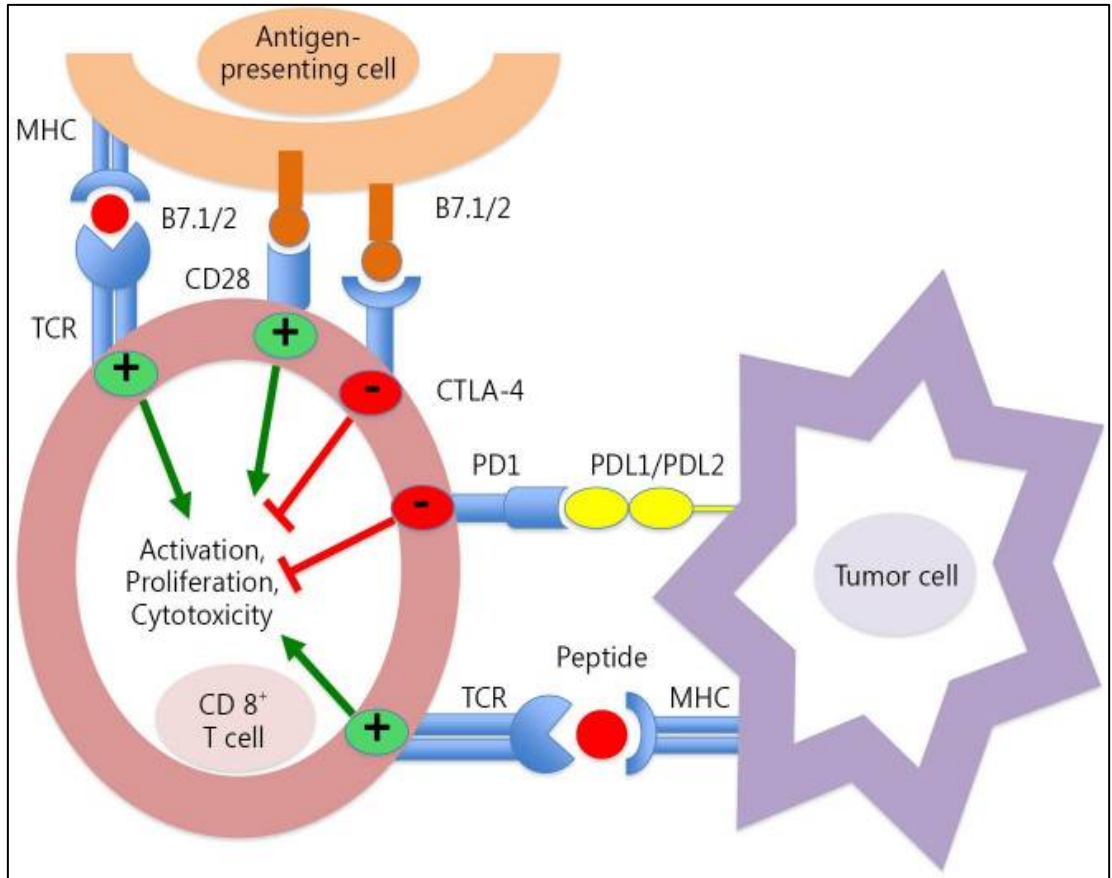
Kansere karşı bağışıklık yanıt, tümör hücrelerine ait protein antijenlerin bağışıklık sistemi hücreleri tarafından tanınması ve reseptör-ligand etkileşimi aracılığıyla başlar.²⁸ Programlanmış hücre ölümü ligand-1 (PD-L1, diğer adlarıyla B7-H1 antijeni veya CD274 antijeni) myeloid serilerdeki hücrelerde (makrofajlar, dendritik hücreler) devamlı olarak, lenfoid serilerdeki ve endotelial/epitelial hücrelerde (dolayısıyla kanser hücrelerinde) ise interferon- γ ve tümör nekroz faktör- α etkisiyle eksprese edilmeye başlar.²⁹⁻³¹ (Şekil 2.1.4.). PD-L1, aktive olmuş CD8+ T hücreleri üzerindeki PD-1 (Programlanmış ölüm antijeni 1) reseptörlerine bağlanarak T hücre reseptörü (TCR) sinyal yolağını ve CD28 ko-stimülasyonunu inhibe eder.³²

PD-L1 ile bağlandıktan sonra, PD-1 reseptörünün intrasellüler domainindeki tirozin-bazlı motifler fosforile olur. Takiben PD-1 intrasellüler domainine yönelen SHP-1 ve SHP-2 [Src homolog bölge 2 (SH2) domain-içeren fosfatase-1/-2], PD-1'in yakın komşuluğundaki TCR'nin tirozin-bazlı aktivasyon motiflerini de defosforile ederek TCR'nin downstream sinyal kaskadını engeller.³³ Böylece TCR downstream sinyal kaskadındaki PI3K/Akt (fosfatidilinositol-3-kinaz/protein kinaz B) ve c-Myc yolları indirekt olarak inaktivasyona uğrar. Böylece CD8+ T hücrelerinin proliferasyonu ve sitokin üretimi inhibe edilmiş olur.

PD-1 ve PD-L1 dışında bağışıklık sistemi inhibisyonu yapan bir diğer immün kontrol noktası molekülü ise CTLA-4 (Sitotoksik T-lenfosit-ilişkili antijen-4) reseptörüdür.³³ CTLA-4'ün B7.1/B7.2 (CD80/86) ligandları ile bağlanması, henüz antijenle karşılaşmamış naive T hücreleri ve hafıza T hücrelerinin erken aktivasyonunu inhibe eder.³⁴ (Şekil 2.1.4.). Oysa PD-1'in ligandları (PD-L1/PD-L2) ile interaksyonu periferel dokuya geçmiş aktif efektör T hücrelerini inhibe eder ve bağışıklık yanıtın daha geç döneminde etki gösterir. CTLA-4 sadece Akt kaskadını, protein fosfatase 2 (PP2A) aktivasyonu yaparak direk yolla inhibe eder.³³ Bu inhibisyon T hücre aktivasyon sinyal yollarının daha distal bir kısmında başladığı için PI3K kaskadı üzerinde etkisi yoktur. Dolayısıyla CTLA-4 ve PD-1 yolları,

direk ve indirekt mekanizmalarla, T hücre fonksiyonlarını additif veya sinerjistik etki göstererek inhibe eder.

Özetle, PD-1, aktif T ve B hücreleri, doğal öldürücü hücreler ve monositler üzerinde bulunan ve ligandı PD-L1 ile bağlandığında, T hücre reseptörü inhibisyonuna yol açan bir immün kontrol noktasıdır.³⁵ Bu etkileşim otoimmünitenin engellenmesi için gerekli bir mekanizmadır. Ancak PD-1 ve ligandlarının tümör hücreleri veya tümörü infiltre eden hücreler tarafından ekspresyonu, efektör T hücre yanıtında inhibisyona yol açar ve tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçmasına neden olur.



Şekil 2.1.4. İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri (CTLA-4/PD-1/PD-L1) Yolağı.

Santarpia M ve ark'dan alıntıdır.³⁶ Cancer Biol Med. 2015.

İmmün kontrol noktası moleküllerinin etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasıyla, bu moleküllere karşı antikorlar geliştirilerek kanser tedavisinde yeni ilerlemeler hedeflenmiştir.³⁷ İKNi'lerin malign melanoma tedavisindeki etkinliğinin

saptanmasından sonra akciğer, baş/boyun, renal hücreli kanser ve mesane kanserleri üzerindeki etkinlikleri günümüzde devam etmekte olan klinik çalışmalar ile yoğun bir şekilde incelenmektedir.

İKni'nin mesane kanserindeki etkinliği ilk olarak lokal ileri evre ve metastatik mesane kanserlerinde bildirilmiştir. Şu ana kadar toplam 5 adet İKni mesane kanseri tedavisi için onay almış olup 'atezolizumab, durvalumab ve avelumab' anti PD-L1 monoklonal antikor; 'pembrolizumab ve nivolumab' ise anti PD-1 monoklonal antikordur.³⁸ Bu ajanların platin bazlı kemoterapi başarısızlığı sonrası ikincil tedavi olarak kullanılmasıyla %15-20, platin bazlı kemoterapi için uygun olmayan hastalarda birincil tedavi olarak kullanılmasıyla da %20-25 oranında objektif cevap elde edilmiştir.⁶ KİOMK üzerinde de İKni'nin etkinliğini test eden pekçok klinik faz I ve faz II çalışma yürütülmekte olup, tedavi etkinliğine dair verilerin 2020 yılı civarında sonuçlanması beklenmektedir.⁶

2.2. KLİNİK BİLGİLER

2.2.1. Transüretal Mesane Tümörü Rezeksiyonu

KİOMK'nin tedavisi mesane mukozasında tümör açısından şüpheli tüm lezyonların transüretal rezeksiyonu (TURM) ve takiben adjuvan intravezikal kemoterapi/immunoterapi verilmesidir.¹ KİOMK tedavi sonuçları, hem tanısal hem de tedavi edici özelliği olan TURM'nin kalitesi ile doğru orantılıdır.³⁹ İdeal ve yeterli rezeksiyonun yapılabilmesi; tümörün çoklu yerleşimi, yaygınlığı, yeri, derinliği, cerrahın deneyimi gibi faktörlerden etkilenir. Ayrıca doku örneği incelemesi, koter artefaktı, mukoza ve altını döşeyen submukozanın ayrılması, yaygın inflamasyon alanlarının varlığı gibi durumlardan olumsuz etkilenmektedir.

Tek ve multipl KİOMK tedavisinin ilk TURM ve takiben adjuvan tedavi olması durumunda, kontrol sistoskopide sırasıyla %15.4 ve %45.8'e varan rekürrens bildirilmiştir.⁴⁰ İlk TURM ile alınan ürotelyal karsinom spesimenlerin yaklaşık yarısında ise muscularis propria'nın örneklenemediği saptanmıştır.⁴¹ Tek TURM ile 3. ayda tümör rekürrensi %44.3 iken, intravezikal BCG immunoterapisi öncesi yapılan yeniden evreleme TURM (Re-staging TURM) ile bu oranın %9.6'ya düştüğü

bildirilmiştir.⁴² Dolayısıyla Avrupa Üroloji Derneği (EAU) 2016 tedavi klavuzunda yeniden evreleme TURM, ilk rezeksiyonda kas dokusu saptanamayan yüksek dereceli veya T1 tümörlerde, primer CIS dışındaki tüm T1 veya yüksek tümörlerde ve ilk TURM’de tam rezeksiyon yapılamamış hastalar için, ilk TURM’den 2-6 hafta sonra, önerilmektedir.¹

2.2.2. İntravezikal BCG (Bacillus Calmette-Guérin) İmmunoterapisi

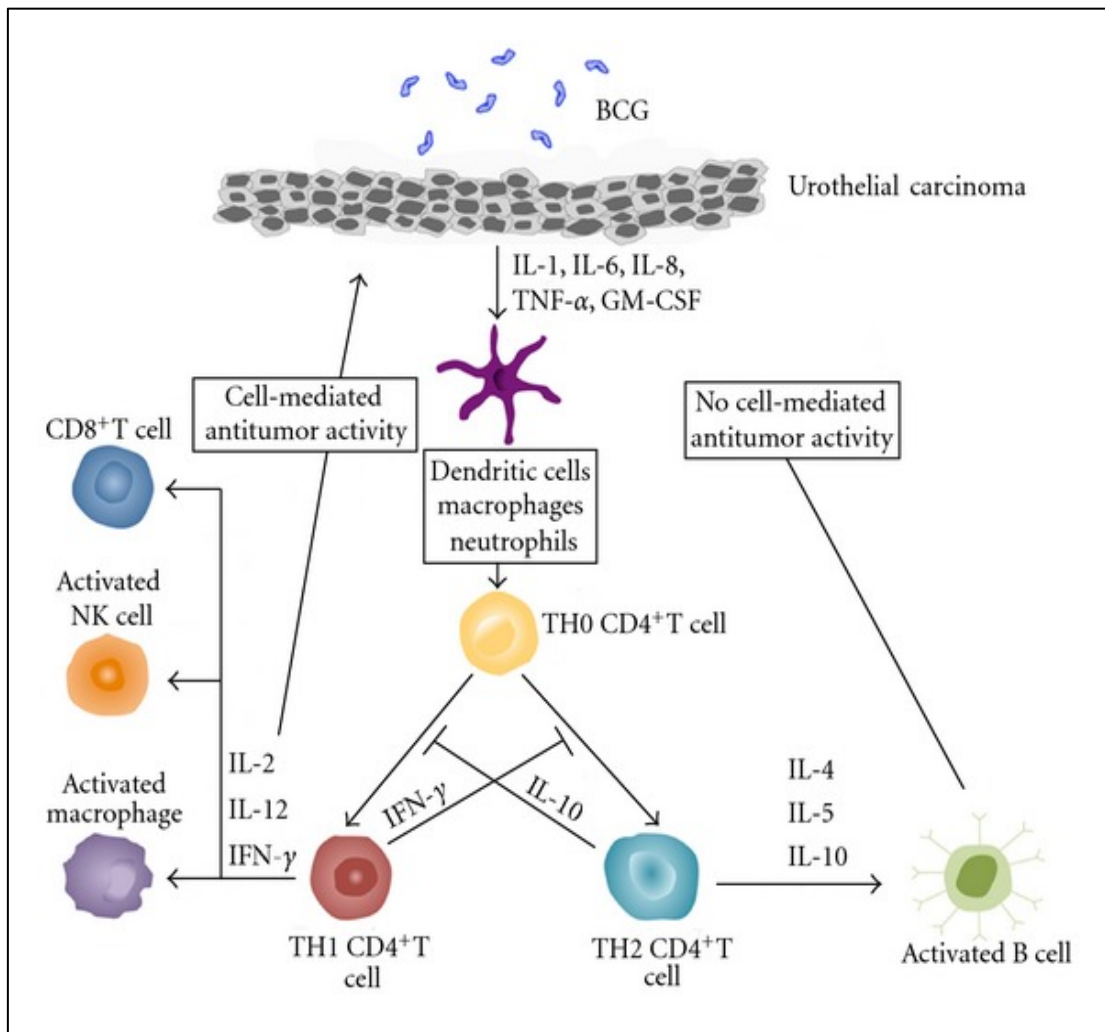
İntravezikal BCG’nin KİOMK tedavisi için kullanımı ilk olarak 1976 yılında gerçekleşmiştir.⁴³ Yaklaşık 40 yıl boyunca BCG immunoterapisi KİOMK için altın standart tedavi olarak yerini korumaktadır.¹ KİOMK tedavisinde progresyon ve rekürrens ihtimalini azaltmada BCG kadar etkin başka bir alternatif tedavi henüz bulunamamıştır.⁶

İntravezikal BCG instilasyonu sonrası ürotelyuma fibronektin aracılığıyla bağlanan BCG basili, ürotelyum hücreleri tarafından endositoza uğrar ve ardından ürotelyumda bir dizi inflamatuvar olay başlar.⁴⁴ (Şekil 2.2.2.). Ürotelyumdan sitokinlerin (IL-1, IL-6 ve TNF- α) salınımı ve adezyon moleküllerindeki artış, önce nötrofilleri, daha sonra makrofaj ve T hücreleri aktive edip bölgeye inflamatuvar hücre göçünü başlatır. T hücrelerinden IL-2 ve interferon- γ salınımı ise özellikle BCG’nin 3. instilasyonundan sonra başlar.⁴⁵ Sitokinler, inflamatuvar hücrelerin göçü ve aktivasyonu yanında tümör hücrelerine direk sitotoksik etki de gösterir ve inflamatuvar yanıt için gerekli bazı moleküllerin [intrasellüler adezyon molekülü 1, MHC I ve II (Majör histokompatibilite kompleks), CD 40] indüklenmesini de sağlar. Adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin seviyesi 5-6. instilasyonlar ile maksimum düzeye ulaşır.

Tümör hücreleri, aktive olmuş nötrofil, makrofaj ve T hücreleri ile eliminasyona uğrar.⁴⁴ İnflamasyon bölgesine ilk ulaşan nötrofiller direkt selüler sitotoksik etki ile, antitümör yanıtın en önemli hücresi CD8+ T hücreleri ise intraselüler adezyon molekülü-1 ve yağ asit sentetaz molekülü aracılığıyla apoptozis ve nekrozu uyarak tümör hücrelerini öldürür. CD4+ T hücreleri, T helper 1 hücreleri ve sitokinleri (IL-2, IL-12 ve interferon- γ) üzerinden sitotoksik T lenfositler

ve diğer inflamatuvar hücrelerin maturasyonunu sağlar. Bu nedenle CD4+ T hücrelerinin BCG aracılı antitümöral etkilerinde asıl rol oynayan hücreler T helper 1 CD4+ T hücreleridir. T helper 2 CD4+ T hücreleri ise sitotoksik yanıtın ziyade kendi sitokinleri (IL-4, IL-5 ve IL-10) ile antikor aracılı yanıtı neden olurlar.

Antitümöral yanıtın gelişmesinden 3-6 ay sonra ürotelyum hücrelerindeki MHC II ekspresyonu azalmaya başlar, inflamatuvar alandaki sitokin seviyesi ve infiltratif nötrofillerin sayısı düşer, dolayısıyla bağışıklık hafıza zayıflar. İdame BCG dozları ise bağışıklık hafızayı canlı tutarak antitümöral yanıtın sürdürülmesini sağlar.



Şekil 2.2.2. İntravezikal BCG instilasyonu sonrası mesane mukozası bağışıklık yanıtı. Askeland EJ ve ark'tan alınıdır.⁴⁶ Adv Urol. 2012.

KİOMK tedavisinde intravezikal BCG, sadece TURM ve adjuvan intravezikal tedaviye göre daha yüksek etkinlik ve başarı göstermiştir.⁴⁷ Sylvester ve

ark., progresyon göstermiş hastalarla yaptıkları çalışmada, BCG'nin T2 ve üzeri hastalığa progresyon riskini TURM veya TURM+adjuvan intravezikal kemoterapiye göre %27 daha fazla azalttığını saptamışlardır. BCG hem papiller hem de CIS tümörlerde benzer etki göstermekle beraber, sadece indüksiyon dozu alan hastalarda bu etki kaybolmuştur.⁴⁷ Dolayısıyla BCG tedavisinde progresyonun önlenmesi için idame BCG dozları ile tedaviye en az 1 yıl (1-3 yıl) devam edilmesi gerekmektedir.¹ Sadece TURM tedavisine göre adjuvan BCG'nin tedaviye eklenmesi, yüksek dereceli T1 mesane kanseri hastalarında kanser-spesifik sağkalımı ve genel sağkalımı da uzatmış ve 5-yıllık hastaliksız sağkalım oranı bu hastalarda %80 oranında saptanmıştır^{48,49}

CIS tümörlerin endoskopik rezeksiyonu takiben adjuvan intravezikal kemoterapi yerine BCG ile tedavi edilmesi, ortalama 3,5 yıllık bir izlemde, tedavi başarısızlığı riskinde (hastalık nüksü) yaklaşık %60'luk bir düşüş sağlamıştır.⁵⁰ Dolayısıyla BCG, CIS lezyonların tedavisinde de altın standart tedavi yaklaşımıdır.

2.2.3. KİOMK'ta İkincil Tedavi Seçenekleri

Intravezikal BCG immünoterapisi ile Ta, T1 ve CIS tümörlerde %50-70 oranında tam yanıt elde edilebilmektedir.^{50,51} Ancak başlangıçtaki yüksek tam yanıt oranlarına rağmen, yüksek dereceli T1 tümörlerin 5 yıl içerisinde %17-45'lere varan progresyon riski mevcuttur.²⁰ Tedaviye tam yanıt veren CIS tümörlü hastaların ise yaklaşık %50'sinde tümör rekürrensi gözlenmiştir.^{52,53} Rekürrens veya KİMK'ye progresyon gelişmesinin ardından, daha ileri evre kanserler ve metastazlar hastalık seyri sırasında ortaya çıkabilir.^{17,54} Tedavi başarısızlığı izlenen hastalarda tedaviye rezistans gelişebilir ve kötü prognoz izlenebilir (Şekil 2.1.1.). Bu nedenle KİOMK'nin erken dönemde etkin tedavi edilmesi ve progresyon/ rekürrens riskinin düşürülmesi ciddi önem arz etmektedir.⁵⁵

Maalesef BCG başarısızlığı sonrası yüksek riskli KİOMK hastalarının ikincil tedavi seçenekleri günümüzde oldukça kısıtlıdır. T1 rekürrenslerin BCG sonrası TURM ve adjuvan BCG ile tedavi edildiği olgularda 5. yılda kümülatif olarak pT2 hastalığa progresyon ve kansere özgü ölüm insidansları %75 ve %48 olarak

saptanmıştır.⁵⁶ Bu oran T1 rekürrens saptandığı anda RS ile tedavi edilen olgularda sırasıyla %28 ve %31'dir. Dolayısıyla BCG başarısızlığının tedavisinde, tüm diğer ikincil tedavilere göre RS onkolojik açısından daha üstün kabul edilmektedir.⁵

Günümüzde BCG başarısızlığından sonra ikincil bir tedavi seçeneği olarak İKNI'lerin kullanımı alternatif bir seçenek olarak gündeme gelmiştir.⁶ Bir sistemik tedavi seçeneği olan İKNI'lerin birincil tedavide kullanımları, BCG tedavisine kimlerin yanıt vereceğinin bilinmemesi ve BCG gibi başarılı bir lokal tedavi seçeneği varken sistemik bir tedavi olmaları nedeniyle henüz çok mümkün görünmemektedir. Ancak daha az agresif ikincil tedavilere ihtiyaç nedeniyle, bu ajanlardan BCG ile kombinasyon veya tek başına ikincil tedavi seçeneği olarak yararlanmak oldukça akılcı görünmektedir.

Günümüzde FDA tarafından metastatik mesane kanseri için onay almış 2 anti PD-L1 antikor (atezolizumab ve durvalumab) ve bir anti PD-1 antikorun (pembrolizumab) KİOMK'de devam eden faz II çalışmaları mevcuttur. Pembrolizumab 200 mg IV olarak her 3 haftada bir olmak üzere 24. aya kadar, yüksek riskli BCG'ye yanıt vermeyen KİOMK'de test edilmektedir (NCT02625961). Pembrolizumab'ın yüksek riskli ve BCG refrakter KİOMK hastaları için BCG ile kombinasyon tedavi çalışmaları (NCT02324582 ve NCT02808143) da halen yürütülmektedir.

Bir anti-PD-L1 antikor olan Atezolizumab ise BCG kombinasyon tedavisi veya tek ajan olarak, hiç BCG almamış, BCG'ye hiç yanıt vermemiş veya BCG sonrası relaps göstermiş KİOMK hastalarında faz Ib/II çalışmalarda (NCT02792192 ve NCT02844816) test edilmektedir. Bu çalışmalardaki Atezolizumab dozu ve rejimi, 1200 mg IV yolla her 3 haftada bir şeklindedir. Bu çalışmalarla Atezolizumab'a tam yanıt oranının saptanması hedeflenmektedir. Bir diğer anti-PD-L1 antikor olan Durvalumab ise BCG'ye cevap vermeyen CIS lezyonların ikincil tedavisinde her 4 haftada bir 1500 mg/kg IV olacak şekilde (toplam 12 ay/13 doz) faz II klinik bir çalışmada (NCT02901548) test edilmektedir. Çalışmanın birincil ve

ikincil hedefi 6. ve 24. aylarda mesane haritalama biyopsisinde (mapping biopsy) CIS lezyon yokluğudur.

3. OLGULAR VE YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 30.05.2017 tarihinde onaylanmış (Karar no: GO 17/400- 16) ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından tıpta uzmanlık tezi projesi kapsamında desteklenmiştir (Proje kodu: TTU-2017-15644).

3.1. YÖNTEM

3.1.1. Hasta seçimi

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2017 yılları arasında C.67 tanı kodu ile mesane kanseri tanısı almış, TURM veya RS tedavi kodları ile tedavi görmüş hastaların medikal kayıtları retrospektif olarak incelendi. Toplam 2285 mesane kanseri hastası arasından aşağıda belirtilen dahil olma ve dışlanma kriterlerine göre çalışma hastaları seçildi:

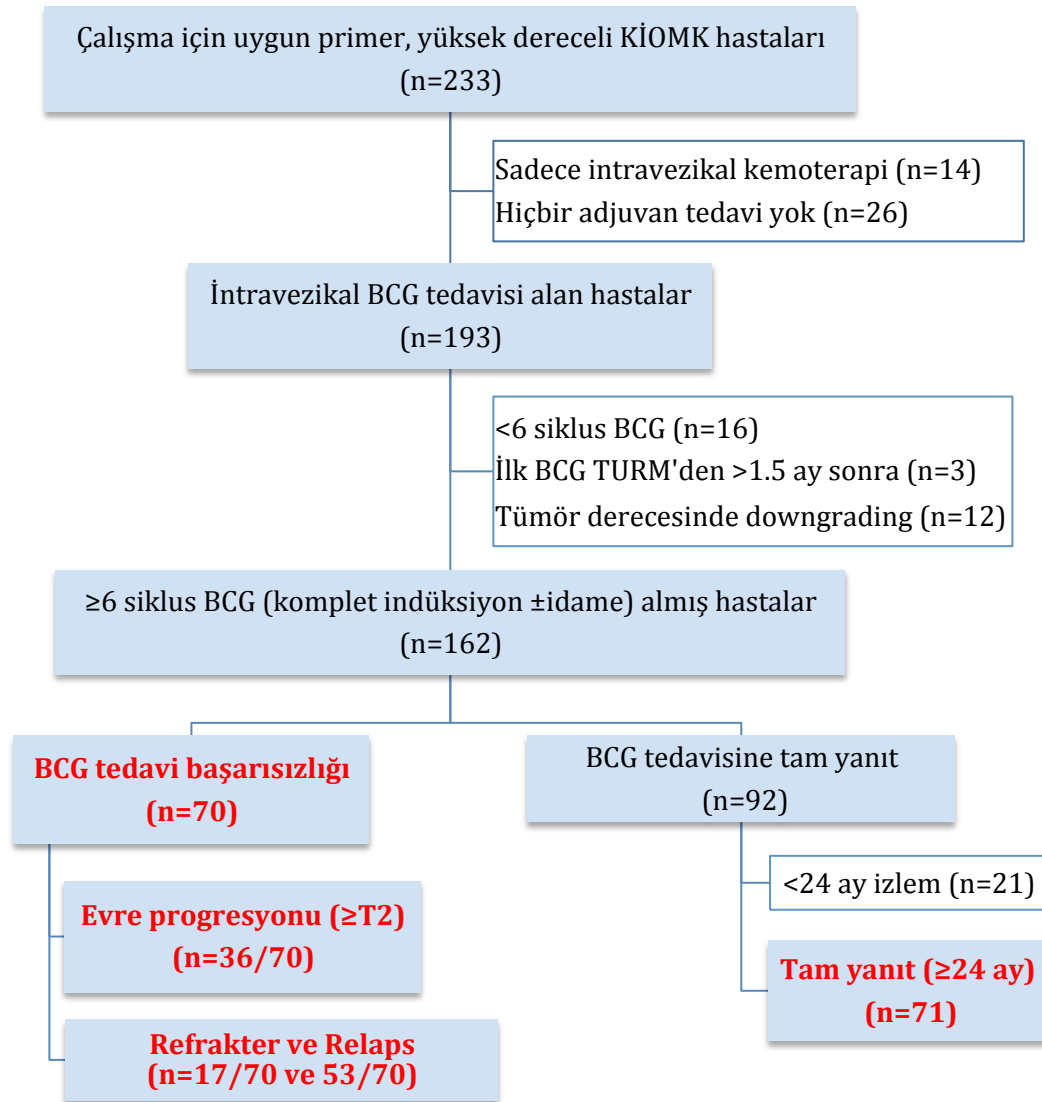
- 1) Mesanenin yüksek dereceli ürotelyal karsinomundan başka herhangi bir mesane kanseri tanısı almamış olmak (örn skuamöz karsinom, adenokarsinoma, nöroendokrin karsinom vb.)
- 2) Primer mesane kanseri olmak ve daha önce tanı almış başka mesane kanseri (rekürren tümör) hikayesi olmamak
- 3) İlk mesane kanseri tanısı aldığı sırada herhangi bir başka kanser (üst üriner sistem ürotelyal karsinomu dahil) tanısı/hikayesi olmamak (örn transizyonel üreter kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri vb.)
- 4) İlk mesane kanseri tanısı aldığı sırada herhangi bir kemoterapi, radyoterapi veya immunoterapi tedavi hikayesi olmamak
- 5) İlk mesane kanseri tanısı aldığı sırada sistemik inflamatuvar hastalık tanısı/hikayesi olmamak (örn kronik hepatit C, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis)
- 6) İlk histopatolojik incelemesi HÜTF Patoloji AD'da yapılmış olmak (dış merkezdeki ilk TURM'den sonra refere edilen hastalardan, ilk patoloji örneklerinin HÜTF Patoloji AD'da confirmasyonu olanlar dahil)

- 7) İlk TURM'den sonraki tedavi ve izlemlerini HÜTF Üroloji AD'da devam ettirmiş olmak

Yukarıdaki kriterlere göre ilk TURM'de histopatolojik tanısı yüksek dereceli ve primer KİOMK (pTis/Ta/T1 mesane kanseri) olan 233 hasta belirlendi. KİOMK tanılı hastalar içerisinde, sadece intravezikal kemoterapi almış 14; hiçbir adjuvan tedavi almamış 26; 13'ü BCG kısıtlılığı veya inkompliansı, 3'ü ciddi yan etki (BCG intoleran) nedeniyle 6 siklustan daha az BCG tedavisi almış toplam 16 ve ilk BCG indüksiyonuna ilk TURM/yeniden evreleme TURM'den 2 aydan daha geç başlayan 3 hasta dışlandı. Literatürde BCG ile tedavi edilen KİOMK'nin rekürrens ve progresyonu için geçen medyan süre yaklaşık 24 ay olarak bildirildiğinden,^{57,58} BCG tedavisine tam yanıt vermesine rağmen rekürrensiz izlem süresi 24 aydan kısa olan 21 hastalar da çalışmaya alınmadı. Son olarak çalışma sırasında immünohistokimyasal boyamadan önce yapılan ilk histopatolojik incelemede, tümör derecesi yüksekten düşüğü inen (downstaging) 12 hasta çalışmadan dışlandı. (Şekil 3.1.1.).

Özetle BCG tedavisine tam yanıt veren ve izlemde 24 aydan daha uzun tümör nüksü izlenmeyen 71 hasta ile BCG başarısızlığı gelişmiş 70 hasta (toplam 141) çalışmaya dahil edildi. BCG başarısızlığı görülen hastaların 36'sında aynı zamanda tümör evre progresyonu (\geq pT2) izlendi.

Çalışmada ilk TURM'de inkomplet rezeksiyon yapılmış veya kas örneği alınmamış tüm hastalara 1.5 ay içerisinde re-staging TURM (yeniden- evreleme TURM) yapıldı. Diğer hastalara re-staging TURM yapılması ise üroonkoloji cerrahlarının tercihine bağlıydı. Çalışmaya dahil olan hastaların hepsi tümör evresi değerlendirilmeksizin yüksek dereceli ürotelyal karsinomlardan oluştuğundan tüm hastalar rekürrens ve progresyon açısından yüksek riskli kabul edildi. Bu nedenle hastalar ilk 2 yıl 3 ayda bir, sonraki yıllarda 6-12 ayda bir tekrarlayan fleksibl sistoskopi ve idrar sistolojileri ile takip edildi. Hastalar ilk 2 yıl yılda bir, sonraki dönemde ortalama 2 yılda bir olmak üzere tekrarlayan mesane protokollü bilgisayarlı tomografiler (BT Ürografi) ile değerlendirildi.



Şekil 3.1.1. Dahil olma ve dışlama kriterlerine göre çalışmadaki yüksek dereceli KİOMK vakalarının hasta seçimi akış şeması.

BCG tedavisi, Mycobacterium bovis suşunu içeren 1-3 ml'lik küçük şişelerin (vial) 50 ml'lik fizyolojik seruma seyreltilip 14 F sonda kateter aracılığıyla hastaların mesanesine verilmesiyle gerçekleştirildi. Kateterin çekilmesinden 2 saat sonra, hastaların idrar yapmaları istendi. Her bir küçük şişedeki BCG dozu, tüm jenerik ilaçlarda, yaklaşık 1×10^9 koloni oluşturuca ünite (CFU) canlı-atenüe Mycobacterium bovis suşunu içermektedir. Tüm hastalar haftada bir kez olmak üzere toplam 6 hafta indüksiyon BCG tedavisi aldı. İzlem sırasında pozitif idrar sitolojisi veya kontrol

fleksibl sistoskopide tümör açısından şüpheli bir lezyon saptandığında endoskopik rezeksiyon (TURM) yapıldı.

Çalışmada BCG başarısızlığı, EAU 2016 KİOMK tedavi rehberine uygun olarak tanımlandı.¹ Düşük dereceli tümör nüksleri BCG başarısızlığı olarak kabul edilmedi. Çalışmada BCG tedavisinin herhangi bir döneminde kas-invaziv hastalık gelişen hastalar tümör progresyonu gösteren hastalar, TURM'den sonra 3. ayda Ta/T1 HG tümör veya hem 3. hem de 6. ayda izole CIS tümörü saptanan hastalar BCG refrakter hastalar, idame BCG tedavisine tam yanıt vermesine rağmen 6. aydan sonra takibinde yüksek dereceli tümör nüksü saptanan hastalar BCG relapsı gösteren hastalar olarak kabul edildi. TURM ile \geq pT2 mesane kanseri tanısı alan 36 hastanın 26'sı RS, 4'ü multimodal tedavi, 3'ü ise tekrarlayan TURM ile tedavi edildi. Hastalardan 2'sinin tedavisi ise KİMK tanısı sonrası takipten çıkmaları nedeniyle yapılamadı. RS olgularında, eş zamanlı bilateral pelvik lenf nodu diseksiyonu (eksternal iliak, internal iliak, obturar ve ana iliak lenf nodları) yapıldı. Üriner diversiyon olarak ileal loop veya kontinan rezervuar tercih edildi. Multimodal tedavi alan hastalara komplet TURM'yi takiben kemoterapi ve radyoterapi tedavileri verildi. Hastalar üst üriner sistem tutulumu ve uzak metastaz açısından abdomen ve toraks bilgisayarlı tomografileri ile takip edildi. Kas invazyonu göstermeyen refrakter ve relaps tümörlerin tedavi şekli cerrahın tercihine bırakıldı. Bu hastalarda ikinci kez BCG tedavisi (BCG challenge), RS+ lenf nodu diseksiyonu veya izlem tercih edildi. Hastaların son izlem tarihi ve yaşam statüleri medikal kayıtların incelenmesi ile belirlendi.

3.1.2. İmmünohistokimyasal inceleme

Hacettepe Üniversitesi Patoloji arşivinden toplam 141 çalışma hastasının BCG tedavisi öncesi ve toplam 70 tedavi başarısızlığı gelişen hastanın BCG tedavisi sonrası olmak üzere toplam 211 doku örneğine PD-L1 immünohistokimya (İHK) analizi için ulaşılmaya çalışıldı. Tüm doku örnekleri; tümör derecesi, varyant histolojik alt tip, lamina propria invazyon derinliği ve kas dokusu varlığı/invazyonu açısından deneyimli uzman bir üropatolog (Prof. Dr. Dilek Ertoy Baydar) tarafından İHK öncesi değerlendirildi. Bu ilk değerlendirme sırasında, tümör derecesinde

downgrading olan 12 hasta çalışmadan dışlanmıştı. Hastaya doku bloklarının geri iadesi ve teknik nedenler nedeniyle İHK'nın bazı bloğa ait örneklerde yapılamaması sonucu 117 tedavi öncesi ve 49 tedavi sonrası (toplam 166) formalinle fikse-parafine gömülü blok İHK için değerlendirilebildi.

Formalinle fikse-parafine gömülü dokuların bazılarında boyanma için tam blok kesiler bazılarında da doku microarray (DMA) oluşturuldu. Her bir DMA blok, 14 farklı doku örneği içerecek şekilde toplam 12 adet DMA tasarlandı. DMA'yı oluşturacak her biri farklı hastaya ait doku örneklerinden, 6 mm çapındaki puncherlar ile yeni örnekler alındı. Bu yeni parça örnek dokular manuel olarak bloklara ekildi. DMA için alınan parça örnekler, orijinal bloklarda tümör hücrelerinin en yoğun ve tümör derecesinin en yüksek izlendiği bölgelerden seçildi. Belirgin tümör heterojenitesi, eşlik eden varyant histoloji ve eş zamanlı CIS varlığı izlenen bloklardan tam blok kesiler alınması tercih edildi.

Tüm PD-L1 boyanmalar, 4 µm kalınlığındaki formalinle fikse-parafine gömülü doku kesilerinde gerçekleştirildi. Çalışmada FDA tarafından mesane kanseri için onay almış, validasyonu tamamlanmış ve ticari tanı testi olarak kullanıma girmiş SP-142 PD-L1 İHK testi (Ventana, Arizona, ABD) kullanıldı. İmmunohistokimyasal test üretici firmanın kullanım klavuzunda belirttiği esaslara göre klon SP-142 tavşan anti-PD-L1 monoklonal antikor (IgG) ile gerçekleştirildi.

PD-L1 immunohistokimya testi sonuçları ve skorlaması Prof. Dr. Dilek Ertoylu tarafından değerlendirildi. Değerlendirme esnasında, hastanın demografik, klinik ve BCG tedavisi sonuçlarına karşı körlene yapıldı. Çalışmadaki PD-L1 reaktivitesi, Rosenberg ve ark.'ın metastatik mesane kanseri hastalarında tanımladıkları skorlama sistemine göre yapıldı.⁵⁹ Bu skorlamada, PD-L1 statüsü (pozitifliği veya negatifliği) ve skoru derecelendirmesi (0/1/2/3), boyanma şiddetinden (staining intensity) bağımsız olarak, sadece PD-L1 pozitifliği gösteren tümör infiltre eden inflamatuvar hücrelerin (İH) tümör mikroçevresindeki yüzde oranına (percentage) göre belirlendi (**Bkz. Ek 1-2**). Buna göre, tümör alanı içerisindeki toplam PD-L1+ İH'nin oranı <%1 altında ise İnfH0 (PD-L1 ekspresyonu

yok), $\geq\%1$ - $<\%5$ ise İnfH1 (PD-L1 ekspresyonu var), $\geq\%5$ - $<\%10$ ise İnfH2 (yüksek PD-L1 ekspresyonu var) ve $\geq\%10$ ise İnfH3 (çok yüksek PD-L1 ekspresyonu var) olarak skorlama yapıldı. Sadece tümör ve tümör alanına komşu dar stromal alanlardaki İH değerlendirmeye alınıp, bu alanlar dışında kalan PD-L1+ inflamatuvar hücreler (örn lenfoid folikül alanları) değerlendirme dışı tutuldu. BCG'ye bağlı görülen granülom alanlarındaki inflamatuvar hücreler de , PD-L1 değerlendirilmesine dahil edilmedi.

Tümör dokusu örneklerinde, PD-L1 ekspresyonunu dikkate almaksızın, tümörde izlenen inflamatuvar reaksiyonun şiddeti de incelendi. İnflamatuvar infiltrasyon yüzdesi, inflamatuvar hücrelere ait infiltrasyon alanının tümör toplam alanı içerisindeki yüzdesi (percentage) olarak değerlendirildi. Buna göre inflamatuvar infiltrasyonun toplam tümör alanı içindeki oranı $<\%1$ ise İY0 (tümörde inflamatuvar infiltrasyon yok), $\geq\%1$ - $<\%5$ ise İY1 (tümörde inflamatuvar infiltrasyon var), $\geq\%5$ - $<\%10$ ise İY2 (tümörde yoğun inflamatuvar infiltrasyon var), $\geq\%10$ ise İY3 (tümörde çok yoğun inflamatuvar infiltrasyon var) olarak tanımlandı.

SP142 klonunun (Ventana, Arizona, ABD) kullanıldığı faz Ib ve II çalışmalarında Herbst ve Rosenberg, tümör hücrelerinin (TH) boyanma yüzdesinin çok düşük olduğunu ve PD-L1 statüsü ile tedavi sonuçları arasındaki ilişkiyi saptamada sadece İH'nin boyanma yüzdesinin prognostik değer taşıdığını bildirmişlerdi.^{59,60} Çalışmamızda, tümör hücrelerine ait PD-L1 boyanma özellikleri, genel PD-L1 statüsünü belirlemede ve skorlamada dikkate alınmadı. Ancak TH boyanma yüzdesinin sıklığını inceleyebilmek için, TH'lerin boyanma yüzdesi 'Blueprint Project' çalışmasına benzer şekilde ayrıca incelendi.⁶¹ Buna göre tüm tümör hücreleri arasında PD-L1 ekspresyonu gösteren TH'lerin görülme yüzdesi $\geq\%1$ olan tümörler, TH1 tümörler (tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu var), $<\%1$ olan tümörler ise TH0 tümörler (tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu yok) olarak değerlendirildi.

3.2. İSTATİSTİK

İstatistiksel veri analizleri SPSS İstatistik Analiz Yazılım versiyon 17.0 (Chicago, Illinois) kullanılarak yapıldı. Bağımsız kategorik verilerin değerlendirilmesi ki-kare testi (Pearson Chi-Square test) türleri olan Fisher's Exact test ve Linear-by-linear association testleri kullanılarak yapıldı. Bağımlı kategorik verilerin incelenmesi ise McNemar testi ile yapıldı. Parametrik olmayan bağımlı verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon signed rank testi kullanıldı.

PD-L1 statüsüne ve diğer faktörlere göre rekürrensiz ve progresyonsuz sağkalım, Kaplan-Meier sağkalım eğrileri log-rank ve Gehan-Breslow testleri ile incelendi. Rekürrensiz ve progresyonsuz sağkalımın bağımsız parametreleri tekli ve çoklu Cox orantılı tehlikeler regresyon modeli (Cox proportional hazard regression model) ile değerlendirildi. Tek değişkenli Cox orantılı tehlikeler regresyonu modeli ile yapılan analizde, p değeri 0.10'ın altında olan değişkenler, çok değişkenli modele alınarak incelendi.

Genel sağkalım ve kansere özgü sağkalım analizleri çalışmadaki çok sayıda hastanın izlemde takipten çıkması ve erken evre bir kanser olan KİOMK'de ölüm olayının nadir ve geç görülmesi nedeniyle yapılamadı. Tüm analizlerde p değerleri 2 yönlü (2-sided) olup, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. YÜKSEK DERECELİ KİOMK HASTALARINDA PD-L1 EKSPRESYONU

4.1.1. Demografik, Klinik ve Histopatolojik Veriler

Çalışmaya dahil olan toplam 141 hastanın 127'sinde histopatolojik değerlendirme ve PD-L1 analizi yapılabildi. Toplam 71 (%50.4) hasta BCG tedavisine en az 24 ay ve üzeri yanıt verirken, 70 hastada (%49.6) BCG başarısızlığı [(refrakter 17 (%12.0), relaps 53 (%37.6)] izlendi. BCG başarısızlığı gelişmiş hastaların 36'sında (%25.5) ise tümör nüksüne ek olarak tümör progresyonu da görüldü.

Ortanca ve ortalama takip süresi tüm hastalar için 38 ay (min 4, maks 167 ay) ve 49.2 (SS: 33.4 ay) aydı. Çalışmadaki 77 (%54.6) hastanın BCG Connaught (Immunocyst®), 37 (%26.2) hastanın BCG Serum Institute of India (SII®Onco BCG), 17 (%12.1) hastanın BCG Tice (BCG Live Tice®BCG, OncoTice®), 7 (%5.0) hastanın BCG RIVM (BCG Medac®) ve 3 (%2.1) hastanın BCG Danimarka suşu 1331 (BCG Culture SSI) ile tedavi edildiği saptandı. Tüm hastalar içerisinde 2 hastanın BCG tedavisine ek olarak 6 kür intravezikal kemoterapi (40 mg Mitomisin-c), 7 hastanın ise ilk TURM sonrası 24 saat içerisinde tek doz intravezikal kemoterapi (2 kişi 40 mg Mitomisin-c, 3 kişi 50 mg Epirubisin, 2 kişi 40 mg Epirubisin) aldığı saptandı. Çalışmadaki 141 hastaya ait diğer demografik, klinik ve histopatolojik veriler Tablo 4.1.1'de özetlenmiştir.

Çalışmadaki 1 yıllık idame BCG tedavisini tamamlamış hastaların doz miktarı ve şemalarının birbirinden farklılık gösterdiği görüldü. Çalışmadaki tüm hastalar indüksiyon için haftada bir kez toplam 6 hafta (6 siklus) BCG tedavisi aldı. Bir yıllık idame BCG'nin bazı hastalarda 3. 6. ve 12. aylarda 3'er siklus olmak üzere (toplam 15 siklus) düzenli aralıklarla, diğerlerinde ise indüksiyon sonrası (toplam 12-14 siklus) düzensiz aralıklarla 1 yıla tamamlanarak alındığı saptandı.

Tablo 4.1.1. İntravezikal BCG ile tedavi edilen toplam 141 primer, yüksek dereceli KİOMK hastasının demografik, klinik ve histopatolojik özellikleri.

	Sayı (%)
Yaş	
60 altı	44 (31.2)
60-69	60 (42.6)
70-79	32 (22.7)
80 ve üzeri	5 (3.5)
Cinsiyet	
Kadın	11 (7.8)
Erkek	130 (92.2)
Tümör sayısı	
Soliter	67 (47.5)
Multipl	64 (45.4)
Bilinmiyor	10 (7.1)
Tümör büyüklüğü	
3 cm'den az	77 (54.6)
3 cm ve üzeri	49 (34.8)
Bilinmiyor	15 (10.6)
Patolojik evre	
İzole CIS	11 (7.8)
Ta	23 (16.3)
T1	92 (65.2)
T1a	68 (48.2)
T1b	24 (17.0)
Bilinmiyor	15 (10.6)
Lamina propria'ya invaze odak sayısı	
1-2 odak	20 (21.7)
Multifokal	33 (35.9)
Yaygın (≥ 11 odak)	33 (35.9)
Değerlendirilemedi	6 (6.5)
Karsinoma in situ	
Yok	66 (46.8)
Var*	61 (43.3)
Bilinmiyor	14 (9.9)
T1 + CIS tümör	
Yok	85 (60.3)
Var	42 (29.8)
Bilinmiyor	14 (9.9)
Varyant histoloji	
Yok	95 (67.4)
Var	32 (22.7)
Bilinmiyor	14 (9.9)
Varyant histolojinin türü**	
Skvamöz farklılaşma	5 (3.9)
Glandüler farklılaşma	8 (6.3)
Mikropapiller	16 (12.6)
Plasmositoid	6 (4.7)
Diğer***	8 (6.2)
Gelişim Paterni	
Papiller	94 (66.7)
Diğer (Solid/Mikst)	29 (20.6)
Bilinmiyor	18 (12.8)

Tablo 4.1.1 Devam. İntravezikal BCG ile tedavi edilen toplam 141 primer, yüksek dereceli KİOMK hastasının demografik, klinik ve histopatolojik özellikleri.

Nükleer Pleomorfizm	
Yok	53 (37.6)
Fokal	35 (24.8)
Yaygın	37 (26.2)
Bilinmiyor	16 (11.3)
Re-staging TURM	
Yok	70 (40.6)
Var	71 (50.4)
Toplam BCG siklusu	
6	82 (58.1)
7-11	16 (11.3)
12-15	29 (20.6)
> 15	14 (10.0)
İdame BCG süresi	
Yok	83 (58.8)
3-6 ay	27 (19.1)
1 yıl	28 (19.8)
3 yıl	3 (2.1)
Kullanılan BCG suşu	
BCG Connaught	77 (54.6)
BCG Tice	17 (12.1)
BCG Serum Institute of India	37 (26.2)
BCG Danish	3 (2.1)
BCG RIVM	7 (5.0)
BCG Başarısızlığı/ Tümör Rekürensisi	
Yok	71 (50.4)
Var	70 (49.6)
Refrakter	
Yok	124 (88.0)
Var	17 (12.0)
Relapsing	
Yok	88 (62.4)
Var	53 (37.6)
Tümör Progresyonu	
Yok	105 (74.5)
Var	36 (25.5)
İzlemde lenf nodu ± organ metastazı	
Yok	123 (87.2)
Var	18 (12.8)

* 10 hastada izole, 51 hastada primer Ta/T1 tümöre eşlik eden CIS tümör.

** Bazı tümörler birden fazla variant histoloji göstermiştir.

*** 2 rabdoid, 2 yuvalanma gösteren (nested), 1 sarkomatoid, 1 nöroendokrin, 1 lenfoepitelyoma benzeri, 1 inverted papilloma benzeri farklılaşma.

Çalışmada idame BCG sırasında ciddi yan etki nedeniyle 5 hastanın (2 yüksek ateş, 2 hemorajik sistit, 1 akciğer enfeksiyonu) hospitalize edilerek tedavi altına alındığı saptandı. Ancak 1 hasta BCG'ye bağlı akciğer enfeksiyonu nedeniyle kaybedildi.

Tedavi başarısızlığı gelişen 2 hastada mesane kanseri evre progresyonuna ek olarak eş zamanlı üst üriner sistem (renal pelvis) yüksek dereceli ürotelyal karsinomu geliştiği saptandı. Bu hastalar radikal sistektomi + radikal nefroüretrektomi ile tedavi edildi. Çalışmadaki hastaların sadece 3'ünün (%2.1) kanser nedeniyle öldüğü, 84'ünün (%59.6) ise halen hayatta olup takip altında olduğu saptandı. Toplam 54 (38.3) hastanın ise tedavi başarısızlığı sonrası veya 2 yıllık hastaliksız dönemden sonraki farklı zaman dilimlerinde izlemde kaybedildiği görüldü.

4.1.2. PD-L1 İHK Verileri

Çalışmaya katılan tüm hastalar (141 hasta) içerisinde 117 hastanın BCG tedavisi öncesi doku örnekleri PD-L1 İHK analizi ile değerlendirilebildi. 14 hastanın doku örneğinin arşivden hastaya geri iade edilmesi ve 10 hastanın doku örneğinin boyanmasındaki teknik problemler nedeniyle PD-L1 İHK boyanması 24 hastada gerçekleştirilemedi. BCG tedavisi öncesi primer, yüksek dereceli KİOMK hastalarına ait doku örneklerinde İnfH PD-L1 ekspresyonu hastaların yarısında saptanmakla birlikte, yoğun PD-L1 ekspresyonu hastaların sadece %7'sinde gözlemlendi. Buna karşın tümör alanında inflamatuvar hücre infiltrasyonu hastaların %80'inde ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu hastaların yaklaşık 1/3'ünde gözlemlendi. Tümör hücrelerinde ise PD-L1 ekspresyonu, hastaların sadece yaklaşık %8'inde saptanabildi (Tablo 4.1.2)

4.1.3. PD-L1 Ekspresyonu ile Demografik, Klinik ve Histopatolojik Veriler ve Tedavi Sonuçları Arasındaki İlişki

Pozitif PD-L1 ekspresyonu, lamina propria invazyonu gösteren pT1 tümörlerde pTa ve CIS tümörlere göre daha sık saptandı (%54 vs %20-25 p= 0.007). Çok yüksek riskli KİOMK'ta (submukoza invazyonu ile birlikte eşlik eden CIS birlikteliği) PD-L1 pozitifliği %60 oranında saptandı (p=0.034). Derin L. propria invazyonu gösteren pT1b tümörlerde ise PD-L1 pozitifliği %70'lere çıktı (p=0.019). Sadece indüksiyon tedavisine cevap vermeyen, BCG sonrası 3. ayda yüksek dereceli

tümör veya hem 3. hem 6. ayda izole CIS tümör saptanan BCG refrakter hastalar arasında yüksek oranda pozitif PD-L1 ekspresyonu saptandı (%71 vs %29, p=0.05). Genel olarak tüm tedavi başarısızlığı izlenen hastalarda veya ayrı alt gruptaki relaps hasta (6. aydan sonra yüksek dereceli tümör nüksü) ve progresif hastalarda (izlemde kas-invaziv tümör nüksü) PD-L1 ekspresyon düzeyleri, diğer hastalara göre farklı izlenmedi. Tümör içindeki inflamatuvar infiltrasyonun oranı arttıkça, PD-L1 ekspresyon pozitifliği de istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi (p<0.0001). PD-L1 ekspresyon statüsü ile tüm demografik, klinik ve histopatolojik değişkenler arasındaki ilişki Tablo 4.1.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1.2. SP142 IHK testi ile değerlendirilen 117 primer, yüksek dereceli KİOMK hastasının PD-L1 boyanma özellikleri

	Hasta sayısı (%)
PD-L1 boyanma statüsü	
Negatif (İnfH0, <%1)	63 (53.8)
Pozitif (İnfH1/2/3, ≥%1)	54 (46.2)
PD-L1 İnfH boyanması	
İnfH0 (<%1)	63 (53.8)
İnfH1 (≥%1 - <%5)	46 (39.3)
İnfH2 (≥%5 - <%10)	7 (%6.0)
İnfH3 (≥%10)	1 (%0.9)
PD-L1 TH boyanması	
TH0 (<%1)	107 (91.5)
TH1 (≥%1)	10 (8.5)
İnflamatuvar infiltrasyon yüzdesi	
İY0 (<%1)	23 (19.6)
İY1 (≥%1 - <%5)	55 (47.0)
İY2 (≥%5 - <%10)	23 (19.6)
İY3 (≥%10)	16 (13.7)

4.1.4. Rekürrensiz ve Progresyonsuz Sağkalım Verileri

BCG tedavisine yanıt veren 71 hastanın rekürrensiz ortanca ve ortalama izlem süresi sırasıyla 38 (min 24, maks 159) ve 48.3 (SS:28.8) aydı. Tedavi başarısızlığı gelişen 70 hastada tümör nüksüne kadar geçen ortanca ve ortalama süre 17.5 (min 3, maks 105) ve 22.8 (SS:19.4) aydı. Progresyona kadar geçen ortanca ve ortalama süre ise 24.5 (min 4, maks 105 ay) ve 29.2 (SS:22.1) aydı.

Tablo 4.1.3. Toplam 117 yüksek dereceli KİOMK hastasında PD-L1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik parametreler ve tedavi sonuçları arasındaki ilişki

	Toplam sayı	PD-L1 Ekspresyon Statüsü		p değeri
		Negatif	Pozitif	
Hasta sayısı, s (%)	117	63 (53.8)	54 (46.2)	-
Yaş, s (%)				
<65	64 / 117	34 (53.1)	30 (46.9)	1.000 ¹
≥ 65	53 / 117	29 (54.7)	24 (45.3)	
Cinsiyet, s (%)				
Kadın	10 / 117	3 (30.0)	7 (70.0)	0.184 ¹
Erkek	107 / 117	60 (56.1)	47 (49.3)	
Tümör sayısı, s (%)				
Soliter	61 / 115	33 (54.1)	28 (45.9)	0.853 ¹
Multipl	54 / 115	28 (51.9)	26 (48.1)	
Tümör büyüklüğü, s (%)				
3 cm'den az	70 / 111	40 (57.1)	30 (42.9)	0.434 ¹
3 cm ve üzeri	41 / 111	20 (48.8)	21 (51.2)	
Patolojik evre, s (%)				
İzole CIS	9 / 117	7 (77.8)	2 (22.2)	0.007²
Ta	21 / 117	16 (76.2)	5 (23.8)	
T1	87 / 117	40 (46.0)	47 (54.0)	
Lamina propria invazyonu, s (%)				
Tis/Ta	30 / 117	23 (76.7)	7 (23.3)	0.005¹
T1	87 / 117	40 (46.0)	47 (54.0)	
Derin L. propria invazyonu (T1b), s (%)	23 / 117	7 (30.4)	16 (69.6)	0.019¹
Lamina propriada invaziv odak s (%)				
1-2 odak	19 / 81	10 (52.9)	9 (47.4)	0.229 ²
Multipl odak	32 / 81	17 (53.1)	15 (46.9)	
Yaygın (≥ 11 odak)	30 / 81	11 (36.7)	19 (63.3)	
Karsinoma in situ,**s (%)	56 / 117	30 (53.6)	26 (46.4)	1.000 ¹
T1 ve eşlik eden CIS, s (%)	40 / 117	16 (40.0)	24 (60.0)	0.034¹
Varyant histoloji, s (%)	30 / 117	13 (43.3)	17 (56.7)	0.207 ¹
Tümör gelişim paterni, s (%)				
Papiller	89 / 114	47 (52.8)	42 (47.2)	1.000 ¹
Solid/Mikst/Diğer	25 / 114	13 (52.0)	12 (48.0)	
Nükleer pleomorfizm, s (%)				
Yok	48 / 117	28 (58.3)	20 (41.7)	0.593 ²
Fokal	34 / 117	17 (50.0)	17 (50.0)	
Şiddetli	35 / 117	18 (51.4)	17 (48.6)	
İdame BCG, s (%)				
3-6 ay	48 / 117	29 (60.4)	19 (39.6)	0.262 ¹
12 ay	25 / 117	17 (68.0)	8 (32.0)	0.120 ¹
Refraktor, s(%)	14 / 117	4 (28.6)	10 (71.4)	0.050¹
Relapsing, s(%)	36 / 117	21 (58.3)	15 (41.7)	0.552 ¹
Tedavi Başarısızlığı (tümör nüksü), s (%)	50 / 117	25 (50.0)	25 (50.0)	0.574 ¹
Progresyon, s (%)	23 / 117	13 (56.5)	10 (43.5)	0.819 ¹
Lenf nodu ve organ metastazı, s (%)	13 / 117	7 (53.8)	6 (46.2)	1.000 ¹
İY skor, s (%)				
İY0/1	78 / 117	58 (74.4)	20 (25.6)	<0.001²
İY2	23 / 117	4 (17.4)	19 (82.6)	
İY3	16 / 117	1 (6.3)	15 (93.8)	

Ki-kare (χ^2) testleri: ¹Fisher's exact test, ²Linear-by-linear association test

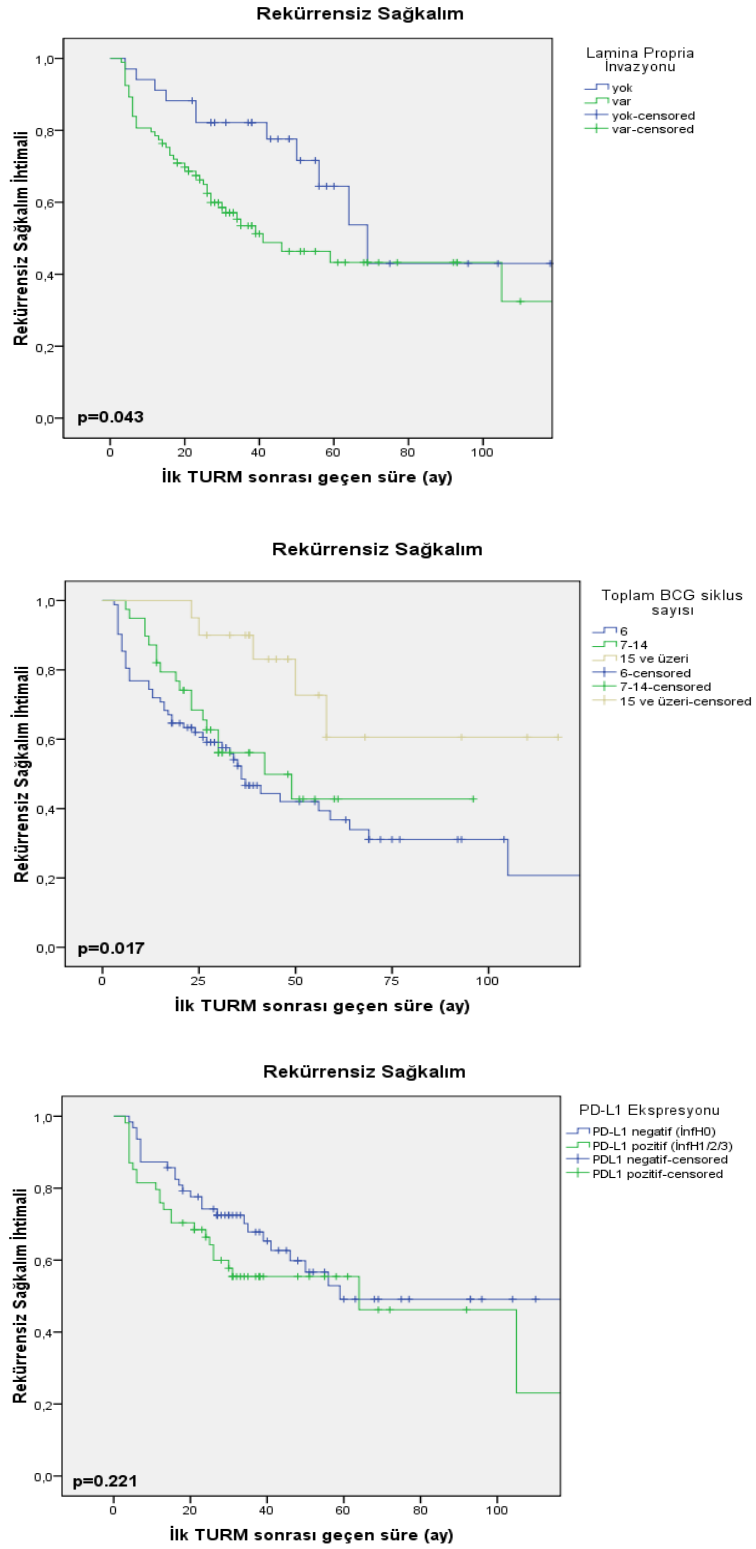
Lamina propria invazyonunun, KİOMK hastalarında rekürrensiz sağkalımı istatistiksel olarak belirgin olarak azalttığı ($p=0.043$) ancak progresyon gelişimi üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı saptandı (log-rank test). Toplam 15 siklus ve üzeri BCG tedavisinin 6 siklus BCG tedavisine göre, KİOMK hastalarında rekürrensiz sağkalımı istatistiksel olarak belirgin olarak azalttığı saptandı ($p=0.017$, log-rank test). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, 15 siklus ve üzeri BCG tedavisinin artmış progresyonsuz sağkalıma doğru bir trend sağladığı da gözlemlendi ($p=0.063$, log-rank test).

İlk TURM'den sonrası, BCG tedavisi öncesi re-staging TURM'nin, progresyonsuz sağkalımı istatistiksel olarak belirgin olarak artırdığı saptandı ($p=0.011$, log-rank test). Benzer bir ilişki rekürrensiz sağkalım için izlenmedi ($p=0.208$, log-rank test). Ürotelyal karsinoma eşlik eden varyant histolojinin, progresyonsuz sağkalımı belirgin olarak azalttığı saptandı ($p=0.029$, Gehan-Breslow test). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, varyant histoloji varlığının azalmış rekürrensiz sağkalıma doğru bir trende neden olduğu da saptandı ($p=0.062$, log-rank test).

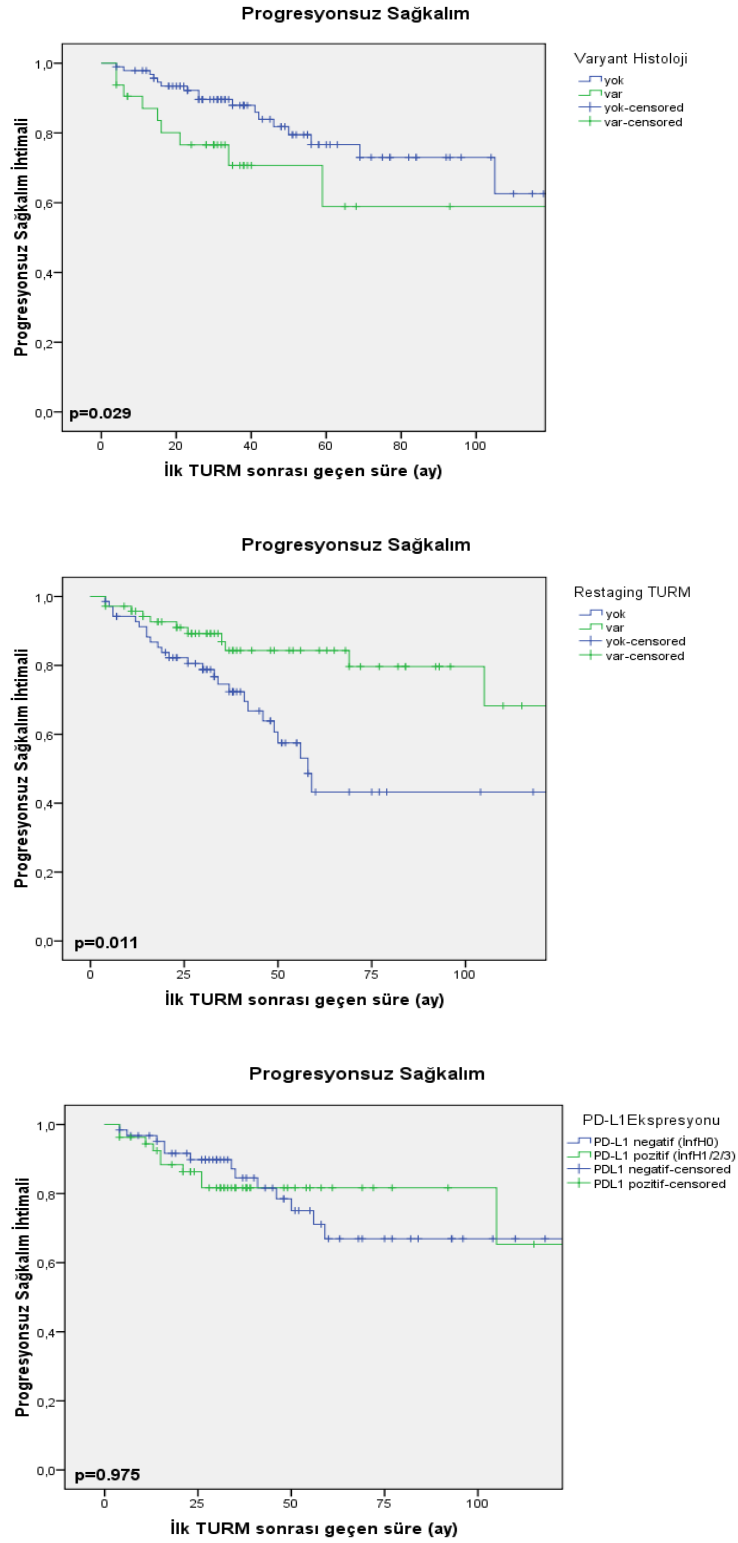
PD-L1 ekspresyonunun varlığı veya yokluğu ile rekürrensiz ve progresyonsuz sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0.221$ ve $p=0.975$, log-rank test). Rekürrensiz ve progresyonsuz sağkalım için bağımsız parametrelere ait Kaplan-Meier eğrileri şekil 4.1.4.a ve 4.1.4.b'de gösterilmiştir.

Rekürrensiz sağkalıma etki edebilecek bağımsız faktörler tek değişkenli Cox regresyon analizi ile değerlendirildi. 6 siklus BCG indüksiyon rejimi sonrası, her bir siklus idame BCG, rekürrenste yaklaşık %10'luk azalma ile ilişkili saptandı (HR:0.91, $p=0.008$) En az 3-6 ay idame BCG tedavisi alan (toplam 9-12 siklus BCG tedavisi) hastaların, sadece 6 siklus indüksiyon BCG alan hastalara göre yaklaşık %30 daha az rekürrens geliştirdiği saptandı (HR:0.59, $p=0.044$). 1 yıllık idame BCG'nin de benzer bir trende yol açtığı izlendi (HR:0.56, $p=0.067$). Tümörü infiltre eden PD-L1+ İnfH'nin oranındaki her bir %1'lik artış ise rekürrens gelişimi ihtimalini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdı (HR:1.12, $p=0.045$).

Şekil 4.1.4.a. Lamina propria invazyonu, toplam BCG siklus sayısı ve PD-L1 ekspresyonuna göre rekürrenssiz sağkalım eğrileri



Şekil 4.1.4.b. Eşlik eden varyant histoloji, re-staging TURM ve PD-L1 ekspresyonuna göre progresyonsuz sağkalım eğrileri



İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, pT1 tümör ve CIS birlikteliği olan hastalarda, tümör rekürrensi için artmış eğilim izlendi. (HR:1.65, p=0.068). Benzer artmış rekürrens eğilimi, ürotelyal karsinoma ve varyant histoloji birlikteliğinde ve kadın cinsiyette de saptandı (sırasıyla HR:1.73 p=0.062 ve HR:2.04, p=0.059)

Progresyonsuz sağkalıma etki eden bağımsız faktörlerin saptanması için yapılan tek değişkenli Cox regresyon analizinde, 6 siklus BCG indüksiyon rejimi sonrası her bir siklus idame BCG, progresyon rekürrenssiz sağkalım üzerinde de benzer bir etki gösterdi. Buna göre 6 siklus BCG indüksiyon rejimi sonrası, her bir siklus idame BCG, progresyonsuz sağkalım ihtimali için bir artış trendi sağladı (HR:0.92, p=0.067). Tümördeki inflamatuvar infiltrasyonun yüzdesindeki her bir %1'lik artış ise progresyon ihtimalini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmakla beraber, etki büyüklüğü oldukça küçük izlendi (HR:1.05, p=0.049).

Re-staging TURM (ilk TURM'den sonraki 1.5 ay içindeki ikinci endoskopik rezeksiyon) progresyon için en yüksek koruyucu etkiye sahip değişken olarak bulundu. Buna göre re-staging TURM yapılan hastaların progresyon ihtimali, yapılmayanlara göre yaklaşık %65 daha az saptandı (HR:0.36 p=0.006). Progresyon ihtimalini en çok artıran faktör ise ürotelyal karsinom ile varyant histoloji birlikteliği olarak saptandı. Buna göre, sadece ürotelyal karsinom izlenen hastalara kıyasla, tek varyant histoloji birliğinde progresyon ihtimalinde yaklaşık 2 katlık bir artış trendi izlendi (HR:2.07, p=0.078). Ürotelyal karsinoma ek olarak iki ve daha fazla varyant histoloji birliğinde ise progresyon ihtimali yaklaşık 3-3.5 kat artmış saptandı (HR:3.28, p=0.031). PD-L1 ekspresyon statüsü, yoğun PD-L1 ekspresyonu ve yüksek İHK skoru ile progresyon ve rekürrens gelişimi ihtimali arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Primer, yüksek dereceli KİOMK hastalarında ilk yüksek dereceli tümör rekürrensi ve ilk tümör progresyonunu öngören bağımsız faktörlerin tek değişkenli analizi ve tehlike oranları (HR) tablo 4.1.4.a'da özetlenmiştir.

Tablo 4.1.4.a. Toplam 141 yüksek dereceli KİOMK hastalarında ilk rekürrensi ve progresyonu öngören faktörlerin tek değişkenli Cox regresyon analizi*

	Rekürrens			Progresyon		
	HR	95% CI	p değeri	HR	95% CI	p değeri
Yaş: <65, ≥65	1.38	0.86-2.22	0.175	1.52	0.78-2.94	0.217
Cinsiyet: K,E	0.49	0.23-1.03	0.059	1.01	0.36-2.88	0.977
Tümör Sayısı: tek, multipl	1.42	0.86-2.37	0.171	1.59	0.74-3.39	0.231
Tümör büyüklüğü: <3, ≥3 cm	1.39	0.84-2.33	0.197	0.71	0.33-1.53	0.381
pT-evre	Genel		0.148	Genel		0.520
pTis	-	-	-	-	-	-
pTa	0.87	0.25-2.98	0.827	0.46	0.09-2.29	0.346
pT1	1.76	0.63-4.94	0.276	0.92	0.27-3.11	0.891
L. propria invazyonu	Genel		0.271	Genel		0.678
Tek	-	-	-	-	-	-
Multipl	1.46	0.59-3.59	0.409	1.69	0.43-6.58	0.444
Yaygın	2.00	0.84-4.79	0.117	1.78	0.47-6.78	0.395
L. propria invazyonu: derin. yüzeysel	1.59	0.85-2.98	0.143	1.96	0.82-4.71	0.129
Eşlik eden CIS: yok, var	1.25	0.74-2.13	0.399	1.39	0.64-3.02	0.398
T1+CIS birlikteği: yok, var	1.65	0.96-2.84	0.068	1.37	0.61-3.08	0.445
Re-staging TUR: yok, var	0.74	0.46-1.19	0.225	0.36	0.18-0.76	0.006
Varyant histoloji: yok, var	1.73	0.97-3.09	0.062	2.07	0.92-4.69	0.078
≥2 varyant histoloji: yok, var	2.08	0.88-4.90	0.091	3.28	1.11-9.64	0.031
Şiddetli pleomorfizm:	Genel		0.390	Genel		0.285
Yok	-	-	-	-	-	-
Fokal	1.38	0.71-2.68	0.331	1.14	0.41-3.22	0.798
Yaygın	1.52	0.81-2.83	0.189	1.97	0.81-4.77	0.133
Kullanılan BCG suşu:	Genel		0.750	Genel		0.414
BCG Connaught	-	-	-	-	-	-
BCG Tice	0.91	0.42-1.95	0.808	1.84	0.72-4.68	0.199
SII Onco BCG®	0.95	0.50-1.79	0.870	1.01	0.36-2.81	0.979
BCG Danish/ RIVM	0.52	0.16-1.68	0.274	0.38	0.05-2.87	0.353
İdame 1 yıl BCG: yok, var	0.56	0.96-3.22	0.062	0.62	0.27-1.42	0.257
İdame BCG'de 1 siklus artış	0.91	0.86-0.98	0.008	0.92	0.84-1.01	0.067
BCG 3-6 ay idame yok var	0.59	0.36-0.98	0.044	0.70	0.35-1.41	0.321
PD-L1 ekspresyon statüsü: negative, pozitif	1.42	0.81-2.47	0.219	0.99	0.43-2.25	0.973
PD-L1 + İnfH'de %1 artış	1.12	1.01-1.25	0.045	1.09	0.91-1.32	0.348
PD-L1 İnfH boyanması	Genel		0.198	Genel		0.914
İnfH0 (<%1)	-	-	-	-	-	-
İnfH1 (≥%1 - <%5)	1.58	0.89-2.79	0.115	1.04	0.44-2.45	0.924
İnfH2/3 (≥%5)	0.65	0.15-2.78	0.569	0.67	0.08-5.10	0.696
PD-L1 TH boyanması: yok, var	0.54	0.16-1.74	0.303	1.42	0.42-4.81	0.577
İnflamatuvar infiltrasyon	Genel		0.750	Genel		0.567
İY0 (<%1)	-	-	-	-	-	-
İY1 (≥%1 - <%5)	1.25	0.58-2.71	0.560	1.15	0.40-3.28	0.792
İY2 (≥%5 - <%10)	1.63	0.67-3.96	0.275	0.52	0.10-2.68	0.434
İY3 (≥%10)	1.26	0.44-3.55	0.662	1.75	0.46-6.64	0.410
İY'de %1 artış	1.03	0.99-1.08	0.073	1.05	1.00-1.12	0.049

* İlk değişkenler referans olarak alınmıştır.

Çok değişkenli Cox regresyon analizinde ise PD-L1+ İnfH'de %1 artışın, rekürrens ihtimali için artmış risk etkisi kayboldu. Benzer şekilde İY'de %1 artışın progresyon ihtimali için artmış risk etkisi de kayboldu. Tek değişkenli analizde etkisi oldukça belirgin olmakla birlikte, çok değişkenli analizde re-staging TURM'nin progresyon için koruyucu etkisi gözlenmedi.

Tek varyant histoloji varlığında anlamlı bir risk saptanamamakla birlikte, mesane kanserinde gözlenen varyant histolojinin sayısı arttığında (birden fazla varyant histoloji), progresyon ihtimali, çok değişkenli analizde, saf ürotelyal karsinom olgularına göre 7 kat arttı (HR:7.17, p=0.004).

İdame BCG'nin rekürrensiz ve progresyonsuz sağkalım üzerindeki koruyucu etkisi çok değişkenli Cox regresyon analizinde de değişmedi. Buna göre, 6 siklus BCG indüksiyon rejimi sonrası bir siklus daha fazla BCG, rekürrens ve progresyon ihtimalini %10-20 oranında azalttı (sırasıyla HR:0.89, p=0.009 ve HR:0.83, p=0.040). Primer, yüksek dereceli KİOMK hastalarında ilk yüksek dereceli tümör rekürrensi ve ilk tümör progresyonunu öngören bağımsız faktörlerin çok değişkenli analizi ve tehlike oranları tablo 4.1.4.b'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1.4.b. Toplam 141 yüksek dereceli KİOMK hastalarında ilk rekürrensi ve progresyonu öngören faktörlerin çok değişkenli Cox regresyon analizi*

	Rekürrens			Progresyon		
	HR	95% CI	p değeri	HR	95% CI	p değeri
Cinsiyet: K,E	1.39	0.58-3.34	0.457	-	-	-
T1 + CIS birlikteliği: yok, var	1.51	0.81-2.85	0.198	-	-	-
Re-staging TURM: yok, var	-	-	-	0.49	0.21-1.16	0.106
Varyant histoloji: yok, var	1.28	0.67-2.46	0.446	-	-	-
≥2 varyant histoloji: yok, var	-	-	-	7.17	1.84-27.86	0.004
İdame BCG'de 1 siklus artış	0.89	0.81-0.97	0.009	0.83	0.70-0.99	0.040
PD-L1 + İnfH'de %1 artış	1.06	0.92-1.23	0.387	-	-	-
İY'de %1 artış	1.01	0.95-1.06	0.828	1.05	0.99-1.10	0.112

* İlk değişkenler referans olarak alınmıştır

4.2. BCG TEDAVİSİ ÖNCESİ VE SONRASI PD-L1 EKSPRESYON DÜZEYİ

Tedavi başarısızlığı gelişen 70 hastanın 49'unda BCG tedavisi sonrası nüks tümörlerinde PD-L1 İHK analizi yapıldı. Her hastanın BCG tedavisi öncesi ve sonrasındaki PD-L1 verileri, 49 çift doku örneği (toplam 98) karşılaştırılarak incelendi.

BCG tedavisi öncesi PD-L1 negatif ve pozitif olan hastaların sayısı sırasıyla 24 ve 25 (%49.0 ve %51.0) olarak saptandı. BCG tedavisi sonrası PD-L1 negatif ve pozitif olan hastaların sayısı ise sırasıyla 25 ve 24 (%51.0 ve %49.0) olarak saptandı. Tüm hastalar içerisinde 9 (%18.4) hastada tedavi öncesi negatif ancak sonrasında pozitif PD-L1 ekspresyonu saptandı. 10 (%20.4) hastada ise tedavi öncesi pozitif ancak sonrasında negatif PD-L1 ekspresyonu saptandı. Toplam 30 (%61.2) hastanın ise PD-L1 ekspresyon durumu değişiklik göstermedi. Dolayısıyla BCG tedavisi başarısızlığı gelişen hastalarda, PD-L1 ekspresyon statüsü BCG tedavisinden sonra anlamlı bir değişiklik göstermedi ($p=1.00$, McNemar testi). Pre-BCG ve post-BCG İnfH PD-L1 ile boyanma yüzdeleri, skorum sisteminden bağımsız olarak yüzde oranlar olarak kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı ($p=0.819$, Wilcoxon Signed Ranks test)

Benzer şekilde, tümörde izlenen inflamatuvar hücrelerin oranı da BCG tedavisinden sonra belirgin değişiklik göstermedi ($p=0.405$, McNemar testi). Hem BCG öncesi hem BCG sonrası 18 (%36.7) hastada tümör alanında hafif yoğunlukta inflamatuvar hücre infiltrasyonu (İY1/2, $<5\%$) izlendi. Sekiz (%16.3) hastada ise her iki durumda da tümör alanında yoğun inflamatuvar infiltrasyon (İY2/3, $\geq 5\%$) saptandı. Pre-BCG ve post-BCG PD-L1 ekspresyon düzeylerinin, diğer klinik ve hastalık durumu kriterleri ile ilişkisi tablo 4.2.'de özetlenmiştir.

Progresyonsuz rekürrens gösteren 27 hastanın 14'ünde (%51.9) BCG sonrası PD-L1 + İnfH yüzdesinin azaldığı saptandı ($p=0.029$, Wilcoxon signed ranks test). Buna karşın sadece 3 (%11.1) hastada artış gözlemlendi.

Tablo 4.2. Tedavi başarısızlığı gelişen toplam 49 hastanın BCG tedavisi öncesi ve sonrası PD-L1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta sayısı	PreBCG PD-L1+ İnfH %, ortalama	PostBCG PD-L1+ İnfH %, ortalama	p değeri*
Re-staging TURM var	25	2.00	1.88	0.188
Sadece 6 siklus BCG var	35	1.74	1.77	0.386
1 yıl idame BCG var	7	0.75	1.00	0.589
İlk 6 ayda başarısız	14	3.14	0.57	0.012
6 aydan sonra başarısız	35	0.80	1.14	0.224
Progresyon var	22	1.45	1.50	0.098
Sadece rekürrens var	27	1.48	0.67	0.029
Lenf / organ metastazı var	12	1.41	1.25	1.000
Tedavi başarısız	49	1.47	1.55	0.819

*Wilcoxon signed ranks testi. PD-L1+ İnfH boyanma yüzdesi (%), ortalama (mean) olarak verilmiştir.

Progresyon gelişen 22 hastanın 11'inde (%50.0) tümördeki PD-L1 + İnfH' in yüzdesi, BCG başarısızlığı sonrası artış gösterirken, sadece 3'ünde (%13.6) düşüş gözlemlendi, ancak bu artış trendi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.098, Wilcoxon signed ranks test)

Rekürrensin ortaya çıkış zamanına göre hastalar incelendiğinde, ilk 6 içerisinde tedavi başarısızlığı görülen refrakter 14 hastanın 9'unda (%64.2) BCG sonrası PD-L1 + İnfH' in yüzdesi azalırken sadece 2'sinde artış saptandı. BCG refrakter hastalarda PD-L1+ İnfH'nin tümör içindeki yüzdesi tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdi (p=0.012, Wilcoxon signed ranks test). Benzer bir ilişki, tedavi başarısızlığı 6 aydan sonra ortaya çıkan relaps hastalarda arasında saptanmadı (p=0.224, Wilcoxon signed ranks test).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmadaki tüm hastalar en az 6 siklus indüksiyon BCG tedavisini tamamlamış, primer ve yüksek dereceli KİOMK hastalarıdır. Çalışma güncel tedavi klavuzlarına göre yüksek riskli KİOMK olarak kabul edilen yüksek dereceli tüm evre tümörleri (pTa, pT1 ve CIS) içermektedir. Çalışmadaki KİOMK hastalarına ait PD-L1 ekspresyonu, skorlama sistemi ürotelyal karsinomlar için valide edilmiş, FDA tarafından onay almış ve ticari tanı testi olarak kullanıma girmiş bir PD-L1 İHK testi (SP-142, Ventana, ABD) ile değerlendirilmiştir. Ayrıca PD-L1 ekspresyon düzeyleri, her bir hasta için, hem BCG tedavisi öncesi hem de tedavi sonrası karşılaştırılarak incelenmiştir. Bilgimiz dahilinde, literatürde KİOMK hastaları üzerinde benzer bir çalışma henüz bildirilmemiştir.

Çalışmamızda artmış PD-L1 ekspresyonu submukoza invazyonu ile ilişkili bulunmuştur. Derin submukoza invazyonu ve submukoza invazyonuna eşlik eden CIS olgularında, PD-L1 ekspresyonu sıklığı daha da artmış saptanmıştır. Ancak submukozada yaygın tümör odağı saptanan hastalarda, fokal odak saptanan hastalara göre PD-L1 ekspresyon düzeyi anlamlı bir yükseklik göstermemiştir. Dolayısıyla PD-L1 ekspresyonu için submukoza invazyon derinliğinin, submukozadaki odak sayısından daha belirleyici olduğu saptanmıştır. PD-L1 ekspresyon artışı, bağışıklık sistemi yanıtı ve T hücre fonksiyonlarını inhibe ederek ürotelyumdan submukozaya invazyon gelişiminde rol oynuyor olabilir.

Çalışmaya sadece yüksek risk grubu kabul edilen hastalar dahil edilerek, PD-L1 ekspresyonu ile BCG tedavisinin ilişkisi ve tedavi başarısızlığı sonrası, eğer değişiyorsa, artan PD-L1 reseptörlerinin bir biyolojik hedef olarak gösterilebilmesi amaçlanmıştır. Nitekim yüksek riskli hasta grubunda tedavi başarısızlığı sonrası güvenilir tek ikincil tedavi seçeneği RS'dir. Ayrıca RS serilerinde, intravezikal tedaviye rağmen evre progresyonu göstermiş hastaların kansere özgü sağkalım oranları, ilk tanı anında KİMK olan hastalara göre daha düşük bildirilmiştir.⁶² Ancak çalışmamızda düşük dereceli ve rekürren tümörlerin çalışmadan dışlanması çalışma hastalarının tüm KİOMK popülasyonuna genellenememesi dezavantajını doğurmuştur. Bu nedenle PD-L1 ekspresyonu ile tümör derecesi ve tümör statüsü

(primer/ rekürren) arasındaki ilişki değerlendirilememiştir. Ancak özellikle yüksek tümör derecesi, çalışmadaki KİOMK tümörlerinin yaklaşık yarısının PD-L1 ekspresyonu gösteriyor olmasının nedeni olabilir. Düşük dereceli tümörlerde bu oran daha düşük saptanabilir.

Çalışmamızda PD-L1 ekspresyon pozitifliği ve yüksek PD-L1 skoru ile progresyon ve rekürrens gelişmesi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak kategorik olarak değil, rakamsal olarak PD-L1+ İFH durumu tek değişkenli analiz ile incelendiğinde rekürrens ihtimalinin PD-L1+ İH artışı ilişkili olduğu görülmüştür. Buna göre kanser dokusundaki her %1'lik PD-L1+ İH artışı, rekürrens ihtimalini, düşük bir oranda ancak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmaktadır. Bu etkinin daha büyük örneklemler ve prospektif çalışmalarda incelenmesi gerekmektedir.

Literatürde KİOMK'larda PD-L1 ekspresyonu ile prognoz ve BCG tedavisine yanıt arasındaki ilişkiyi değerlendiren yeterli veri yoktur. Çalışmamızın devam ettiği sırada Wankowicz ve ark., yüksek dereceli T1 mesane kanserlerindeki PD-L1 ekspresyonunu, laboratuvarlarında özel geliştirdikleri farklı bir monoklonal anti-PD-L1 antikor (405.9A11) ile değerlendirmiştir.⁶³ KİOMK hastaları arasında, TH ve İH PD-L1 pozitiflik oranını sırasıyla %4 ve %34 oranında saptadıklarını bildirmişlerdir. Ancak TH veya İH PD-L1 pozitifliği ile CIS varlığı, tümör rekürrensi ve progresyon arasında belirgin bir ilişki saptamamışlardır. Bu çalışmada bizden farklı olarak sadece yüksek dereceli T1 evre mesane kanseri hastaları değerlendirilmiş, Ta ve CIS tümörler çalışmaya dahil edilmemiş ve farklı bir İHK skorlama sistemi kullanılmıştır. Çalışmalar arasında farklı monoklonal antikor ve immühistokimya skorlama sistemlerinin kullanılması her iki çalışma arasında karşılaştırma yapma olanağını kısıtlamaktadır. Ancak hem bizim çalışmamızda hem de Wankowicz ve ark. çalışmasında PD-L1 ekspresyonu yapan tümör hücreleri oldukça düşük (sırasıyla %8.5 ve %4) saptanmıştır. Benzer şekilde yoğun PD-L1 ekspresyonu gösteren hastaların sayısı da oldukça düşük olup (sırasıyla %6.9 ve %9), tüm KİOMK hastaları arasında PD-L1 pozitifliği sırasıyla %46 ve %34 olarak saptanmıştır. Oysa PD-L1 pozitifliği ve yoğun PD-L1 ekspresyonu, metastatik

mesane kanseri hastalarının %67 ve %32'sinde bildirilmiştir. Bu fark tümör evresi göz önüne alındığında, mantıklı görünmektedir.

PD-L1 ekspresyonu farklı kanser türlerinde farklı prognostik özellikler gösterebilmektedir. Örneğin küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde artmış PD-L1 düzeyleri, yüksek histolojik evre, büyük tümör hacmi, lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.⁶⁴ Ancak metastatik mesane kanserlerinde artmış PD-L1 ekspresyonunun iyi prognostik bir faktör olduğu bildirilmiş ve Atezolizumab'a yanıt oranları artmış PD-L1 ekspresyonu olan hastalarda daha yüksek saptanmıştır.⁵⁹ Bunun yanı sıra literatürde, PD-L1 ekspresyonunun ürotelyal kanserlerdeki prognostik değeri ile ilişkili çelişkili veriler de mevcuttur. Mesane ve üst üriner sistem ürotelyal kanserleri üzerinde yapılan bir çalışmada, artmış PD-L1 ekspresyonunun, ileri tümör evresi, yüksek tümör derecesi, rekürrens ve düşük sağkalımla ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁶⁵ Bizim çalışmamızda da artmış PD-L1 ekspresyonunun yüksek dereceli KİOMK'de daha kötü histolojik özellikler ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak, BCG başarısızlığı gelişen hastalar; refrakter, relaps ve progresif olmak üzere farklı hasta alt grupları altında değerlendirilmiştir. Böylece PD-L1 ekspresyonun, tümör nüksünün zamanı ve türü ile olan ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır. BCG tedavisi öncesi ve sonrası farklı zaman diliminde, PD-L1 ekspresyonları incelendiğinde, genel olarak BCG başarısızlığı gelişen hastalarda ve progresyon izlenen alt hasta grubunda belirgin PD-L1 ekspresyon artışı veya değişimi saptanmamıştır. Aksine sadece yüzeysel nüks gelişen veya refrakter KİOMK hastalarında, PD-L1 ekspresyonunun tedavi sonrası anlamlı bir şekilde azalması, bu hastalarda, PD-L1 ekspresyonunun varyasyon gösteren dinamik bir olay olduğunu göstermektedir. BCG tedavisi öncesi PD-L1 ekspresyonundan ziyade, BCG tedavisi sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyi, veya PD-L1 ekspresyonunda izlenen upregülasyon/downregülasyonlar prognostik değer taşıyor olabilir. Çalışmamızda, PD-L1 ekspresyon düzeylerindeki değişimin olası prognostik rolünü anlamak amacıyla, tümör başarısızlığı geliştikten sonra izlemde lenf nodu veya organ metastazı ortaya çıkan hastaların BCG öncesi ve sonrası dokuları kıyaslandı, ancak anlamlı bir PD-L1 ekspresyon değişimi saptanmadı.

Ancak post-BCG PD-L1 ekspresyonu veya tedavi sonrası BCG upregülasyonu, iKNİ'ler ile ikincil tedavinin başarısını öngörmeye ilk PD-L1 doku analizine göre daha belirleyici rol oynayabilir. Çünkü tümöre ait gerçek immünojenik özellikleri, veya tümörün bağışıklık sistemi baskısı karşısındaki direnç gücünü, BCG instilasyonundan sonraki PD-L1 ekspresyonundaki değişimler daha iyi yansıtır olabilir.

Refrakter KİOMK'de BCG öncesi anlamlı yüksek PD-L1 düzeyi ve BCG sonrası anlamlı ekspresyon kaybı, refrakter tümörlerin biyolojik özelliklerine bağlanabilir. Refrakter hastalarda artmış PD-L1 ekspresyonu, efektör T hücre fonksiyon kaybına ve BCG'nin etkilerine direnç gelişmesini neden olarak 3-6 ay gibi kısa bir sürede tümör nüksü gelişmesinde rol oynuyor olabilir. Ancak refrakter hastalarda post-BCG doku örnekleri indüksiyon tedavisinden 1.5 ile 4.5 ay sonra elde edilmektedir. Oysa çalışmamızdaki relaps hastalara ait post-BCG doku örnekleri BCG indüksiyon tedavisinden en erken 6 ay sonra elde edilmiş ve bu süre 100 aya kadar çıkabilmiştir. Ayrıca idame dozları hastadan hastaya farklılık gösterdiğinden, son BCG alımı ile post-BCG doku PD-L1 analizi arasındaki zaman relaps hastalarda oldukça değişkendir. Dolayısıyla, refrakter KİOMK'ta PD-L1 düzeyindeki anlamlı azalma, tümör biyolojik özelliklerinden ziyade, etkileri halen güçlü hissedilen BCG'ye bağlı da olabilir. Ayrıca PD-L1 ekspresyonunda saptanan bu azalma, relaps tümörlere kıyasla yakın zamanda geçirilmiş TURM'ye bağlı etkilerden de kaynaklanabilir.

Literatürde yüksek riskli KİOMK hastalarında progresyon için gereken ortalama süre ortalama 24 ay olarak bildirilmiştir.^{21,57,58} KİOMK'de 6. aya kadar progresyon ihtimali %5'in altındadır.⁶⁶ Bu nedenle BCG tedavisine yanıt veren hasta grubundan, rekürrensiz izlem süresi 24 aydan az olan hastalar dışlanmıştır. Böylece kısa izlem süresine bağlı doğabilecek yanlış negatiflik riskinin azaltılması amaçlanmıştır. Ayrıca her ne kadar retrospektif bir hasta serisi olsa da, çalışmamızda progresyon için gereken ortalama süre 36 hastada 24.5 ay olarak saptanmış ve literatürle uyumlu bulunmuştur.

Literatürde farklı tanımlamaları yapılmış olmakla birlikte, en basit hali ile BCG başarısızlığı, intravezikal BCG uygulaması sonrası 3. ayda tümör rekürrensi veya herhangi bir zamanda gelişen tümör progresyonu olarak tanımlanmıştır.⁶⁷ Bu çalışmada BCG başarısızlığı, EAU 2016 KİOMK tedavi rehberine uygun olarak düzenlenmiştir.¹ Bu nedenle çalışmada TURM'den sonra 3. ayda Ta/T1 HG tümör veya hem 3. hem de 6. ayda izole CIS tümörü saptanan hastaların hepsi BCG refrakter kabul edilmiş, BCG refrakter - BCG rezistan ayrımına gidilmemiştir. Çünkü 3. ayda izlenen tedaviye klinik cevabın tümör progresyonunu öngören en önemli prognostik faktör olduğu bildirilmiş ve 3. ayda yüksek dereceli tümör persistansı/rekürrensi (pTis/Ta/T1) görülen hastalarda erken sistektomi önerilmiştir.⁶⁸ Ancak bazı yazarlar BCG-refrakter hastaları, başlangıç BCG tedavisine rağmen 6. ayda hastalısızlık durumuna erişememiş hastalar olarak kabul etmektedir.⁶⁹ Bu yazarlar, indüksiyon BCG sonrası 3. ayda hastalık rekürrensi veya persistansı gösteren ancak 6. ayda hastalık izlenmeyen (veya düşük dereceli tümör izlenen) hastaları BCG-rezistan olarak ayrı tanımlamayı tercih etmektedirler.

Çalışmamızdaki hastaların büyük bir kısmı idame tedavi almadıklarından, BCG bağımlı hospitalizasyon ve invaziv girişim gerektiren ciddi yan etkiler çalışmamızdaki hastalarda çok nadir ortaya çıkmıştır. Ayrıca çalışmaya BCG intoleransı olan hastalar dahil edilmemiştir. Ancak çalışmadan dışlanan 3 BCG intoleran hastasına ait tedavi öncesi doku örnekleri ayrı bir İHK analizi ile incelendiğinde, her bir hasta için BCG tedavisi öncesi ve sonrası İnfH PD-L1 statüsü var/var, yok/var ve var/yok olarak saptandı ve belirgin bir trend gözlenmedi. Çalışmamızda idame BCG tedavisi sırasında ciddi yan etki nedeniyle hospitalize edilen 5 hastanın doku örnekleri de anektodal olarak incelendi. Yüksek ateş bulgusu olan (2 izole BCG ateşi, 1 pnömoni ve ateş) hastaların tümünde pre-BCG İnfH PD-L1 ekspresyonu pozitif ve yüksek olarak (İnfH1/İnfH1, İnfH1/İnfH0, İnfH3/İnfH0) saptandı. Ancak benzer bir trend hemorajik sistit gelişen hastalarda izlenmedi. Yüksek PD-L1 ekspresyonu, BCG'ye bağlı gelişen bazı yan etkilerde, bağışıklık sisteminin düzenleyici bir komponenti olarak rol oynuyor olabilir.

Çalışmadaki tüm hastalar TURM ile tanı aldıktan sonra en az 6 siklus BCG almış ve indüksiyon rejimlerini tamamlamış hastalardır. Ancak hastaların sadece yaklaşık %20'si 1 yıllık idame BCG tedavisini tamamlamıştır. Ayrıca hastaların idame BCG rejimleri, dozları ve BCG suşları birbirinden farklılık göstermiştir. Bu durum BCG'ye bağlı yan etkiler, BCG kısıtlılığı, BCG tedavisinin uzun sürmesi, düşük hasta kompliansı ve doktora özgü tedavi tercihi gibi nedenlere bağlanabilir.

Ancak BCG tedavisi tüm dünyada gereğinden az faydalanılan bir tedavi türü olup, BCG kompliansı ve kısıtlılığı tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Nitekim Amerika Birleşik Devletlerindeki bir çalışmada, doktorların klinik pratikte intravezikal BCG uygulamalarının belirgin farklılıklar gösterdiği, tedavi rehberlerine uygun optimal BCG tedavi uygulamasının oldukça düşük olduğu ve BCG indüksiyon rejimine dahi kompliansın sadece %20 civarında olduğu bildirilmiştir.⁷⁰ Bu rapora göre KİOMK hastalarının yaklaşık sadece 3'te 1'i en az bir sistoskopi, bir sitoloji ve tek doz BCG instilasyonu ile tedavi edilmişlerdir. Ayrıca literatürde BCG tedavisi alan hastaların yaklaşık %30'unun, ciddi yan etkilere bağlı olarak BCG tedavisini kesmek zorunda kaldığı bildirilmiştir.⁷¹ İdame dozun etkinliğini değerlendiren prospektif randomize bir çalışmada ise, idame BCG dozunu hastaların sadece %16'sı 3 yıla tamamlayabilmiştir.⁷²

Literatürdeki çalışmalarda PD-L1 İHK değerlendirmesi için farklı monoklonal antikörlerin ve sınır değerlerin (cut-off değerler) kullanılması, çalışmaların tekrarlanabilirliği ve sonuçların kıyaslanabilirliği açısından zorluklara neden olmaktadır. Ayrıca tercihen sıklıkla formalinle fikse-parafine gömülü dokular kullanılmakla beraber, taze donmuş dokular da tercih edilebilmekte, merkezlerde uygulanan tespit ve doku işlemleri birbirinden farklılıklar da gösterebilmektedir.

Akciğer kanserleri için mevcut PD-L1 İHK testlerinin performansını kıyaslayan Faz I klinik bir çalışmada (Blueprint Comparison Project), çalışmamızda kullanılan SP-142 testinin tümör hücre zarlarını boyama yüzdesinin diğer testlere göre daha düşük olduğu saptanmıştır.⁶¹ İnflamatuar hücre boyanma yüzdesi ise herbir test türüne göre belirgin farklılıklar göstermiştir. Ancak bu çalışma mevcut PD-L1

immünohistokimya testlerinin klinik prediktif değeri, sensitivitesi ve spesifitesini ölçmeye yönelik olmayıp, sadece antikorların boyama özelliklerini değerlendirilmeyi amaçlamıştır. Çalışmada, kullanılacak herbir test için, kendi üretici farmösitik şirketinin daha önce valide ettiği skorklama sisteminin kullanılması gerektiği vurgulanmıştır. Güvenilir ve prognostik değer taşıyan verilerin en iyi bu şekilde elde edilebileceği öne sürülmüştür.

Nitekim SP142 klonunun (Ventana, Arizona, ABD) kullanıldığı faz Ib ve II çalışmalarında Herbst ve Rosenberg, TH'lerin boyanma yüzdesinin çok düşük olduğunu ve PD-L1 statüsü ile tedavi sonuçları arasındaki ilişkiyi saptamada sadece İH'nin boyanma yüzdesinin prognostik değer taşıdığını bildirmişlerdir.^{59,60} Rosenberg ve ark., faz II çalışmalarında 'Blueprint Project' çalışması ve Herbst'ten farklı olarak sadece mesane kanseri hastaları üzerinde SP-142 testi skorlamasını valide etmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, hastanın genel PD-L1 statüsü (pozitif veya negatif), Rosenberg ve ark. tariflediği gibi sadece İH'nin boyanma yüzdesine göre belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda PD-L1+ TH saptanan toplam 18 adet doku örneğinin 16'sında İH'ler de PD-L1+ saptanmıştır. Dolayısıyla yüzeysel mesane kanserlerinde de, metastatik mesane kanserlerinde olduğu gibi, PD-L1 statüsünü değerlendirirken, TH'lerin değerlendirmeye alınmaması daha pratik görünmektedir.

Çalışmamızda PD-L1 ekspresyon analizi, formalinle fikse-parafine gömülü dokulardan hem tam blok kesiler hem de DMA'lar oluşturularak yapılmıştır. Belirgin tümör heterojenitesi, eşlik eden varyant histoloji ve CIS varlığı görülen dokulardan tam blok kesiler alınmıştır. Ancak çalışmadaki DMA'lar ile yapılan PD-L1 analizlerinin güvenilirliği (reliability), tümör heterojenitesi nedeniyle tam blok kesilere göre yine de daha düşük olabilir.

Çalışmamızın retrospektif bir dizaynı olması önemli bir kısıtlayıcı faktördür. Çalışmamızdaki hastalar ülkemizde ticari jenerik ilaç uygunluğuna göre farklı BCG suşları ile tedavi edilmişlerdir. BCG suşlarının immünojenileri birbirinden farklılık gösterebileceğinden hastaların tek bir BCG suşu ile tedavi edilmemesi önemli bir karıştırıcı faktör olabilir. Ancak bu karıştırıcı etkiyi incelemek amacıyla yaptığımız

analizde BCG suşunun tipi ile progresyonsuz ve rekürrensiz sağkalım ihtimali arasında anlamlı bir ilişki çalışmamızda gözlenmedi. Çalışmamızda incelenen patoloji arşivinden elde edilmiş parafin blokların yaşları da 1 ile 14 yıl arasında değişmektedir. Bazı eski bloklardaki dokular, zayıf antijenite nedeniyle anti-PD-L1 antikor ile zayıf boyanma göstermiş olabilirler.

6. SONUÇLAR

KİOMK'de PD-L1 ekspresyonu, progresyon ve rekürrens için daha riskli histopatolojik faktörler ile ilişkili görünmektedir. PD-L1 ekspresyonun başarısız BCG tedavisi sonrası çoğunlukla değişmemesi, ilk tanı sırasındaki PD-L1 analizinin, tümör mikroçevresini yansıtmada ve anti-PD-L1 antikor tedavilerden fayda görebilecek hastaların seçimini öngörmeye yeterli olabileceğini düşündürmektedir. Ancak BCG refrakter hasta grubunda, tedavi öncesi dönemde izlenen artmış PD-L1 ekspresyonu, BCG tedavi sonrası downregülasyona uğramaktadır. Bu hasta grubunda PD-L1 statüsünün belirlenmesi birden fazla immunohistokimyasal PD-L1 analizini gerektirebilir. Başarısız BCG tedavisi sonrası PD-L1 ekspresyonundaki değişimlerin farklılık göstermesi, relaps ve refrakter tümörlerin anti-PD-L1 antikor tedavilerden farklı oranlarda fayda sağlamalarına neden olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Babjuk M, Bohle A, Burger M, et al. EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2016. *Eur Urol.* 2017;71(3):447-461.
2. Cambier S, Sylvester RJ, Collette L, et al. EORTC Nomograms and Risk Groups for Predicting Recurrence, Progression, and Disease-specific and Overall Survival in Non-Muscle-invasive Stage Ta-T1 Urothelial Bladder Cancer Patients Treated with 1-3 Years of Maintenance Bacillus Calmette-Guerin. *Eur Urol.* 2016;69(1):60-69.
3. van Gils-Gielen RJ, Witjes WP, Caris CT, Debruyne FM, Witjes JA, Oosterhof GO. Risk factors in carcinoma in situ of the urinary bladder. Dutch South East Cooperative Urological Group. *Urology.* 1995;45(4):581-586.
4. Messing EM. The BCG Shortage. *Bladder cancer (Amsterdam, Netherlands).* 2017;3(3):227-228.
5. Alfred Witjes J, Le Bret T, Comperat EM, et al. Updated 2016 EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol.* 2017;71(3):462-475.
6. Boegemann M, Aydın AM, Bagrodia A, Krabbe LM. Prospects and progress of immunotherapy for bladder cancer. *Expert Opin Biol Ther.* 2017;17(11):1417-1431.
7. Köse MR, Başara BB, Güler C, Çağlar İS, Özdemir TA. Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı, Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2016, Ankara, 2017.
<https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/13183,sy2016turkcepdf.pdf?0>.

8. Şencan İ, Keskinç B (ed). Türkiye kanser İstatistikleri, T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2014.
http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2014-RAPOR_uzun.pdf.
9. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, Znaor A, Jemal A, Bray F. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *Eur Urol.* 2017;71(1):96-108.
10. GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11. International Agency for Research on Cancer Web site. <http://globocan.iarc.fr>.
11. Nielsen ME, Smith AB, Meyer AM, et al. Trends in stage-specific incidence rates for urothelial carcinoma of the bladder in the United States: 1988 to 2006. *Cancer.* 2014;120(1):86-95.
12. Amin MB, American Joint Committee on Cancer. AJCC cancer staging manual. 8th ed. Chicago, IL: Springer; 2017. p. 757-65.
13. Dobbs RW, Hugar LA, Revenig LM, et al. Incidence and clinical characteristics of lower urinary tract symptoms as a presenting symptom for patients with newly diagnosed bladder cancer. *Int Braz J Urol.* 2014;40(2):198-203.
14. Svatek RS, Hollenbeck BK, Holmang S, et al. The economics of bladder cancer: costs and considerations of caring for this disease. *Eur Urol.* 2014;66(2):253-262.
15. Botteman MF, Pashos CL, Redaelli A, Laskin B, Hauser R. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature. *Pharmacoeconomics.* 2003;21(18):1315-1330.

16. Yeung C, Dinh T, Lee J. The health economics of bladder cancer: an updated review of the published literature. *Pharmacoeconomics*. 2014;32(11):1093-1104.
17. (Staging of human bladder cancer according to the Tumor-Node-Metastasis (TNM) system.) Said N. Roles of SPARC in urothelial carcinogenesis, progression and metastasis. *Oncotarget*. 2016 Oct 11; 7(41): 67574–67585. Creative Commons Attribution License.
18. Green DA, Rink M, Cha EK, et al. Cost-effective treatment of low-risk carcinoma not invading bladder muscle. *BJU international*. 2013;111(3 Pt B):E78-84.
19. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors (2004) World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC Press.
20. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol*. 2006;49(3):466-465; discussion 475-467.
21. Fernandez-Gomez J, Madero R, Solsona E, et al. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *The Journal of urology*. 2009;182(5):2195-2203.
22. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674.

23. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009;139(7):1315-1326.
24. Teng MW, Swann JB, Koebel CM, Schreiber RD, Smyth MJ. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *J Leukoc Biol*. 2008;84(4):988-993.
25. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39-51.
26. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-899.
27. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-1570.
28. Finn OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2012;23 Suppl 8:viii6-9.
29. Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, et al. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol*. 2002;169(10):5538-5545.
30. Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nature medicine*. 2002;8(8):793-800.
31. Gibbons Johnson RM, Dong H. Functional Expression of Programmed Death-Ligand 1 (B7-H1) by Immune Cells and Tumor Cells. *Front Immunol*. 2017;8:961.

32. Riley JL. PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol Rev.* 2009;229(1):114-125.
33. Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol.* 2005;25(21):9543-9553.
34. Kyi C, Postow MA. Checkpoint blocking antibodies in cancer immunotherapy. *FEBS Lett.* 2014;588(2):368-376.
35. Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends in molecular medicine.* 2015;21(1):24-33.
36. (The programmed cell death 1 (PD-1)/PD-L1 pathway.) Santarpia M, Karachaliou N. Tumor immune microenvironment characterization and response to anti-PD-1 therapy. *Cancer Biol Med.* 2015 Jun;12(2):74-78. <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>.
37. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell.* 2015;27(4):450-461.
38. Hanna KS. A Review of Immune Checkpoint Inhibitors for the Management of Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *Pharmacotherapy.* 2017;37(11):1391-1405.
39. Herr HW, Donat SM. Quality control in transurethral resection of bladder tumours. *BJU international.* 2008;102(9 Pt B):1242-1246.
40. Brausi M, Collette L, Kurth K, et al. Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell

carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol.* 2002;41(5):523-531.

41. Maruniak NA, Takezawa K, Murphy WM. Accurate pathological staging of urothelial neoplasms requires better cystoscopic sampling. *The Journal of urology.* 2002;167(6):2404-2407.
42. Sfakianos JP, Kim PH, Hakimi AA, Herr HW. The effect of restaging transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with nonmuscle invasive bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guerin. *The Journal of urology.* 2014;191(2):341-345.
43. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *The Journal of urology.* 1976;116(2):180-183.
44. Alexandroff AB, Jackson AM, O'Donnell MA, James K. BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on. *Lancet.* 1999;353(9165):1689-1694.
45. Jackson AM, Alexandroff AB, Kelly RW, et al. Changes in urinary cytokines and soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in bladder cancer patients after bacillus Calmette-Guerin (BCG) immunotherapy. *Clin Exp Immunol.* 1995;99(3):369-375.
46. (Suggested cascade of immune responses in bladder mucosa induced by intravesical BCG instillation.) Askeland EJ, Newton MR, O'Donnell MA et al. Bladder Cancer Immunotherapy: BCG and Beyond. *Adv Urol.* 2012; 2012: 181987. Creative Commons Attribution License.
47. Sylvester RJ, van der MA, Lamm DL. Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder

cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *The Journal of urology*. 2002;168(5):1964-1970.

48. Patard J, Moudouni S, Saint F, et al. Tumor progression and survival in patients with T1G3 bladder tumors: multicentric retrospective study comparing 94 patients treated during 17 years. *Urology*. 2001;58(4):551-556.
49. Patard JJ, Rodriguez A, Leray E, Rioux-Leclercq N, Guille F, Lobel B. Intravesical Bacillus Calmette-Guerin treatment improves patient survival in T1G3 bladder tumours. *Eur Urol*. 2002;41(6):635-641; discussion 642.
50. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Witjes JA, Kurth K. Bacillus calmette-guerin versus chemotherapy for the intravesical treatment of patients with carcinoma in situ of the bladder: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *The Journal of urology*. 2005;174(1):86-91; discussion 91-82.
51. Lerner SP, Tangen CM, Sucharew H, Wood D, Crawford ED. Failure to achieve a complete response to induction BCG therapy is associated with increased risk of disease worsening and death in patients with high risk non-muscle invasive bladder cancer. *Urol Oncol*. 2009;27(2):155-159.
52. Takenaka A, Yamada Y, Miyake H, Hara I, Fujisawa M. Clinical outcomes of bacillus Calmette-Guerin instillation therapy for carcinoma in situ of urinary bladder. *Int J Urol*. 2008;15(4):309-313.
53. Gofrit ON, Pode D, Pizov G, et al. The natural history of bladder carcinoma in situ after initial response to bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Urol Oncol*. 2009;27(3):258-262.

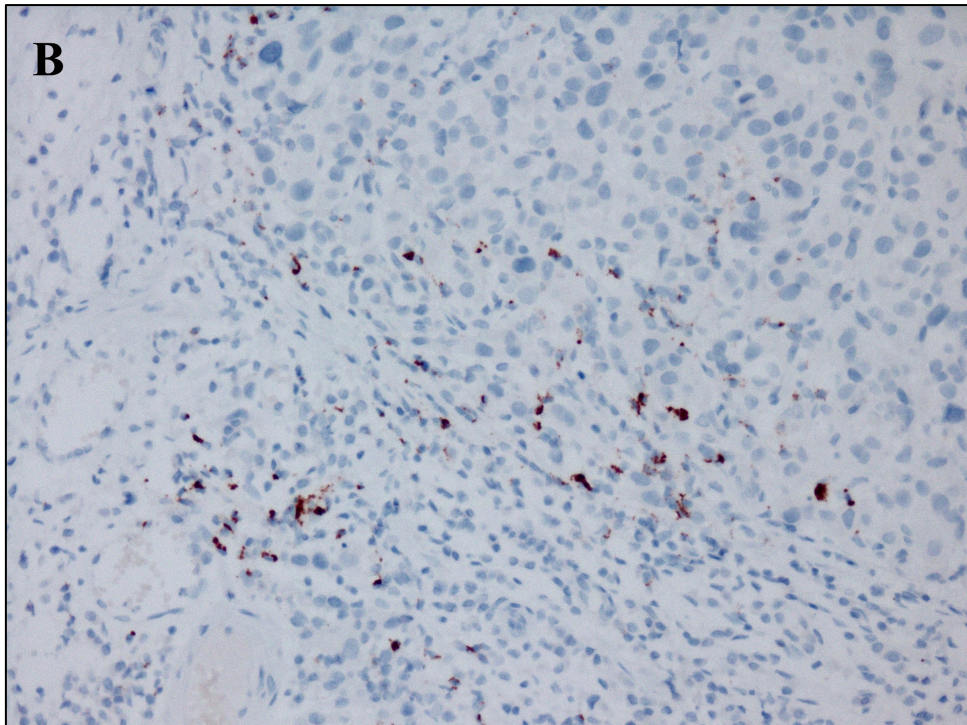
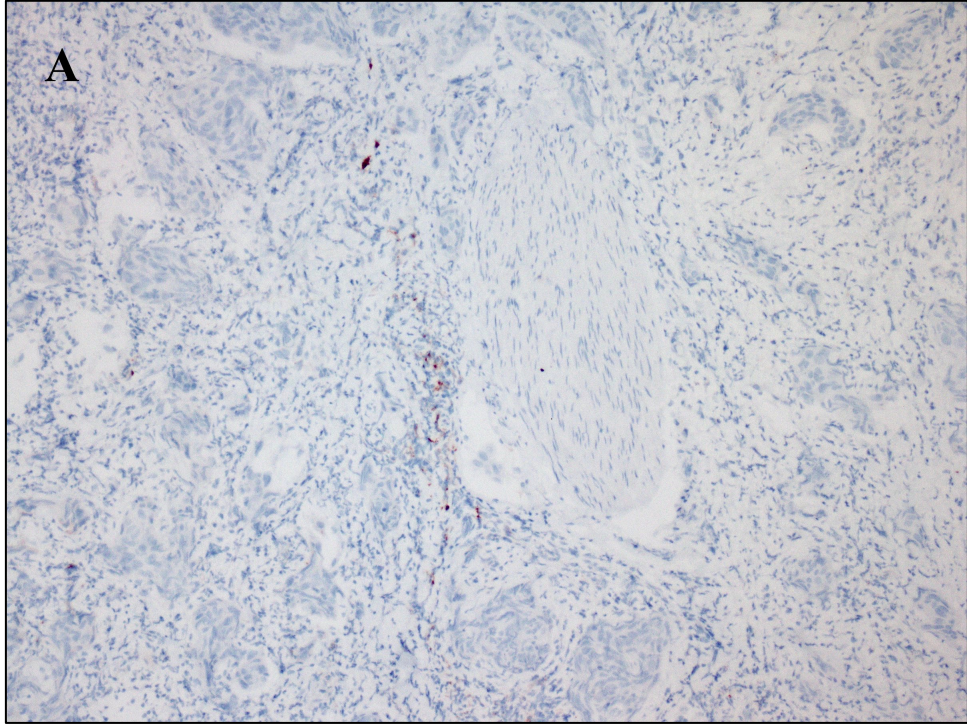
54. Borden LS, Jr., Clark PE, Hall MC. Bladder cancer. *Curr Opin Oncol.* 2003;15(3):227-233.
55. Hollingsworth JM, Zhang Y, Krein SL, Ye Z, Hollenbeck BK. Understanding the variation in treatment intensity among patients with early stage bladder cancer. *Cancer.* 2010;116(15):3587-3594.
56. Raj GV, Herr H, Serio AM, et al. Treatment paradigm shift may improve survival of patients with high risk superficial bladder cancer. *The Journal of urology.* 2007;177(4):1283-1286; discussion 1286.
57. Alhogbani MM, Picard JA, Fassi-Fehri MH, Badet JL, Colombel CM. Prognostic impact of Bacillus Calmette-Guerin interruption at the time of induction and consolidation. *Urol Ann.* 2017;9(4):315-320.
58. Kakiashvili DM, van Rhijn BW, Trottier G, et al. Long-term follow-up of T1 high-grade bladder cancer after intravesical bacille Calmette-Guerin treatment. *BJU international.* 2011;107(4):540-546.
59. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2016;387(10031):1909-1920.
60. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515(7528):563-567.
61. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):208-222.

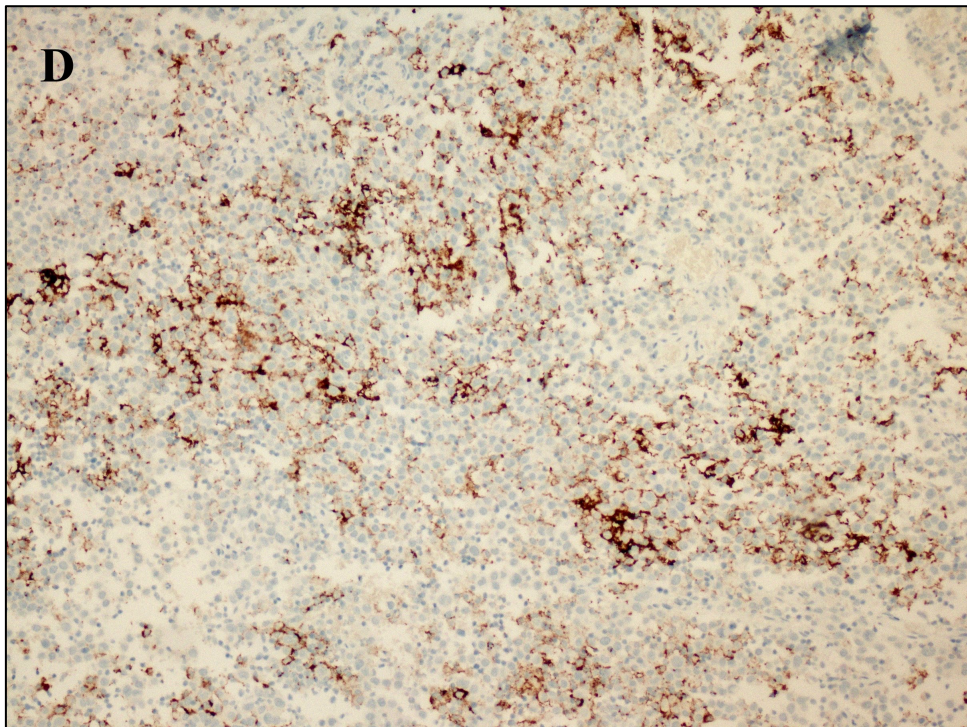
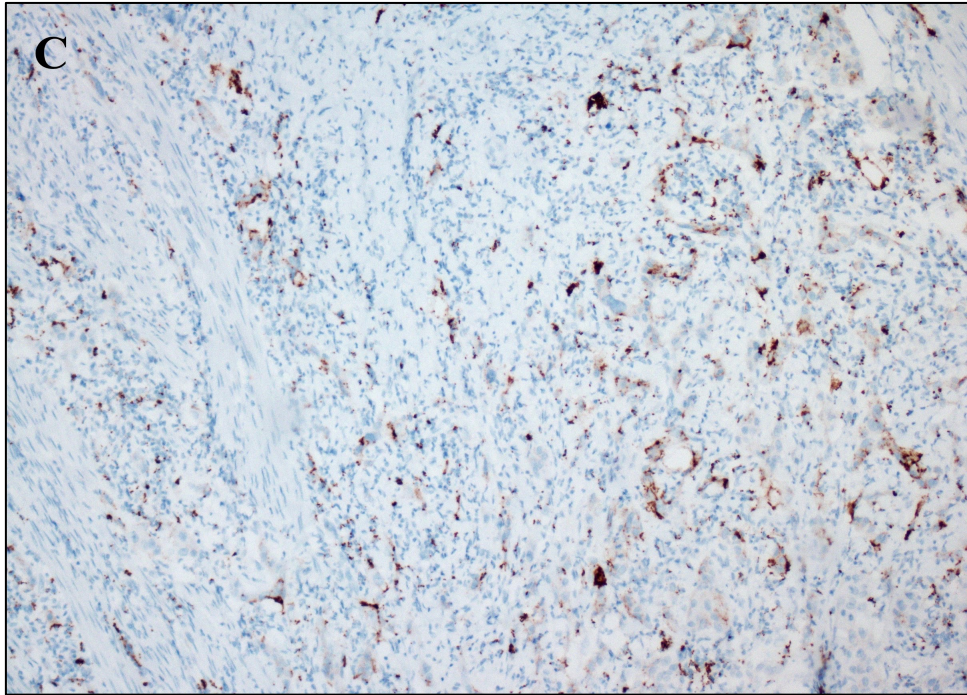
62. van den Bosch S, Alfred Witjes J. Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review. *Eur Urol*. 2011;60(3):493-500.
63. Wankowicz SAM, Werner L, Orsola A, et al. Differential Expression of PD-L1 in High Grade T1 vs Muscle Invasive Bladder Carcinoma and its Prognostic Implications. *The Journal of urology*. 2017;198(4):817-823.
64. Zhang M, Li G, Wang Y, et al. PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):10255.
65. Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Ueda S. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother*. 2007;56(8):1173-1182.
66. Pieras Ayala E, Palou J, Rodriguez-Villamil L, Millan Rodriguez F, Salvador Bayarri J, Vicente Rodriguez J. [Cytoscopic follow-up of initial G3T1 bladder tumors treated with BCG]. *Arch Esp Urol*. 2001;54(3):211-217.
67. Zlotta AR, Fleshner NE, Jewett MA. The management of BCG failure in non-muscle-invasive bladder cancer: an update. *Can Urol Assoc J*. 2009;3(6 Suppl 4):S199-205.
68. Solsona E, Iborra I, Dumont R, Rubio-Briones J, Casanova J, Almenar S. The 3-month clinical response to intravesical therapy as a predictive factor for progression in patients with high risk superficial bladder cancer. *The Journal of urology*. 2000;164(3 Pt 1):685-689.
69. Lightfoot AJ, Rosevear HM, O'Donnell MA. Recognition and treatment of BCG failure in bladder cancer. *ScientificWorldJournal*. 2011;11:602-613.

70. Chamie K, Saigal CS, Lai J, et al. Quality of care in patients with bladder cancer: a case report? *Cancer*. 2012;118(5):1412-1421.
71. van der Meijden AP, Sylvester RJ, Oosterlinck W, Hoeltl W, Bono AV, Group EG-UTC. Maintenance Bacillus Calmette-Guerin for Ta T1 bladder tumors is not associated with increased toxicity: results from a European Organisation for Research and Treatment of Cancer Genito-Urinary Group Phase III Trial. *Eur Urol*. 2003;44(4):429-434.
72. Lamm DL, Blumenstein BA, Crissman JD, et al. Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group Study. *The Journal of urology*. 2000;163(4):1124-1129.

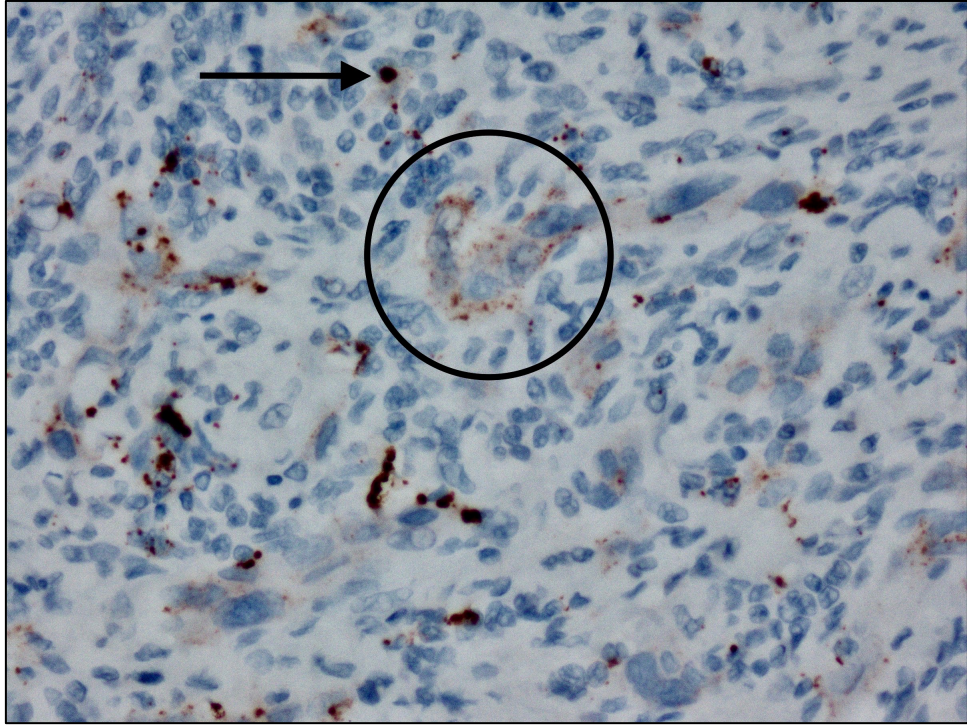
8. EKLER

EK 1. Tümörü infiltre eden inflamatuvar hücrelerin (İH) boyanma özelliklerine göre PD-L1 immünohistokimya skorlaması





- A) Tümör alanı içerisindeki toplam PD-L1+ İH'nin oranı $<1\%$: İnfH0 veya PD-L1 ekspresyonu yok. (İmmünohistokimya, anti-PD-L1 Ab X 40).
- B) Tümör alanı içerisindeki toplam PD-L1+ İH'nin oranı $\geq 1\%$ - $<5\%$: İnfH1 veya PD-L1 ekspresyonu var. (İmmünohistokimya, anti-PD-L1 Ab X 100).
- C) Tümör alanı içerisindeki toplam PD-L1+ İH'nin oranı $\geq 5\%$ - $<10\%$: İnfH2 veya yüksek PD-L1 ekspresyonu var. (İmmünohistokimya, anti-PD-L1 Ab X 40).
- D) Tümör alanı içerisindeki toplam PD-L1+ İH'nin oranı $\geq 10\%$: İnfH3 veya çok yüksek PD-L1 ekspresyonu var. (İmmünohistokimya, anti-PD-L1 Ab X 40).

EK 2. Tumor hücrelerinin (TH) boyanma özellikleri

- Tumor alanı içerisindeki toplam PD-L1+ TH oranı ≥ 1 : TH1 veya tumor hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu var. (İmmünohistokimya, anti-PD-L1 Ab X 400).

* Ok: PD-L1 ekspresyonu pozitif ve tumorü infiltre etmiş inflamatuvar hücre, tekli hücre şeklinde (single-cell spread) boyanma. Daire: PD-L1 ekspresyonu pozitif tumor hücresi, granüler boyanma.

** PD-L1+ tumor hücreleri, PD-L1 İHK skora dahil edilmemiştir.

