

NEFROBLASTOM (WILMS TUMOR)

Ivo Juri , Mihovil Bio i , Zenon Pogoreli

Klinički odjel dječije kirurgije, KBC Split, Spiniceva 1, 21000 Split, Hrvatska

1.1. TUMORI BUBREGA U DJECE

Zloćudne bolesti u djece su na drugom mjestu po uzrocima smrti u razvijenim zemljama, odmah iza prometnih nesreća i čine 10,6 % ukupne smrtnosti u djece u dobi od jedne do petnaeste godine života (1). Solidni tumori javljaju se kod 55% bolesnika, a 45% ih oboli od leukemija i limfoma.

U djece na petom mjestu po učestalosti nalazimo tumore bubrega (2). U učestalost, tipovi tumora, rast i odgovor na liječenje tumora bubrega u djece razlikuju se od tumora bubrega kod odraslih. U odraslih su najčešće karcinomi dok su u djece tumori bubrega embrionalnog podrijetla i zato brzo rastu, ali imaju bolji odgovor na terapiju. Najčešći tumor bubrega u dječjoj dobi je nefroblastom ili tumor Wilms.

Osim tumora Wilmsa i primarni tumori bubrega su: sarkom svjetlih stanica bubrega, rabdoidni tumor i mezoblastički nefrom.

Rjeđi tumori bubrega u dječjoj dobi su: periferni primitivni neuroektodermalni tumor, sinovijalni sarkom, mezonefritički stromalni tumor, nefrogeni adenofibrom, karcinom bubrežnih stanica, metanefritički adenom, angiomiolipom, teratom, karcinom prijelaznih stanica nakapnice bubrega, jukstaglomerularni stanini tumor, intrarenalni neuroblastom. Dječji bubreg također može biti zahvaćen metastatskim tumorom ili limfomom (3, 4, 5).

1.2. TUMOR WILMS

Prvi opis tumora objavio je Rance 1814. godine, a ime je dobio po kirurgu Max Wilmsu koji je 1899. godine otkrio da tumor sadrži mješavinu tri vrste tkiva (6, 7).

1.2.1. EPIDEMIOLOGIJA

Tumori bubrega u djece se javljaju u 7% slučajeva od ukupnog broja tumora u dječjoj dobi. Daleko najčešći tumor bubrega je nefroblastom ili tumor Wilmsa u učestalosti više od 90%. Godišnja incidencija je 7 do 8 bolesnika na milijun djece u dobi do 15 godina, što znači da se u Hrvatskoj u prosjeku javlja 8 do 9 novooboljelih godišnje (8, 9, 10, 11). Dvostruko niža incidencija zabilježena je u Azijske djece, a 2,5 puta viša u crne djece (12).

Wilms tumor se u 80% slučajeva javlja u dječjoj dobi od jedne do pet godina, a prosječna dob postavljanja dijagnoze je 3,5 godina. Iako oboljevaju i odrasli, tumor je iznimno rijedak iznad 15 godina života (13).

U učestalosti tumora kod muške i ženske djece je gotovo podjednaka i varira od 0,8 do 0,95 u različitim studijama. Zahvaćenost lijevog i desnog bubrega je gotovo jednaka, a obostrano se javlja u 5-7% djece. Obiteljski Wilms tumor se javlja u 1 - 2% slučajeva (14). Obuhvaćena male skupine od 2-3 obiteljska lanca i nasljeđuju se autosomno dominantno. Obično

su obostrani i javljaju se u ranijoj životnoj dobi.

1.2.2. GENETIKA WILMS TUMORA

Nastanak tumora Wilms pripisuje se genetskim ili somatskim mutacijama, a pojavljuje se u nasljednom ili nenasljednom obliku. Knutson je postavio "2 - hit" hipotezu dvaju genetičkih događaja koji uključuju inaktivaciju oba alela tumor-supresorskog gena (15). Prema njegovoj teoriji nasljedni tumori nastaju kao posljedica konstitucijske mutacije (prvi genetički događaj), tj. mutacije koja je prisutna u spolnim stanicama pa prema tome i u svim stanicama organizma. Za pojavu tumora potrebna je inaktivacija drugog alela tumorsupresorskog gena (drugi genetički poremećaj) u odgovarajućoj somatskoj stanici. Hipoteza ima potvrdu iz nekoliko izvora. Prvo, neki bolesnici s Beckwith-Wiedemann i WAGR sindromom imaju konstitucijske delecije na 11p15.5 i 11p13 lokusu - obje delecije predisponiraju razvitak Wilmsovog tumora (16). Drugo, u jedne trećine bolesnika citogenetska analiza pokazuje deleciju na 11p (17). Treće, somatski gubitak heterozigotnosti na kratkom kraku 11-og kromosoma nije povezan samo s pojavom Wilms tumora već i s pojavom embrionalnog rabdomiosarkoma i hepatoblastoma (18).

Dvije druge abnormalnosti gena kod Wilms tumora su delecije WT1 i WT2 gena. WT1 je otkriven 1989. godine u tumoru Wilms i po njemu je dobio ime (19). To je tumor-supresor gen lokaliziran na regiji 11p13 i odgovoran je

za razvoj genitourinarnog sustava. Njegovu ekspresiju nalazimo u bubregu, gonadama, slezeni i mezotelu. Gen je od deset egzona, kodira bjelanjak koji regulira transkripciju gena tijekom ranog embrionalnog razvoja u fetalnom bubregu, fetalnim nediferenciranim gonadama i spolnim naborima (20). Napravljene su mnoge studije na razini mRNA. Tumori koji imaju primarno blastemsku ili epitelnu diferencijaciju pokazuju veće u razinu ekspresije WT1 nego oni s pretežno stromalnom komponentom. Isto tako WT1 mRNA nije nađena u stromalnom dijelu tumora (21). WT1 ima ekspresiju samo u blastemskim stanicama, krvnim žilama bubrega i glomerularnom epitelu za koje se smatra da sve mogu biti mjesta tumorogeneze (22, 23). Mutacija gena WT1 otkrivena je u 10 - 15% tumora Wilms.

Strukturne aberacije na 11p15,5 regiji otkrivene u tumorima djece s Beckwith-Wiedemannovim sindromom (u kojem je izražena predispozicija za razvoj Wilms tumora) ukazuje na postojanje drugog tumorsupresor gena WT2 (24). Istraživanja upućuju na vrlo složene mehanizme regulacije koji obuhvaćaju gene IGF -2 (faktor rasta sličan inzulinu) i H 19 (25). Oba gena u nekih bolesnika s Wilms tumorom mogu biti mutirana ili pokazuju pojačanu ekspresiju.

Gubitak heterozigotnosti (LOH) na kromosomu 16q (WT3) nađena je u 17% Wilms tumora. Značajna povezanost je pronađena između gubitka genskog materijala na 16q i hipometilacije 16q Sat2 DNA i taj molekularni

nalaz je povezan s lošom prognozom bolesnika s Wilms tumorom (26).

Godine 1989. Baker i suradnici su otkrili da delecija kratkog kraka kromosoma 17 je povezana s to kantom mutacijom na p53 alelu homolognog kromosoma (27). p53 je tumor-supresor gen koji regulira proliferaciju stanica i inducira apoptozu, a uklju en je u pojavu širokog spektra malignoma u ljudi. Istraživanja na Wilms tumoru potvrdila su ve i izražaj mutiranog p53 u anaplasi nim tumorima i u onima u uznapredovaloj fazi bolesti. Na en je u 75% bolesnika s anaplasi nom histološkom slikom tumora (28, 29).

-catenin je stani na adhezijska molekula koja izaziva pove anu ekspresiju c-MYC gena i ciklina D1. Mutacija gena za -catenina je otkrivena u 15% bolesnika s Wilms tumorom. Postoji snažna korelacija izme u smanjene ekspresije WT1 gena i mutacije -catenina (30).

Gen SKCG-1 u regiji 11q23.3 može djelovati kao tumor-supresorski gen i vjeruje se da bi mogao imati ulogu u nekim sporadi nim oblicima Wilms tumora (31).

Obiteljski oblik Wilms tumora javlja se u 1 - 2% slu ajeva (14). Iako ti tumori imaju poja anu ekspresiju WT1 gena, neki se povezuju s promjenama lokusa na dugom kraku kromosoma 17 (17q12-q21 nazvan FWT1) kao i na dugom kraku kromosoma 19 (19q13.3-q13.4 nazvan FWT2) (32).

U citogenetskim ispitivanjima Wilms tumora otkriveni su mnogi numeriki i strukturni poreme aji kromosoma. Ispitivanje koli ine

DNA u stanicama tumora navodi na njegovu geneti ku heterogenost. Ve ina tumora je diploidna, dok oni s hiperploidnom ili hipertriploidnom koli inom DNA obi no imaju strukturne poreme aje kromosoma i agresivan tijek bolesti. Naj eš i numeriki poreme aj je trisomija kromosoma 11, a nalazimo i trisomije kromosoma 6, 7, 8, 13, 17 i 20. Strukturne aberacije koje su naj eš e vezane uz delecije kratkog kraka kromosoma 11 su prona ene u 20% ispitanih tumora (33). Rezultati istraživanja navode na geneti ku heterogenost pojedinih podtipova tumora, na važnu ulogu poreme aja genoma na lije enje i tijek bolesti. Gubitak heterozigotnosti (LOH) za kromosome 16 q, 1p i 7p obi no je povezan s lošom prognozom, recidivima i smr u u bolesnika s tumorom povoljne histološke slike (34).

1.2.3. WILMS TUMOR I PRIDRUŽENE KONGENITALNE ANOMALIJE

Wilms tumor je relativno esto udružen s kongenitalnim anomalijama. Genitourinarne anomalije kao potkovi asti bubreg, renalna displazija, obostrana cisti na bubrežna bolest, kriptorhizam, hipospadija imaju ve u incidenciju tumora Wilms, koja iznosi oko 4,5%. Ve a u ustalost tumora Wilms primjena je kod hemihipertrofije (2,9%), a kongenitalna aniridija se javlja u 1% bolesnika s Wilms tumorom (35).

Kod Beckwith - Wiedemann sindroma, kojeg karakterizira visceromegalija, makroglosija, omfalokela i gigantizam, Wilms tumor se

javlja u 4-5% slučajeva, esto je obostran i ima dobru prognozu (36).

Komponente WAGR sindroma su: Wilms tumor, aniridija, genitourinarne malformacije i mentalna retardacija. Mogu se javiti kardiopulmonalni problemi, anomalije glave, neurološki poremećaji, defekti skeleta i mišića i metaboličke bolesti. U djece s WAGR sindromom je otkriveno kromosomsko oštećenje na 11p13. Rizik Wilms tumora kod ovih bolesnika je 30% (37).

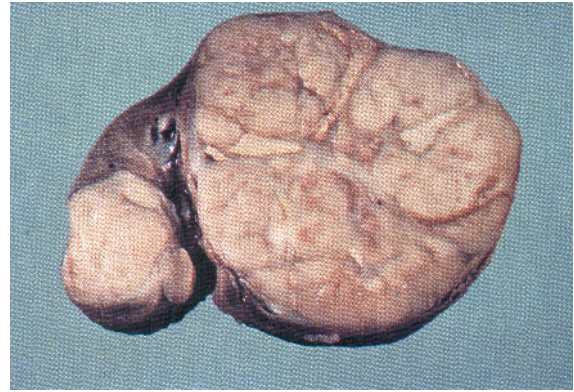
Perlmanov sindrom također može biti udružen s Wilms tumorom, a obuhvaća makrosomiju, hiperplaziju Langerhansovih otoka gušterače, hamartome bubrega i atipični oblici.

Denys - Drash sindrom obuhvaća muški pseudohermafroditizam, glomerulonefritis i Wilms tumor, a povezan je s defektom WT1 gena (38).

1.2.4. HISTOPATOLOGIJA

Nefroblastom se obično javlja unilateralno kao okrugla masa dobro ograničena od okolnog bubrežnog tkiva pseudokapsulom koja je djelomično fibrozna, a djelomično od komprimiranog bubrežnog tkiva. Lokaliziran je u središtu bubrega ili može biti smješten na polu. Katkad se može pojaviti u obliku multiplih vorova. Na presjeku je sivkastobijel ili ružičast (Slika 1) i esto ima nekrozu (Slika 2). Oko 5 - 7 % bolesnika ima obostrani tumor. Većina bilateralnih tumora se pojavljuje kao bilateralni sinhroni tumor, a kao bilateralni metakroni u 1,5% slučajeva. Bilateralni sinkroni tumori se obično pojavljuju u djece

mlađe od jedne godine koja su već uspješno liječena od unilateralnog tumora. Bilateralni metakroni tumor se pojavljuje osobito u djece kojima resekirani bubreg ima nefrogene ostatke (39).



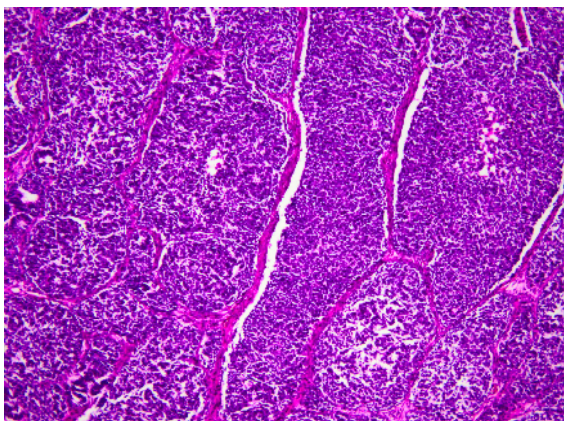
Slika 1. Makroskopski preparat Wilms tumora u bolesnika koji prije operacije nije primao kemoterapiju. Vidi se bjelkasto, solidno tumorsko tkivo.



Slika 2. Makroskopski preparat Wilms tumora nakon završene prijeoperacijske kemoterapije. Vidljive su brojne nekroze i krvarenja.

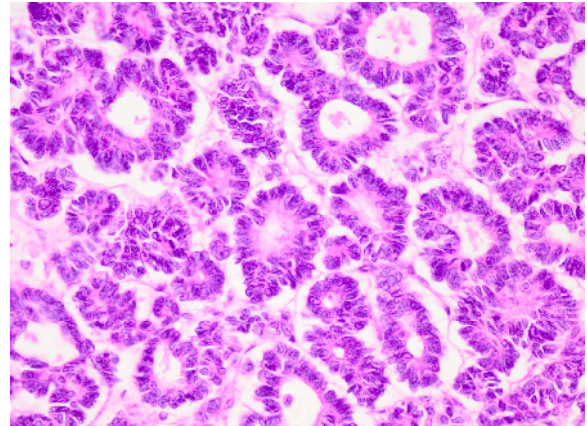
Najčešće metastazira limfogeno u regionalne limfne čvorove, u pluća i jetru. Rijetko metastazira u kosti ili koštano moždinu ili mozak (40). U 6% bolesnika je proširen u renalnu venu ili u donju vena kavu (41). Wilms tumor metastazira u oko 5% slučajeva (42).

U studijama SIOP-a (Societe Internationale d'Oncologie Pediatrique) prema histološkom tipu dijeli se u skupinu povoljne histologije (favorable histology - FH) i skupinu nepovoljne histologije (unfavorable histology - UH). U skupinu nepovoljne histološke slike pripada tumor s difuznom anaplazijom, clear cell - sarkom i rabdoidni tumor uz napomenu da posljednja dva nisu nefroblastomi. Nefroblastom in situ, nodularni bubrežni blastom i kongenitalni mezoblasti ni nefrom su benigne tvorbe. Oko 78% neonatalnih bubrežnih neoplazmi su kongenitalni mezoblasti ni nefrom. U studijama NWTs u skupinu nepovoljne histologije pripada samo anaplasti ni tumor. Histološki je tumor gra en od blastemskih, stromalnih i epitelnih stanica. Tumorske stanice mogu pokazivati razli ite stupnjeve diferencijacije. Blastemska komponenta ima male do srednje velike nediferencirane stanice oskudne citoplazme i okruglaste hiperkromatske jezgre, a stvaraju difuzne nakupine, žarišta ili tvorbe poput serpentina (Slika 3).

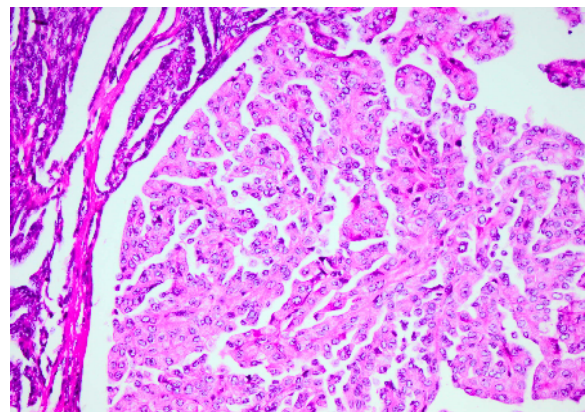


Slika 3. Blastemska komponenta (H.E, x100).

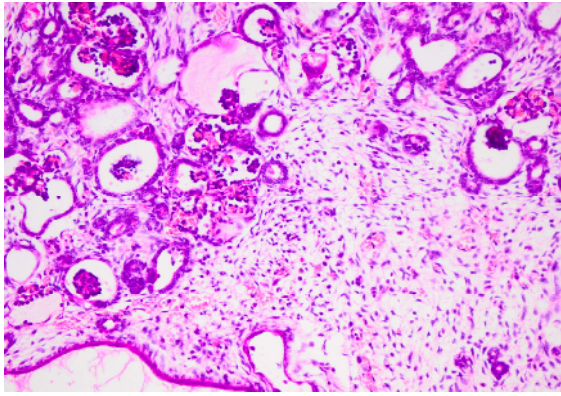
Epitelna komponenta sadrži poput rozeta primitivne strukture (Slika 4), slabo do dobro diferencirane tubule, papilarne strukture (Slika 5), glomeruloidne strukture (Slika 6) i djelomi no, naro ito kod tumora koji su tretirani s preoperativnom kemoterapijom, mucinozni i plo asti epitel (43).



Slika 4. Epitelna komponenta Wilms tumora sadrži poput rozete primitivne strukture (H.E, x400).

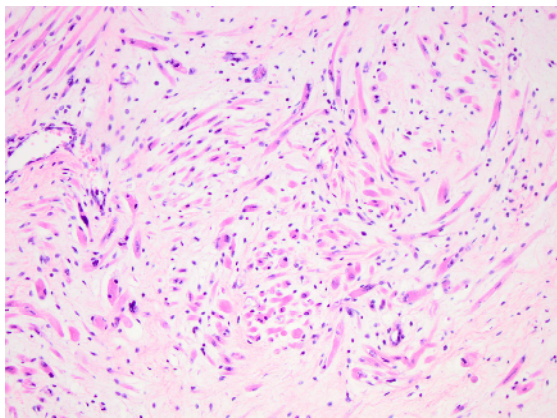


Slika 5. Epitelna komponenta Wilms tumora u kojoj su vidljive papilarne strukture (H.E, x200).



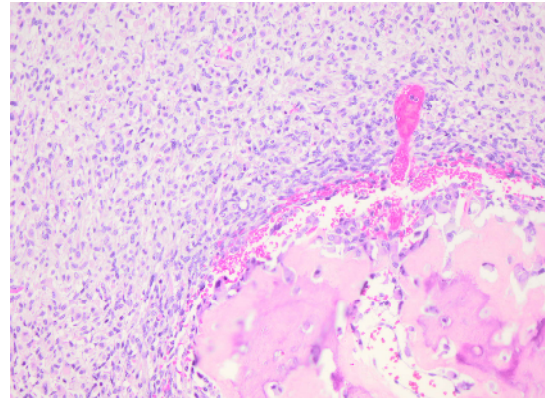
Slika 6. Epitelna komponenta Wilms tumora, vide glomeruloidne strukture i dobro diferencirane tubularne formacije (H.E, x200).

Stromalni elementi su dobro do slabo diferencirane mezenhimalne stanice, glatki i skeletni miši i (Slika 7), masno tkivo, hrskavica, kost i osteoid (Slika 8).



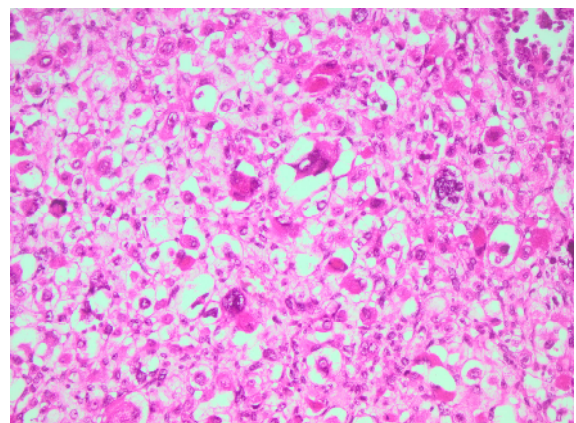
Slika 7. Vidi se dobro diferencirana rabdoidna stromalna komponenta (H.E, x200)

Udjel ove tri komponente varira od tumora do tumora. Ako niti jedna od ovih komponenti ne predomina, tumor se dijagnosticira kao miješani tip (trifazni ili klasični). Mnogi su monofazni ili bifazni, odnosno sadrže jednu ili dvije komponente (44).

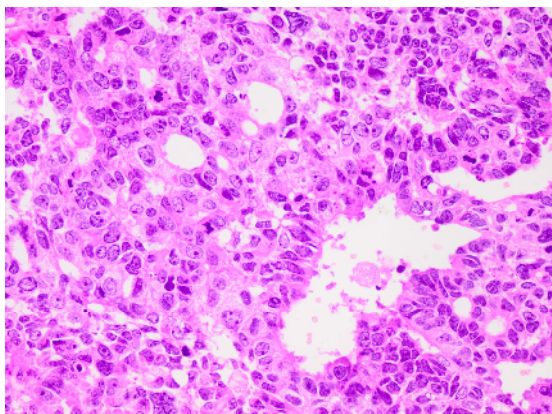


Slika 8. Unutar stromalne komponente mogu se naći i ostaci koštane strukture, hrskavica i osteoid (H.E, x100).

Histološki je potrebno detaljno analizirati tumor u smislu isključenja ili dokazivanja anaplazije. 7% klasičnih Wilms tumora je anaplastično. Anaplazija se definira histološki kao povećane jezgre, hiperkromazija i prisustvo patoloških mitozâ (Slika 9, 10).



Slika 9. U anaplastičnoj komponenti Wilms tumora mogu se naći polimorfne velike tumorske stanice s hiperkromatskim jezgrama i to često s više jezgara (H. E, x200).



Slika 10. Anaplasi na komponenta esto sadrži brojne mitoze (H. E, x400).

Anaplazija može biti difuzna ili fokalna tj. žarišna. Definicija fokalne anaplazije temelji se na topografskim principima koji uvjetuju da je fokalna anaplazija ograničena na nekoliko specifičnih regija. Bolesnici sa fokalnom anaplazijom imaju bolju prognozu od onih s difuznom i zato su prema SIOP - u uključeni u tumore srednjeg rizika (45). Tumori povoljne histologije nemaju anaplaziju i imaju bolju prognozu. Prisustvo anaplazije se obično javlja u djece starije od dvije godine i indikator je otpornosti na kemoterapiju i veće moguće nastoje recidiva (46). Dominacija blastemske komponente nakon kemoterapije također je povezana s eventualnijim povratom bolesti (47).

1.2.5. PROGNOSTI KI FAKTORI I KLASIFIKACIJA WILMS TUMORA

Najznačajniji prognostički faktori su histološki tip tumora i stadij bolesti. SIOP -ove studije su usmjerene na proučavanje rezultata prijeoperacijske kemoterapije, za koju se smatra da ima nekoliko prednosti:

- Smanjuje rizik od rupture tumora tijekom operacijskog zahvata.
- Povećava broj bolesnika u I stadiju bolesti s povoljnom histologijom na 60% i time smanjuje poslijeoperacijsku kemoterapiju.
- U bolesnika s IV stadijem bolesti otkrivaju one s dobrim odgovorom na kemoterapiju.
- Povećava mogućnost za parcijalnu nefrektomiju.

Na temelju histološke slike i preživljavanja bolesti SIOP je definirao tri prognostičke grupe za tipične tumore bubrega u djece. Mezoblastični nefrom, clear cell sarkom i rabdoidni tumor bubrega su odvojeni od nefroblastoma, ali su tipični dječji bubrežni tumori. Nova klasifikacija SIOP - 2001 je uključila rezultate SIOP 9 i 93-01 studije (48) i prikazana je u tablici 1. NWTSC/COG klasifikacija određuje histološki tip ako su dvije trećine tumora građene od samo jedne komponente. Tumori povoljne histologije nemaju anaplazije. Prisustvo anaplazije je tijesno vezano za smanjen odgovor na adjuvantnu terapiju. Varijante tumora nepovoljne histologije su rabdoidni tumor bubrega i clear cell sarkom bubrega (49).

Stadij bolesti je jedan od najvažnijih kriterija za određivanje terapije i prognoze. SIOP 93 - 01 koji se i danas koristi dijeli bolest u pet stadija:

I stadij - tumor je ograničen na bubreg ili je okružen s fibroznom pseudokapsulom ako se nalazi izvan normalne konture bubrega. Renalna kapsula ili pseudokapsula mogu biti infiltrirani tumorom ali tumor ne prodire kroz nju i može se kompletno resekirati. Tumor može prodrijeti u nakapnicu i mokra ovd, ali ne zahvaća njihovu stijenu. Krvne žile renalnog sinusa nisu zahvaćene. Intrarenalne krvne žile mogu biti zahvaćene.

II stadij - tumor je proširen izvan bubrega ili prodire kroz bubrežnu kapsulu ili fibroznu pseudokapsulu u perirenalno masno tkivo, ali se može kompletno resekirati. Tumor infiltrira renalni sinus ili prodire u krvne i limfne žile izvan bubrežnog parenhima, i može se kompletno resekirati. Tumor infiltrira okolne

organe ili venu kavu, ali se može kompletno resekirati. Na tumoru je izvršena kirurška biopsija (klinasta ekscizija) prije preoperativne kemoterapije ili kirurškog odstranjenja.

III stadij - odstranjenje tumora nije potpuno, proširen je preko resekcijskog ruba (masa tumora ili mikroskopski vidljiv tumor). Treći stadij uključuje zahvaćanje bilo kojeg limfnog vora, rupturu tumora prije ili za vrijeme kirurškog zahvata, infiltraciju peritoneuma ili tumorske implantate na peritonealnoj površini, tumorske trombe prisutne na resekcijskom rubu ili odstranjeni dio po dio tumora od strane kirurga.

IV stadij - hematogene metastaze (pluća, jetra, kost, mozak ...) ili metastaze u limfne voreve izvan abdomena.

V stadij - tumor zahvaća oba bubrega. Svaka strana se posebno klasificira prema gore navedenim stadijima.

Tablica 1. Klasifikacija tumora bubrega u djece prema SIOP – 2001.

A	B
Tumori koji su prije operacije primali kemoterapiju:	Tumori koji prije operacije nisu primali kemoterapiju:
1) Tumori niskog rizika	1) Tumori niskog rizika
a) Mezoblasti ki nefrom	a) Mezoblasti ki nefrom
b) Cisti ni djelomi no diferencirani nefroblastom	b) Cisti ni, djelomi no diferencirani nefroblastom
c) Kompletno nekroti ni nefroblastom	
2) Tumori srednjeg rizika	2) Tumori srednjeg rizika
a) Nefroblastom - epitelni tip	a) Ne - anaplasti ni nefroblastom i njegove varijante
b) Nefroblastom - stromalni tip	b) Nefroblastom - fokalna anaplazija
c) Nefroblastom - miješani tip	
d) Nefroblastom - regresivni tip	
e) Nefroblastom - fokalna anaplazija	
3) Visoko rizi ni tumori	3) Visoko rizi ni tumori
a) Nefroblastom - blastemski tip	a) Nefroblastom - difuzna anaplazija
b) Nefroblastom - difuzna anaplazija	b) Clear cell sarkom bubrega
c) Clear cell sarkom bubrega	c) Rabdoidni tumor bubrega
d) Rabdoidni tumor bubrega	

1.2.6 KLINI KA SLIKA

Wilms tumor se naj eš e javlja u dobi izme u druge i pete godine života, a 90% ih se dijagnosticira unutar šest godina života (50).

U prošlosti ve ina tumora se otkrivala kao bezbolna asimptomatska trbušna masa koju bi obi no prva primjetila majka (Slika 11). Danas, uz nove dijagnosti ke metode tumor se

otkriva u ranijoj fazi. U ranoj fazi mikrohematuriju možemo otkriti u tre ine bolesnika, a etvrtina može imati povišeni krvni tlak. Javlja se op a slabost, gubitak tjelesne težine i anemija. Za epljenje lijeve renalne vene širenjem tumora može uzrokovati varikokelu lijeve strane. Progresija u donju venu kavu može dovesti do stvaranja tromba i

posljedi no ošte enje rada srca (51). Rijetko, ruptura tumora može izazvati kliničku sliku akutnog abdomena.

Djeca s malformacijama urotrakta, Beckwith-Wiedemann sindromom, aniridijom, hemihipertrofijom, Denys-Drash sindromom, Perlmanovim sindromom i s pozitivnom familijarnom anamnezom zahtijevaju pažljivo praćenje radi povećane incidencije Wilms tumora u ovih skupina.



Slika 11. Nefroblastom koji svojom velikom veličinom deformira trbušnu stijenku i zauzima gotovo cijelu trbušnu šupljinu.

1.2.7. DIJAGNOSTIKA WILMS TUMORA

Dvije najčešće dijagnostičke metode koje danas koristimo su ultrazvuk na pretragu kojom otkrijemo inhomogenu solidnu masu i kompjuterizirana tomografija. Kalcifikacije se mogu naći u 20% slučajeva.

Intravenska pijelografija se danas malo koristi. Angiografija je korisna osobito kod obostranog tumora kada planiramo kirurški zahvat, a radi utvrđivanja anatomije krvnih žila. Magnetska rezonanca je korisna pri otkrivanju zahvaćenosti krvnih žila (Slika 12). Pluća su najčešće mjesto metastaza Wilms tumora.

Klasikno su se metastaze otkrivale rendgenskom slikom pluća, a danas je CT snimka pluća standard jer otkriva metastaze koje se vide samo na CT snimci (termin "CT-only lesions") (52). Za pravilnu procjenu kod nejasnih dijagnoza i praćenja recidiva bolesti korisne pretrage su PET - CT scan i MRI. Scintigrafija kostiju je potrebna kod bolesnika s clear cell sarkomom.

Analizom urina možemo dokazati hematuriju. Povećana vrijednost temeljnog faktora rasta fibroblasta (bFGF) u urinu bolesnika koji su operirani može upućivati na prisustvo ostatnog tumora ili recidiv (53).



Slika 12. MRI prikaz nefroblastoma desnog bubrega koji je u cijelosti izmjenjene strukture.

1.2.8. LIJEČENJE WILMS TUMORA

Liječenje se provodi kombiniranom terapijom koja se sastoji od kemoterapije, kirurškog zahvata i katkad zračenja. Ciljevi su intenziviranje tretmana kod bolesnika sa slabijom prognozom i redukciju tretmana kod onih koji imaju standardni rizik. Za liječenje tumora Wilms uvedena je prva multimodalna terapija i kako su postignuti izvanredni rezultati; najbolji od svih tumorskih skupina;

postala je model liječenja drugih zloćudnih tumora djece. Ohrabrujuća poboljšanja u preživljavanju svih vrsta tumora postignuta su u zadnjih tridesetak godina, tako da je preživljavanje od svih malignih tumora kod djece danas oko 75% (54). Poboljšani rezultati su vezani uz uspostavu dobro organiziranih multidisciplinarnih studija u kojima uključuju onkološkim centrima koji uključuju kombinirane metode liječenja – kirurško, kemoterapijsko i radioterapijsko. Preživljenje od ovog tumora se poboljšalo od 30% do 90% od 1930. do 2000. godine. Danas se u svijetu koristi nekoliko protokola u liječenju Wilms tumora: protokol Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP) koristi se u Europi i nekim državama izvan Europe, protokol National Wilms Tumor Study Group (NWTSG), sada Renal Tumors Committee of the COG (Children's Oncology Group) koji se koristi u Sjevernoj Americi, protokol United Kingdom Children Cancer Group (UKCCSG) koji se koristi u Velikoj Britaniji i protokol Brazilian Wilms Tumor Study Group koji se koristi u Brazilu. SIOP protokol naglašava važnost preoperativne terapije dok COG studije naglasak stavljaju na primarni kirurški zahvat.

1.2.8.1. Kirurško liječenje Wilms tumora

Kirurško liječenje ostalo je do danas odlučujućim i temeljnim kombinirane terapije i njime se nastoji radikalno ukloniti tumor (Slika 13).

Kirurški pristup tumoru je transabdominalni, transperitonealni ili torakoabdominalni.

Potrebna je kompletna eksploracija trbuha. Kontralateralna eksploracija bubrega nije potrebna osim ako se prilikom dijagnostičke obrade posumnjalo na obostrani tumor (55). Ukoliko postoji sumnja, eksplori se prvo kontralateralni bubreg da se isključi obostrani tumor, nakon čega slijedi nefrektomija s odstranjenjem tumora. Biopsija se radi za svaku sumnjivu obostranu leziju i ukoliko se dobije pozitivan nalaz postupa se prema protokolu za obostrani tumor. Kod obostranog tumora može se napraviti jednostrana nefrektomija s parcijalnom resekcijom drugog bubrega ili obostrana parcijalna resekcija, odnosno enukleacija dok je u rijetkim slučajevima uznapredovale bolesti potrebno napraviti obostranu nefrektomiju. Svaka ruptura tumora se mora pažljivo zabilježiti. Radikalna nefrektomija se radi zajedno s resekcijom uretera što je moguće distalnije. Preliminarna ligacija arterije i vene renalis se ne radi u slučaju da je tehnički teško izvediva. Kada se ispreparira renalna vena i donja vena kava moraju se pažljivo ispalpirati da se isključi tumorski trombus unutar lumena ili stijenke žile. Ako je tumor prisutan odstranjuje se u bloku s bubregom, po mogućnosti, prije ligiranja vene (56). Dokaz prisustva metastaza u hilusnim ili regionalnim limfnim vorovima je izuzetno važan radi određivanja stadija bolesti i planiranja terapije. Rutinski se vrši biopsija limfnih vorova hilusa, perikavalnih i periaortalnih limfnih vorova. Zahvaeni ili sumnjivi limfni vorovi se moraju odstraniti. Radikalna disekcija

limfnih vorova nije potrebna jer se kemoterapijom ili zra enjem postiže isti u inak (57). Kod rano otkrivenih tumora malih dimenzija nastoji se napraviti parcijalna resekcija ili enukleacija uz poslijeoperacijsko zra enje s 15 Gy i kemoterapiju.



Slika 13. Intraoperacijski nalaz nefroblastoma. Dobro je vidljiva pseudokapsula i proširene krvne žile.

1.2.8.2. Lije enje Wilms tumora zra enjem

Nefroblastom je radiosenzitivan tumor. Zra enje se danas primjenjuje u poslijeoperacijskoj fazi za sve tumore III stadija povoljne histološke slike, za I - IV stadij clear cell sarkoma te za II - IV stadij difuzno anaplasti nog tumora. Za djecu do 12 mjeseci života doza zra enja je 12 - 18 Gy - a, a za djecu stariju od 40 mjeseci 35 - 40 Gy - a.

1.2.8.3. Lije enje Wilms tumora kemoterapijom

Kemoterapija prema SIOP - u se provodi prije i poslije operacije. Prije operacije se daje aktinomycin D u dozi 15 μ g/kg tjelesne težine tri dana te petnaestog do sedamnaestog dana.

Vinkristin se daje u dozi od 1,5 mg/m² od prvog do osmog dana te petnaesti i dvadeset drugi dan. Operacija se radi dvadeset deveti dan. Rezultat preoperativne terapije je smanjenje tumora ili zna ajna nekroza tumora te dovo enje 56% bolesnika u prvi stadij bolesti (58). Preoperativna kemoterapija se ne daje dojen adi do šest mjeseci radi ve e citoksi nosti i manjeg rizika od pojave ve eg tumora. Naj eš i tumor bubrega u djece do šest mjeseci je mezoblasti ni nefrom koji ima izvrsnu prognozu i terapija izbora je operacija. Loši prognosti ki znaci nakon preoperativne kemoterapije su visoka mitotska aktivnost, anaplazija u histološkoj slici ili predominacija blastemske komponente (59). Protokol National Wilms Tumor Study Group (NWTS), koji se koristi u Sjevernoj Americi; preporu a nefrektomiju prije kemoterapije. Koristi i rizici prijeoperacijske kemoterapije ili odmah izvršene nefrektomije predmet su brojnih studija i rasprava a obuhva aju: a) davanje preoperativne kemoterapije kod benignog tumora; b) davanje kemoterapije za maligni tumor drugog histološkog tipa; c) modifikacija histologije tumora; d) promjena stadija bolesti. Podaci govore o krivoj prijeoperacijskoj dijagnozi u 4,8% slu ajeva (60).

Poslijeoperativna kemoterapija se nastavlja tjedan dana nakon kirurškog zahvata. Odre uje se prema riziku odre enih skupina, stadiju bolesti i histološkom tipu tumora. U prvom stadiju povoljne histološke slike daje se Aktinomycin D i Vinkristin prije navedenim slijedom. Za drugi i tre i stadij povoljne

histologije dodaje se adriamycin te u odre nim slu ajevima se provodi i radioterapija. U tre em stadiju nepovoljne histološke slike dodaje se Ifosamid. U razli itim kombinacijama daje se ciklofosmid, platimit, ifosamid, etopozid, karbopalatina i topotecan za tumore nepovoljne histologije drugog i tre eg stadija i metastatske tumore (61, 62, 63). Trogodišnje preživljavanje bez znakova recidiva iznosi 89% za sve stadije s povoljnom histološkom slikom, a 63% za one s nepovoljnom histološkom slikom.

1.2.8.4. Lije enje recidiva i kasne posljedice bolesti

Recidiv se obi no javlja unutar tri godine od po etka terapije. Postotak izlje enja kod recidiva tumora povoljne histologije je 50 - 60%, a nepovoljne histologije 20 - 30%. U djece koja imaju lokalni recidiv nakon nefrektomije smrtnost je 57%. Metastaze se javljaju naj eš e u plućima (80%), kostima i jetri. Rijetko ih nalazimo u mozgu, potkožnim limfnim vorovima i sjemenskom snopu.

Prognosti ki faktori kod recidivnog tumora obuhva aju njegov histološki nalaz u trenutku postavljanja dijagnoze i po etni stadij bolesti. Difuzna anaplazija ima 4,7 puta, a tre i stadij ima 3,2 ve i relativni rizik za pojavu recidiva. Mjesto recidiva, pojava recidiva unutar godine dana, ruptura tumora tijekom operacije pove avaju rizik 3,7 puta (64).

Kod metastaza u plućima daje se aktinomycin, vinkristin i adriamycin, a dobri terapijski rezultati primjenjeni su kod kombinacije

ifosfamida, karbopalatina i etoposida (65). Visoke terapijske doze citostatika uz autolognu transplantaciju mati nih stanica su se pokazale uspješne, ali je dokazano da sama intenzivna kemoterapija ima iste rezultate (64). U slu aju nepotpune kirurške resekcije primjenjuje se radioterapija (15 Gy na itava pluća).

Studije preživljavanja pokazuju oko 60% mladih ljudi imaju zdravstvene probleme vezane za terapiju, a minimalan ih broj umire (66).

U posljednje dvije dekade preživljenje djece lije ene zbog Wilms tumora je 85%. To je omogućilo studije o kasnim posljedicama terapije koja je provedena kod tih bolesnika. Sadašnji napori usmjereni su na smanjenje morbiditeta, naro ito kod nižih stadija bolesti sa smanjenjem terapije. Tako danas bolesnici s nižim stadijem bolesti primaju kombiniranu terapiju od dva lijeka (Aktinomycin D i Vinkristin) uz nefrektomiju i uz minimalne kasne posljedice. U višim stadijima bolesti i kod recidiva uvode se antraciklini uz radioterapiju (abdomena i pluća), alkiliraju i agensi, etoposid i karboplatin. Oni imaju puno ve i rizik od kasnih posljedica.

Klini ki signifikantne kasne posljedice obuhva aju kardiotoksi nost, sterilitet, renalnu disfunkciju, fibrozu pluća ili razvoj dobro udnih ili zlo udnih sekundarnih tumora. Naj eš e se javljaju zlo udni koštani tumori – osteosarkomi, nakon 10 - 20 godina, u 10 - 15% bolesnika. Na kostima se mogu javiti i poreme aji rasta, deformiteti pramena mišića i atrofijom (66).

1.3. Ki-67

Ki-67 antigen je bjelančevina stanične jezgre koji je definiran reaktivnošću u s monoklonskim antitijelom, klon MIB 1 (67). Upotrebljava se kao proliferacijski marker kojim možemo pratiti rast i razvoj većine zloćudnih tumora (68). Striktno je vezan za diobu stanice i pojavljuje se tijekom G1, S, G2 i M faze staničnog ciklusa, dok stanice koje miruju i koje se ne dijele (G0 faza) nemaju ekspresiju Ki-67 antigena. Prisutan je u svim stanicama, normalnim i tumorskim tkivima, koje se dijele i ima ekspresiju Ki-67 tijekom cijelog staničnog ciklusa (69). U novije vrijeme monoklono antitijelo MIB-1 je razvijeno upotrebom rekombinantnih dijelova Ki-67 jezgričnog antigena kao imunogena. MIB-1 prepoznaje Ki-67 jezgrični antigen koji je povezan s staničnom proliferacijom i nalazi se tijekom staničnog ciklusa osim u mirnoj (G0) fazi (70).

1.3.1. Ki-67 I TUMORI BUBREGA

Napredak u istraživanju staničnog ciklusa doveo je do identifikacije proteinskih markera koji su odgovorni za regulaciju stanične proliferacije. Ki-67 (MIB-1) ima ekspresiju u normalnom tkivu bubrega, kao i u tri glavne komponente tumora Wilms (blastemska, epitelna i stromalna). Klinička vrijednost Ki-67 za prognozu Wilms tumora je još predmet rasprava kao prognostička vrijednost proliferacijskog indeksa u blastemskoj komponenti Wilms tumora (71).

LITERATURA

1. Gurney JG, Bondy ML. Epidemiology of Childhood and adolescent cancer. In Textbook of pediatrics (Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds) 17th ed, Saunders, 2003, 1679 - 81.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics 2006. *Ca Cancer J Clin* 2006; 56:106 - 30.
3. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 2000. *Ca Cancer J Clin* 2000; 50:7 - 11.
4. Becwith JB. Histopathology of pediatric renal tumors. In: Recent advances in histopathology of tumors. Seminar n. 32, Istituto Nazionale Tumori of Milan, Italy, December; 1991; 12 - 3.
5. Broecker B. Non-Wilms renal tumors in children. *Urologic Clinics of North America* 2000; 27: 172 - 81.
6. Rance TF. Case of fungus hematodes of the kidneys. *Med Phys J* 1814; 32: 19 - 25.
7. Wilms M. Die Mischgeschwülste der Niere. Leipzig, A Georgi, 1899.
8. Ćepulić M, Izmić A, Petković I, i sur. Nefroblastom-Wilmsov tumor (WT). *Pediatr Croat* 2003; suppl 3: 75 - 80.
9. Berstein L, Linet M, Smith MA, Olshan AF. Renal tumors; in Ries LAG, Smith MA, Gurney JG (eds): *Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975 - 1995*. National Cancer Institute, SEER Program, Bethesda, NIH Publ No 99 - 4649, 1999, 79 -90.
10. Marsden HB, Steward JK. *Tumors in children*. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1976; 327 - 61.
11. Young JL, Ries LG, Silverberg E. Cancer incidence, survival and mortality for children less than 15 years of age. *Cancer* 1986; 58: 598 - 602.
12. Gurney JG, Bondy ML. Epidemiology of childhood cancer; in Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, ed 5. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 1 - 13.
13. Terenziani M, Spreafico F, Collini P, Piva L, Perotti D, Podda M, Gandola L, Massimino M, Cereda S, Cefalo G, Luksch R, Casanova M, Ferrari A, Polastri D, Valagussa P, Fossati-Belani F. Adult Wilms tumor: a monoinstitutional experience and review of the literature. *Cancer* 2004; 101: 289 - 93.
14. Reutshouser EC, Huff V. Familial Wilms tumor. *Am J Med Genet* 2004; 129: 29 -34.
15. Knudson AG, Strong LC. Mutation and cancer: A model for Wilms tumor of the kidney. *J Nat Cancer Inst* 1972; 48: 313 - 24.
16. Koufos A, Grundy P, Morgan K, i sur. Familial Beckwith-Wiedemann syndrome and a second Wilms tumor locus both map to 11p15,5. *Am J Hum Genet* 1989; 44: 711 - 9.
17. Slatter RM. The cytogenetics of Wilms tumor. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 19: 37 - 41.
18. Koufos A, Hansen MF, Copeland NG i sur. Loss of heterozygosity in three embryonal tumors

- suggests a common pathogenetic mechanism. *Nature* 1985; 316: 330 - 8.
19. Call KM, Glasser T, Ito CY, Buckler AJ, Pelletier J, Haber DA i sur. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gena at the human chromosome 11 Wilms tumor locus. *Cell* 1990; 60: 509 - 20.
 20. Pritchard-Jones K, Hastie ND. Wilms tumor as a paradigm for the relationship of cancer to development. *Cancer Surveys* 1990; 9: 554 - 78.
 21. Kikuchi H, Akasaka Y, Nagai T i sur. Genomic changes in the WT1-gene (WT1) in Wilms tumors and their correlation with histology. *Am J Pathol* 1992; 140: 78-6.
 22. Grundy PE. Molecular basis of Wilms tumor. In: Walterhouse DO, Cohen SL, editors. *Diagnostic and therapeutic advances in pediatric oncology*. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1997; 101 - 23.
 23. Grundy PE, Telzerow PE, Breslow N. Loss of heterozygosity for chromosomes 16q and 1p in Wilms tumor predicts adverse outcomes. *Cancer Research* 1994; 54: 2331.
 24. Slater RM, Mannens MMA. Cytogenetics and molecular genetics of Wilms tumor of childhood. *Cancer Genet Cytogene* 1992; 61: 111 - 121.
 25. Brodeur GM. Genetics of emrbrional tumors of childhood: retinoblastoma, Wilms tumor and neuroblastoma. *Cancer Sureys* 1995; 25: 67-99.
 26. Mason BE, Goodfellow PJ, Grundy PE, i sur. 16q loss of heterozygosity and microsatellite instability in Wilms tumor. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 891 - 897.
 27. Baker SJ, Fearon ER, Nigre JM, i sur. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244: 217 - 221.
 28. Cheah PL, Looi LM, and Chan LI. Immunohistochemical expression of p53 proteins in Wilms tumors: a possible association with the histological prognostic parameter of anaplasia. *Histopathology* 1996; 28: 49 - 54.
 29. Bardeesy N, Falkoff D, Petruzzi MJ, i sur. Anaplastic Wilms tumor, a subtype displaying poor prognosis, harbours p53 mutations. *Nat Genet* 1994; 7:91 - 97.
 30. Maiti S, Alam R, Amos CI, Huff V. Frequent association of -catenin and WT1 mutations in Wilms tumors: *Cancer Res* 2000; 60: 6288 - 92.
 31. Sing KP, Roy D. SKCG-1: a new candidate growth regulatory gene at chromosome 11q23.2 in human sporadic Wilms tumours. *B J Cancer* 2006; 94: 524 - 32.
 32. Dome JS, Coopes MJ. Recent advances in Wilms tumor genetics. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14:5 - 11.
 33. Castellino SM, McLean TW. Pediatric genitourinary tumors. *Curr Opin Oncol* 2007; 19: 248 - 53.
 34. Grundy PE, Breslow NE, Li S i sur. Loss of hererozygosity for chromosomes 1p and 16q is an adverse factor in favorable-histology Wilms tumor: a report from the National Wilms Study Group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7312 - 21.
 35. Pendergrass TW. congenital anomalies in children with Wilms Tumor. *Cancer* 1976; 37: 403 - 08.
 36. Porteus MH, Narkool P, Neuberg D et i sur. Characteristics and outcome of children with Beckwith - Wiedemann syndrome and Wilms tumor.a report from the National Wilms study Group. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2026 - 31.
 37. Fischbasch BV, Trout KL, Lewis J i sur. WAGR syndrome: a clonical review of 54 cases. *Pediatrics* 2005; 116: 984 - 988.
 38. Büyükpamukcu M, Kutluk K, Büyükpamukcu N i sur. Renal tumors with pseudohermaphroditism and glomerular disease. *Acta Oncol* 1992; 31: 745 -748.
 39. National Cancer Institute. *Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) Pediatric Monograph*. National Cancer Institute, Bethesda, 2004.
 40. Coppes MJ, Arnold M, Becwith JB i sur. Factors affecting the risk of contralateral Wilms tumor development: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Cancer* 1999; 85: 1616 - 25.
 41. Hartman DJ, MacLennan GT. Wilms Tumor. *J Urol* 2005; 173: 2147.
 42. Pritchard-Jones K, Vujanic G. Multiple pathways to Wilms tumor: how much is genetic? *Pediatric Blood Cancer* 2006; 47: 232 - 34.
 43. Murphy WM, Grignon DJ, Perlman EJ. Kidney tumors in children. In: *Atlas of tumor pathology, 4th series, Fascicle 1*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1996; 47 - 9.
 44. Qualman SJ, Bowen J, Amin MB i sur. Protocol for the examination of specimens from patients with Wilms tumor (nephroblastoma) or other renal tumors of childhood. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 1280 - 89.
 45. Bonadio JF, Storer B, Norkool P i sur. Anaplastic Wilms tumor: clinical and pathologic studies. *J Clin Oncol* 1985;3: 513 - 20.
 46. Kim S, Chung DH. Pediatric solid malignancies: neuroblastoma and Wilms tumor. *Surg Clin North Am* 2006; 86: 476 - 87.
 47. Weirich A, Leuschner I, Harms D i sur. Clinical impact of histologic subtypes in localized non - anaplastic nephroblastoma treated according to the trial and study SIOP-9/GPOH. *Ann Oncol* 2001; 12: 311 - 19.
 48. Delemarre JF, Sandstedt B, Harms D i sur. The new SIOP (Stocholm) working classification of renal tumors of childhood. *International Society of Pediatric Oncology. Med Pediatr Oncol* 1996; 26: 145 - 46.
 49. Neville HL, Ritchey ML. Wilms tumor. Overview of National Wilms Tumor Study Group results. *Urol Clin North Am* 2000. 27: 435 - 42.
 50. Breslow NG, Becwith JB, Ciol M, Sharples K. Age distribution of Wilms tumor: report from the National Wilms Tumor Study. *Cancer Res* 1988; 48: 1653 - 57.
 51. Sabio: Intracardiac extension of Wilms tumor. A recognizable complication. *Clin Pediatr* 1981; 20: 359.
 52. Owens CM, Vejs Pa, Pritchard J i sur. Role of chest computed tomography at diagnosis in the

- management of Wilms tumor: a study of United Kingdom Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2768 - 73
53. Argenta PA, Lyn RY, Sullivan KM: Basic fibroblast growth factor is a Wilms tumor marker. *Surg Forum* 1994; 45: 789.
 54. Breslow N, Olshan A, Beckwith JB, Green DM. Epidemiology of Wilms tumor. *Med Ped Oncol* 1993; 21: 172 - 81.
 55. Ritchey ML, Green DM, Breslow N. Accuracy of current imaging modalities in the diagnosis of synchronous bilateral Wilms tumor. A report from the National Wilms Tumor Study Group. *Cancer* 1995; 75: 600 - 4.
 56. Ritchey ML, Kelalis P, Haase G. Preoperative therapy for intracaval and atrial extension of Wilms Tumor. *Cancer* 1993; 71: 4104 - 10.
 57. Shamberger RC, Guthrie KA, Ritchey ML, i sur. Surgery related factors and local recurrence of Wilms tumor in the National Wilms Tumor Study - 4. *Annals of Surgery* 1999; 229: 292 - 297.
 58. Habrand JL. Improvement in the Management of Wilms tumor. A report from the SIOP Nephroblastoma Committee with an Update of SIOP 6, VI/89SIOP XXI Meeting, Prag, 1989.
 59. Schmidt D, Kramer A, Leuschner I. Tumor regression after preoperative chemotherapy according to SIOP 9/GPO. *Med Ped Oncol* 1992; 20: 433.
 60. Zoeller G, Pekrun A, Lakomek M, i sur. Wilms tumor: The problem of diagnostic accuracy in children undergoing preoperative chemotherapy without histological tumor verification. *J Urol* 1994; 151: 169 - 71.
 61. Metzger ML, Stewart CF, Freeman BB i sur. Topotecan is active against Wilms tumor: results of multi-institutional phase II study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3130 - 6.
 62. Miser J, Krailo M, Hammond GD. The combination of ifosfamide, etoposide and mesna: A very active regimen in the treatment of recurrent Wilms tumor (abstract). *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1993;12: 417.
 63. Abu - Ghosh AM, Krailo MD, Goldman SC i sur. Ifosfamide, carboplatin and etoposide in children with poor-risk relapsed Wilms tumor: a Children's Cancer Group report. *Ann Oncol* 2002; 3: 460 - 9.
 64. Dome JS, Liu T, Krasin M i sur. Improved survival for patients with recurrent Wilms tumor: the experience at St. Jude Children's Research Hospital. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24:192 - 98.
 65. Curry HL, Parkes SE, Powell JE i sur. Caring for survivors of childhood cancers: the size of the problem. *Eur J Cancer* 2006; 42: 501 - 8.
 66. Evans AE, Norkool P, Evans I, i sur. Late effects of treatment for Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *Cancer* 1991; 67: 331 - 6.
 67. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, i sur. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710 - 15.
 68. De Riese WT, Crabtree W, Allhoff E, i sur. Prognostic significance of Ki-67 immunostaining in nonmetastatic renal cell carcinoma. *J Clin. Oncol* 1993; 11: 1804 - 8.
 69. Catoretti G, Becker MH, Key G, i sur. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992; 168: 357 - 63.
 70. Ghanem MA, Van der Kwast TH, Sudaryo MK, Mathoera RB, van den Heuvel MM, Al-Doray AA, Nijman RM, van Steenbrugge GJ. MIB-1 (Ki-67) proliferation index and cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (Kip1) protein expression in nephroblastoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10: 591 - 97.
 71. Juri I, Pogoreli Z, Kuzmi -Prusac I, Bio i M, Jakovljevi G, Stepan J, Župan i B, uli S, Krušlin B. Expression and prognostic value of the Ki-67 in Wilms' tumor: experience with 48 cases. *Pediatr Surg Int* 2010; 26: 487-493.