

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**WILMS TÜMÖRÜNDE
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE VARLIĞININ
VE DNA ONARIM GENLERİNDEN
MLH1, PMS2, MSH2, MSH6'NİN
DOKU EKSPRESYON DÜZEYLERİNDEKİ
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. A.GÜLDEN DİNİZ ÜNLÜ

TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ

İZMİR- 2011

TEZ KODU: DEÜ.HSI.PhD-2007970095

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**WILMS TÜMÖRÜNDE
MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE VARLIĞININ
VE DNA ONARIM GENLERİNDEN
MLH1, PMS2, MSH2, MSH6'NİN
DOKU EKSPRESYON DÜZEYLERİNDEKİ
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ

Doç. Dr. A. GÜLDEN DİNİZ ÜNLÜ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. NUR OLGUN

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Daire Başkanlığı tarafından
"2010 KB SAG 038" numaralı proje olarak desteklenmiştir

TEZ KODU: DEÜ.HSI.PhD-2007970095

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onkoloji Anabilim Dalı,
Temel Onkoloji Doktora programı öğrencisi **Ayşe Gülden DİNİZ ÜNLÜ**, "**WILMS
TÜMÖRÜNDE MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE VARLIĞININ VE DNA ONARIM
GENLERİNDEN MLH1, PMS2, MSH2, MSH6'NİN DOKU EKSPRESYON
DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**" konulu Doktora Tezini
22,11,2011 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.



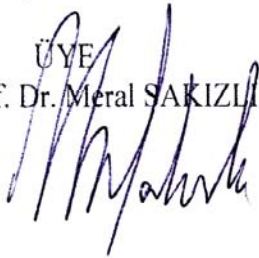
BAŞKAN
Prof. Dr. Nur OLGUN



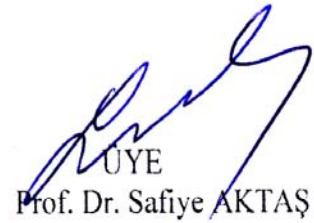
ÜYE
Prof. Dr. Uğur YILMAZ



ÜYE
Prof. Dr. Nazan ÇETİNGÜL



ÜYE
Prof. Dr. Meral SAKIZLI



ÜYE
Prof. Dr. Safiye AKTAŞ

ÖN BÖLÜM	i
İçindekiler.....	i
Tablo Dizini.....	iii
Şekil Dizini.....	iii
Resim Dizini.....	iv
Kısaltmalar.....	v
Teşekkür.....	vi
ANA BÖLÜM	1
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1.0 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2.0 GENEL BİLGİLER	
2.1. Wilms Tümörü (Nefroblastom).....	5
2.2. Mikrosatellitler ve Mikrosatellit İnstabilite (MSI) kavramı.....	12
2.3. Yanlış eşleşme tamir (YET) genleri ve karsinogenez.....	13
3.0 GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	16
3.1. Araştırmanın tipi.....	16
3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı.....	16
3.3. Araştırmanın evreni ve örnekleme.....	16
3.4. Araştırmanın materyali.....	16
3.5. Araştırmanın değişkenleri	16
3.6. Veri toplama yöntemleri.....	18
3.6.1. Araç ve Gereçler	
3.6.1.1. Tezde kullanılan gereçler.....	18
3.6.1.2. Tezde kullanılan solüsyonlar.....	19
3.6.1.3. Kitler ve reaktifler.....	19

3.6.2.1. İHK'sal olarak YET gen ürünü proteinlerinin araştırılması	20
3.6.2.1.1 Genel ilke.....	20
3.6.2.1.2 Uygulama basamakları.....	21
3.6.2.2.Arşiv bloklarından DNA ekstraksiyonu ve PCR çalışması.....	20
3.6.2.2.1 Genel ilke.....	20
3.6.2.2.1 Uygulama basamakları.....	21
3.6.2.3. RT-PCR melting peak ile MSİ araştırması.....	23
3.6.2.3.1. Genel ilke.....	23
3.6.2.3.2. Uygulama basamakları.....	23
3.6.2.4. MSİ belirleyici gen lokuslarında FCE ile MSİ araştırılması.....	25
3.6.2.4.1. Genel ilke.....	25
3.6.2.4.2. Uygulama basamakları.....	25
3.7. Araştırmanın planı ve takvimi.....	29
3.9. Araştırmanın sınırlılıkları.....	30
3.8. Veri değerlendirme.....	26
3.10. Etik Kurul Raporu.....	30
4.0 BULGULAR	
4.1.Olgulara genel bakış.....	32
4.2.İmmünohistokimya, RT-PCR melting peak ve FCE bulguları.....	33
4.3.İstatistiksel bulgular.....	38
5.0 TARTIŞMA	43
6.0 SONUÇ ve ÖNERİLER.....	49
SON BÖLÜM	50
7.0. KAYNAKLAR.....	50
8.0 EKLER.....	56
8.1. ETİK KURUL RAPORU.....	54
8.2. ÖZGEÇMİŞ ve YAYIN LİSTESİ.....	56
8.3. TEZDEN YAPILAN YAYINLAR.....	69

TABLO DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 1	WT evrelemede kullanılan NWTSG evreleme sistemi.....	11
Tablo 2	WT'nde önerilen tedavi şeması.....	11
Tablo 3	Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri	34
Tablo 4	Olguların MS durumuna göre irdelenmesi.....	38
Tablo 5	Olguların YET ekspresyon defektine göre irdelenmesi.....	38

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 1	MSİ'nin gelişim mekanizması.....	14
Şekil 2	LS değerlendirmesinde kullanılan Bethesta algoritması.....	14
Şekil 3	İmmün histokimyasal boyama tekniği.....	18
Şekil 4	PCR işleminin şematik görünümü.....	21
Şekil 5	RT-PCR melting peak ile MSİ görüntüleme.....	24
Şekil 6	FCE ile MSİ görüntüleme.....	26
Şekil 7	Olguların cinsiyete göre dağılımı.....	31
Şekil 8	Olguların evreye göre dağılımı.....	31
Şekil 9	RT-PCR melting peak sonuçları.....	35
Şekil 10	FCE sonuçları.....	36
Şekil 11	Cinsiyet ve evre arasındaki ilişki.....	37
Şekil 12	MS durumu ve evre arasındaki ilişki.....	39
Şekil 13	MS durumu ve sağ kalım ilişkisi.....	39
Şekil 14	YET ekspresyonu ve evre arasındaki ilişki.....	40
Şekil 15	YET ekspresyonu ve sağ kalım ilişkisi.....	40
Şekil 16	MS durumuna göre sağkalım eğrisi.....	41
Şekil 17	YET protein ekspresyonuna göre sağkalım eğrisi.....	41

RESİM DİZİNİ

Resim No		Sayfa No
Resim 1	Wilms Tümörünün histopatolojik özellikleri.....	10
Resim 2	Bloklardan demonstratif doku alanlarının seçilmesi.....	17
Resim 3	Roche Light Cycler 480II cihazı.....	24
Resim 4	Beckmann DNA squencer cihazı.....	26
Resim 5	WT ve böbrek dokusunda YET protein ekspresyonu.....	28
Resim 6:	Kolon tümörü ve normal dokuda YET protein ekspresyonu.....	28
Resim 7	Kolon karsinomunda YET protein ekspresyon paterni.....	33
Resim 8	WT'ünde YET protein ekspresyon paternleri.....	33

KISALTMALAR:

WT: Wilms Tümörü

MSİ: Mikrosatellit İnstabilite

MSS: Mikrosatellit stabilite

NWTSG: National Wilms Tumor Study Group

SIOP: International Society of Pediatric Oncology

TPOG: Türk Pediatrik Onkoloji Grubu

MMR: Mismatch Repair

YET: Yanlış eşleşme tamiri

LS: Lynch Sendromu

FCE: fluorescence capillary electrophoresis, floresan kapiller elektroforez

İHK: İmmünohistokimya

HNPCC: Hereditary nonpolyposis colon cancer

MLH1: MutL Homolog1

MSH2: MutS homolog 2

MSH6: MutS homolog 6

PMS2: Postmeiotic segregation increased, Saccharomyces cerevisia 2

BUCH: Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi

ABC: Avidin biotin kompleksi

HRP: Horseradish peroxidase: Bayır turbu peroksidazı

TEŞEKKÜR

DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Doktora Programı içerisinde tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında ilgi, destek ve bilimsel katkılarından dolayı; Sayın Prof. Dr. Nur Olgun'a, Sayın Prof. Dr. Safiye Aktaş'a, Sayın Prof. Dr. Meral Sakızlı'ya, İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji ve Onkoloji Çalışanlarına, DEÜ Onkoloji Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Münir Kınay ile tüm Onkoloji Enstitüsü çalışanlarına ve çalışmalarımın her aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen eşim Radyasyon Onkolojisi Uzmanı Dr. İsmet Ünlü'ye teşekkür ederim.

Doç. Dr. A. Gülden Diniz Ünlü
İzmir, 17 Ekim 2011

WILMS TÜMÖRÜNDE MİKROSATELLİT İNSTABİLİTE VARLIĞININ
VE DNA ONARIM GENLERİNDEN MLH1, PMS2, MSH2, MSH6'NİN
DOKU EKSPRESYON DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. A. Gülden Diniz Ünlü,

Patoloji, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı

Yazışma Adresi: İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Patoloji Laboratuvarı

ÖZET

Amaç: Lynch sendromuyla ilişkili kolorektal kanserlerin patogenezindeki rolü ayrıntılı olarak bilinen mikrosatellit instabilite (MSİ) ve yanlış eşleşme tamir (YET) genlerinin Wilms tümöründeki (WT) etkisi kapsamlı olarak araştırılmamıştır. Çalışmamızın amacı MSİ ve YET proteinlerinin WT'ündeki prognostik önemini belirlemektir.

Yöntem: Nefroblastomlu 45 olgu çalışma kapsamına alındı. YET protein ekspresyonları arşiv bloklarından yapılan kesitlerde immünohistokimyasal yöntemle incelendi. Tüm olguların parafin bloklarından çıkartılan tümör ve normal böbrek dokularından ekstrakte edilen DNA'ların; BAT25, BAT26, NR21, NR24, mono27, penta D ve PentaC belirleyici genlerinde; real time PCR melting analiz ve floresan kapiller elektroforez (FKE) yöntemleriyle mikrosatellit instabilite varlığı irdelendi. Tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Düşük derecede MSİ 6 olguda (%13,3) gözlemlendi. MSİ ile evre ve sağkalım gibi bazı prognostik faktörler arasında istatistiksel korelasyon saptanmadı. On dokuz tümörde (%42,2) MLH1, PMS2, MSH2 veya MSH6 protein ekspresyonlarından bazılarında kayıp vardı. YET protein defektiyle; tümör boyutu ($p=0,021$), evre ($p=0,017$) ve sağkalım ($p<0.01$) arasında korelasyon gözlemlendi. Benzer şekilde MSİ ile tümör boyutu arasında ilişki saptandı ($p=0,046$). Fakat MSİ ve YET proteinleri arasında ilişki yoktu ($p=0,198$).

Sonuç: Bu çalışma; YET gen defektine bağlı MSİ'nin, Wilms tümörlerinin küçük bir kısmının patogenezinde etkisi olabileceğini göstermiştir. Fakat MSİ ile YET proteinlerinin doku ekspresyonları arasında uyum olmaması; YET genlerinin WT gelişiminde farklı bir mekanizma ile etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: MSİ, YET genleri, Wilms tümörü, nefroblastom.

EVALUATION OF MICROSATELLITE INSTABILITY AND TISSUE EXPRESSION
LEVELS OF MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 PROTEINS IN WILMS TUMOR

A. Gülden Diniz Ünlü, MD, Associate Prof

Specialist of Pathology, Infection Diseases and Clinical Microbiology

Corresponding Adress: Izmir Dr.Behcet Uz Children's Hospital, Pathology Laboratory

ABSTRACT

Objective: The importance of microsatellite instability (MSI) and mismatch repair genes (MMR) has not been fully elucidated in Wilms tumor (WT) although it was well defined in colorectal cancer in concept of Lynch syndrome. The aim of this study was to determine the prognostic value of MSI and MMR proteins in WT.

Method: This study included 45 nephroblastoma cases of childhood. The expressions of MMR proteins were determined using an immunohistochemical method on archival tissue sections. Real Time PCR melting analysis and fluorescence capillary electrophoresis (FCE) were performed for MSI representing BAT25, BAT26, NR21, NR24, mono27, penta D and PentaC genes on the extracted DNA comparing tumor and normal tissues for each case. All results were evaluated statistically.

Results: Low MSI was observed in 6 cases (13.3%). There were no statistical correlations between with MSI and some clinical prognosis factors such as stage and survive. Nineteen tumors (42.2%) showed loss of protein expressions of MLH1, PMS2, MSH2 or MSH6. MMR protein defects were correlated with size of tumor ($p=0.020$), stage (0.019) and survival ($p<0.01$). Similarly MSI was correlated with the size of the tumor ($p=0.046$). But there was no relationship between MSI and MMR protein defects ($p= 0.198$).

Conclusion: This study showed that a small proportion of WT might be associated with MSI as defects of DNA mismatch repair genes in pathogenesis. But there was no concordance with the tissue expression of MMR proteins and MSI. These findings suggest that the MMR genes may play an important role in WT evolution with different pathway.

Key Words: MSI, MMR genes, Wilms Tumor, nephroblastoma.

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Wilms tümörü (WT) çocukluk çağında en sık görülen malign renal tümör olup; tüm pediatrik kanserlerin yaklaşık %6'sını kapsar (1-3). On yaş altındaki çocuklarda gelişen malign tümörler arasında sıklık açısından 4. sıradadır (1-5). Multidisipliner yaklaşım ve gelişmiş tedavi modaliteleri ile hastalık seyrinde önemli başarı elde edilmiş olup; 1930'larda %30 kadar olan sağkalım oranı günümüzde %90 civarına ulaşmıştır (6- 9). Bugüne dek Wilms tümörü gelişimiyle ilgili olabilecek çok sayıda gen keşfedilmiş olup; bunlardan en kayda değer olanları 6 adet WT geni ile BRCA2, HACE1 ve GPC3 genleridir (9-13). Ancak bu genler tüm olguların etiopatogenezine ışık tutmamaktadır.

Ökaryot genomdaki tekrarlayan DNA dizilerinin rekombinasyon ve mutasyona yatkın bölgeler oldukları, DNA'nın katlanması ile korunmasında görevli olabilecekleri bilinmektedir (14). Mikrosatellitler ökaryot genomun içinde bol miktarda bulunan, oldukça polimorfik DNA tekrarlarıdır (15). DNA replikasyonu sırasında oluşan hatalar özellikle DNA polimeraz tarafından hatasız kodlanması zor olan ve dizi kayma olasılığı fazla olan mikrosatellit bölgelerinde daha sıklıkla oluşmaktadır (14-16).

Yanlış eşleşme tamir (YET) mekanizması, DNA replikasyonu esnasında meydana gelen ve çift sarmalda anormal boyutlara neden olan bazların hatalı eşleşmesi şeklindeki hataları düzeltir (17). Çeşitli kanser tiplerinde; replikasyon sırasında oluşan DNA nükleotid yanlış eşleşmelerini (mismatch) fark etme ve düzeltme yeteneğinde kayıp oluşmaktadır (18). Bu tip tümörlerde YET bozukluğunun karsinogenezde ilk aşama olduğu düşünülmektedir (18, 19). Özellikle Lynch Sendromu (LS) komponenti olan kolorektal tümörlerin gelişiminde, YET gen defektlerinin etkisi kanıtlanmıştır (20,21). Ancak wilms tümöründe MSI ve YET genleriyle ilgili çalışmalar çok sınırlıdır (22- 24).

Bu projenin amacı;

- Seçtiğimiz kanser türü olan WT'nün patogenezine farklı bir yaklaşımda bulunmak,
- WT'nde MSI'nin var olup olmadığını belirlemek,

- WT'nde MSI ile ilişkili YET gen ürünleri olan MLH1, PMS2, MSH2, ve MSH6 proteinlerinin doku ekspresyon düzeyindeki değişiklikleri araştırmak,
- WT ile MSI varlığı arasında ilişkiyi ve saptanan değişikliklerin WT patogenezindeki rolünü irdelemek, olarak sıralanabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Wilms Tümörü (Nefroblastom)

Nefroblastom, çocukluk döneminin en sık görülen malign renal tümörü olup, genellikle 2- 5 yaş arasındaki çocuklarda ortaya çıkar (1-4). İlk kez tanımlayan Alman cerrah Max Wilms'e atfen adlandırılmış olup, günümüzde de Wilms Tümörü (WT) şeklindeki eponimik isimlendirme yaygın olarak kullanılmaktadır (1-4). Hemen daima 10 yaş altındaki çocuklarda gözlenmekle birlikte, erişkin olgularda da bildirilmiştir (25). Yaklaşık % 5- 10 kadarı bilateral olup; bilateral tümörler eş zamanlı (senkron) ya da peşpeşe (metakron) gelişebilirler (1-3). Birçok hasta elle hissedilen büyük karın kitlesi, hematüri, karın ağrısı, hipertansiyon, ateş veya barsak obstrüksiyonu yakınmasıyla başvurur (1). WT gelişiminde etkili olabilecek birçok çevresel risk faktörü öne sürülmüş olsa da kanıtlanamamıştır (6). Ancak yapılan çalışmalar sonucu WT, en az 3 konjenital malformasyon grubuyla ilişkili bulunmuştur (10). Sendromik olgular, tüm WT'lerinin ufak bir grubunu (%10) oluştursalar da; tümör patogenezinin anlaşılmasında çok yararlıdırlar (1,3,4,6,10).

WT1 gen delesyonuna bağlı gelişen WT insidansı %30 olan WAGR Sendromu (WT, Aniridi, Genital anomaliler, Mental Retardasyon), yine WT1 genindeki nokta mutasyonu sonucu gelişen, WT insidansı %90'ın üzerinde olan Denys- Drash Sendromu (gonadal disgenezi, psödohermafroditizm, nefropati), genetik patoloji henüz bilinmeyen, WT insidansı %33 olan Perlman Sendromu (prenatal abartılı büyüme, fasiyel dismorfizm, kriptorşidizm ve renal displazi), 13q12 geninde lokalize BRCA2'de biallelik mutasyonla karakterize, WT insidansı %20 dolayındaki Fankoni Anemisi D1 (kısa boy, radial ray defekti ve kemik iliği yetmezliği), Xq26'da lokalize GPC3 gen mutasyonu ile karakterize %10 WT riski taşıyan Simpson Golabi Behmel Sendromu (abartılı büyüme, kaba yüz görünümü) ve WT2 gen defekti olan, %5 WT insidanslı Beckwith- Wiedemann Sendromu (organlarda büyüme, hemihipertrofi, böbrekte medüller kistler ve adrenal sitomegali ve farklı organlardaki tümör gelişme riskinde artış) WT'ne eşlik eden sendromlardır (1-4,6,10,26). Günümüze dek WT gelişimiyle ilgili olabilecek çok sayıda gen keşfedilmiş olup; bunlardan en kayda değer olanları WT1 (11p13), WT2 (11p15), WT3 (16q), WT4 (17q12-q21), WT5 (7p15-p11.2), X kromozomunda lokalize WTX, BRCA2 (13q12), HACE1 (6q21) ve

GPC3'dür (9-13). İlk bulunan ve Wilms tümöründeki işlevi en yaygın çalışılan WT1 geni; tıpkı p53 ve RB geni gibi tümör baskılayıcı bir genidir (6, 11, 26) . Önceleri WT de Knudson'ın iki vuruş hipotezinin paradigmalarından biri olarak ele alınmıştır. Ancak günümüzde WT'nün tek bir genin fonksiyon kaybıyla açıklanamayacak derecede kompleks ve heterojen bir patogenezi olduğu anlaşılmıştır (6).

Knudson'un two-hit hipotezini desteklediği bilinen 2 örnek WAGR ve Denys Drash sendromlarıdır (26). Bu sendromların komponenti olarak gelişen bilateral WT'lerinin tümü ve tek taraflı olanların da yaklaşık 1/3'i herediter olup; her iki normal allelin kaybı WT gelişimi için gereklidir (6,10,26). Kalıtsal olanlarında bir allel defektif formda kalıtılır (first hit) ve bu nedenle yalnızca edinsel bir mutasyon yeterlidir (second hit). WAGR sendromunda 11p13 bölgesindeki WT1 geni ve PAX6 geninde mutasyonlar vardır. Eğer salt PAX6 mutasyonu varsa otozomal dominant aniridi olur, WT gelişmez (26). Herediter WT1 delesyonu (first hit) olanlarda, diğer WT1 allelinde de nonsense veya frameshift bir mutasyonun olması (second hit) WT'nü geliştirir (26). WAGR sendromlu kişilerin 1/3 kadarında WT gelişir (8,11). Denys- Drash sendromunda ise bu oran çok yüksek olup; karakteristik özelliği glomerüllerde diffüz mezangial sklerozun varlığıdır (8,26). Bu sendromda WT1 geninde dominant negatif missense mutasyon vardır (26). Bu mutasyon diğer alleli de etkiler ve sadece tümör gelişimini tetiklemekle kalmayıp; WT1 geni, böbrek ve gonadların gelişimini indükleyen bir transkripsiyon faktörünü kodladığı için ürogenital gelişimi de bozar (6,8,10,26). Bu olgularda başta gonadoblastom olmak üzere germ hücreli tümörler sıklıdır (8). Beckwith Wiedemann sendromunda ise; insülin benzeri gelişme faktörü 2 (IGF2) geni, H19 geni gibi önemli işlevleri olan en az 10 gen taşıyan 11p15.5'deki WT2 lokusunda sorun vardır (8,10,26). Bu genler sadece paternal allel tarafından eksprese edilmekte olup, maternal allel metilasyonla susturulmuştur (genomik imprint). Eğer bu mekanizmayı etkileyen bir mutasyon olursa maternal allelin de etkisiyle IGF2 over-ekspresyonu olur (26). Son yıllarda sendromik WT'lülerin %15'inde wingless sinyal yolağındaki önemli bir madde olan beta katenin mutasyonları da gösterilmiştir (26). Ayrıca X kromozomunda lokalize WTX geninin inaktivasyonu dolaylı olarak WNT sinyal yolağını, beta katenin degradasyonunu ve APC gen fonksiyonlarını etkiler (6). Günümüzde yeni biyolojik prognostik göstergeler üzerinde çalışmalar artmış olup 16q ve 1p'deki heterozigosite kaybının ve anöploidi varlığının kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (22).

WT; transkripsiyon faktörleri, proto-onkogenler ve polipeptid büyüme faktörlerince regüle edilen böbrek gelişim yolağındaki sapmalar sonucu ortaya çıkar ve yaşamın ilk aylarında böbreğin dış kısmında bulunan primitif blastem hücrelerinden doğduğuna inanılır (26- 28). Pluripotent renal prekürsörlerin anarşik proliferasyonu sonucu, mikroskobik olarak renal blasteme benzer nefrogenезin farklı aşamalarını gösteren tümör gelişir (9,27,28). Başta mezenkimal dokunun epitelyal dokuya dönüşümünde görevliler olmak üzere bir dizi gen Wilms tümörogenезinde rol oynar ve bu güne dek keşfedilen patogeneзде etkili genlerin, transformatör genlerin regülasyonunu sağladığı anlaşılmıştır (9-13). Ailesel predispozisyonun nadir olması (%1-2) ve akraba evliliğinin görülme sıklığında etkili olmaması nedeniyle familyal WT'nün; penentrans ve ekspresyon farkı gözlenen otozomal dominant kalıtım modeli gösterdiği düşünülmektedir (6).

Tümör temel olarak embriyoner böbrek taslağının primitif mezodermal dokusu benzeri hiperkromatik nukleuslu ve dar sitoplazmalı küçük, bazıları içsi şekilli hücrelerden oluşur. Mezenkimal komponent olarak adlandırılan bu zemin üzerinde; epitelyal tübüler yapılar ve primitif glomerüleri andıran epitelyal komponent ile kondanse mezenkim benzeri blastemal komponent bulunur. Nefrojenik rest olarak adlandırılan embriyonik kalıntıların varlığı da erken gelişim dönemindeki hatalı diferansiasyona kanıt kabul edilmekte olup; WT'lü olguların normal böbrek kortekslerinde sıklıkla gözlenir (27,28) Son yıllarda intralober ve perilober olmak üzere 2 tipi tanımlanmıştır. Daha çok derin yerleşimli, stromal komponentten oluşmuş tek lezyon görünümündeki intralober restler WAGR ve Denys Drash sendromuna sıklıkla eşlik eder ve gelişimin erken dönemindeki bir karmaşaya bağlı oluştuğu bilinmektedir (6). Perilober nefrojenik restler daha çok blastemal komponent taşır. Multipl olup, periferal yerleşimli lezyonlardır ve Beckwith Wiedeman sendromuna eşlik ederler. Gelişimin daha geç dönemindeki disturbansa bağlı oluştuğları düşünülmektedir (6). Nefrojenik restlerin nefrektomi materyalinde gözlenmesi, özellikle küçük çocuklarda karşı böbreğin tümör gelişimi açısından daha dikkatli izlenmesini gerektirir (6). Nefroblastomatozis, böbrek parankiminde tümör dışında, mültisentrik veya diffüz immatür nefrojenik elemanların bulunmasıdır. WT öncüsü olup; multifokal ve bilateral tümör gelişiminden sorumludurlar (29,30). Günümüzde mikrokistlerle karakterize tümörler; eğer kistler arasında normal böbrek dokusu varsa

multikistik nefrom, WT görünümündeyse multikistik nefroblastom olarak adlandırılır ve en ucunda nefroblastomun yer aldığı bir spektrum olarak düşünülebilir (1-3).

WT, böbreğe bası yaparak atrofiye yol açan büyük solid bir tümör olup; gri-beyaz renkte, lobüler desende, yumuşak kitle görünümündedir (Resim1A). Tipik histopatolojik görünümü; çevre böbrek parankimini infiltre eden (Resim1B) trifazik tümör şeklindedir (Resim1C,1D). Miksoid dejenerasyon, kistik alanlar, kanama ve nekroz alanları bulunabilir. Nadiren skuamöz veya müsinöz epitel olabilir. İskelet kası diferansiasyonu özellikle küçük çocuk tümörlerinde sıktır (Resim1E). Kıkırdak, düz kas, yağ dokusu ve kemik gibi değişik mezenkimal dokular görülebilir. İndiferansiye neoplazmlar; anaplazi, nekroz ve yüksek mitotik aktivite gösterebilirler (1-4). WT'nde anaplazi kriterleri; komşu tümör hücre nükleuslarından en az 3 kat iri ve hiperkromazi gösteren polipoid nükleuslarla, multipolar mitozların varlığıdır (6). Fokal ve diffüz anaplazi olarak ayrılmaktadır (2,6). Anaplazi odakları tümüyle eksize tümör içindeyse ve anaplazik odak dışındaki tümörde nükleer unrest yoksa fokal anaplazi olarak nitelenir (2). Günümüzde anaplazinin tümör saldırganlığını göstermediği, ancak anaplastik komponentin kemoterapiye daha dirençli olduğu görülmüştür (2,6). Farklı tedavi modalitelerine göre WT'leri iyi (favorable) ve kötü (unfavorable) histolojili tümörler şeklinde kategorize etmek mümkündür. Tümörün blastemal komponent ağırlıklı bifazik (Resim1F) veya salt blastemal monofazik (Resim1G) olması ya da diffüz anaplazi varlığı (Resim1H) kötü histoloji kriteri olarak kabul edilmektedir (2,6-8).

Nefroblastomda evrelendirmesinde kullanılan COG (Children's Oncology Group) klasifikasyon sistemi, büyük oranda National Wilms Tumor Study Group (NWTSG) sistemine benzer (6): Bu sistemde evre1'de tümör böbrek içinde sınırlı ve kapsül sağlamdır. Tümör tamamen çıkartılmıştır. Evre2'de tümör böbrek sınırını aşmıştır. Perirenal yağ dokusuna invazedir. Ancak tümör tam çıkarılabilmıştır. Evre3'de komşu doku ve organlara, peritona ve bölgesel lenf bezlerine yayılmış tümör vardır. Karaciğer sağlamdır. Tümör tam olarak eksize edilmemiştir. Evre 4'de uzak metastazlar vardır. Bilateral böbrek tümörü varlığı evre 5 olarak betimlenir (Tablo1). Tedavi tümörün evresine göre; cerrahi, RT ve KT kombinasyonudur (Tablo2). Prognoz son 10 yılda daktinomisin, vinkristin gibi çok etkili kemoterapötik ajanların kullanılmaya başlaması ile dramatik olarak iyileşmiştir. Günümüzde evre 4 olgularda bile 5 yıllık sağ kalım % 80'e ulaşır. Böbrekte sınırlı ve komplet çıkarılan tümörlerde 5 yıl yaşam %90'ı aşmaktadır. Prognozda etkili faktörler evre, yaş, tümör

boyutu, diffüz anaplazi, farklı yöne diferansiasyonlar, kromozom 1p ve 16q'da LOH ile DNA ploidisidir. Evre en önemli prognostik kriter olup; cerrahi sırasında rüptür evre yükseltir. Küçük yaşta (2 yaş altı) prognoz daha iyidir. Tümör ağırlığı özellikle evre 1 tümörlerde önemlidir. Anaplastik bölüm kemoterapiye cevap vermediğinden diffüz anaplazi varlığı kötü prognostik kriterdir. Farklı diferansiasyonlar çok sınırlı alanlardaysa prognozu etkilemez. Ancak yaygın tubuler (glomerüler) diferansiasyon ve kas diferansiasyonu iyi prognoz, müsin üretimi kötü prognoz ile ilişkilidir. WT, en sık karaciğer, akciğer ve peritona metastaz yapmaktadır (2, 6-8) .

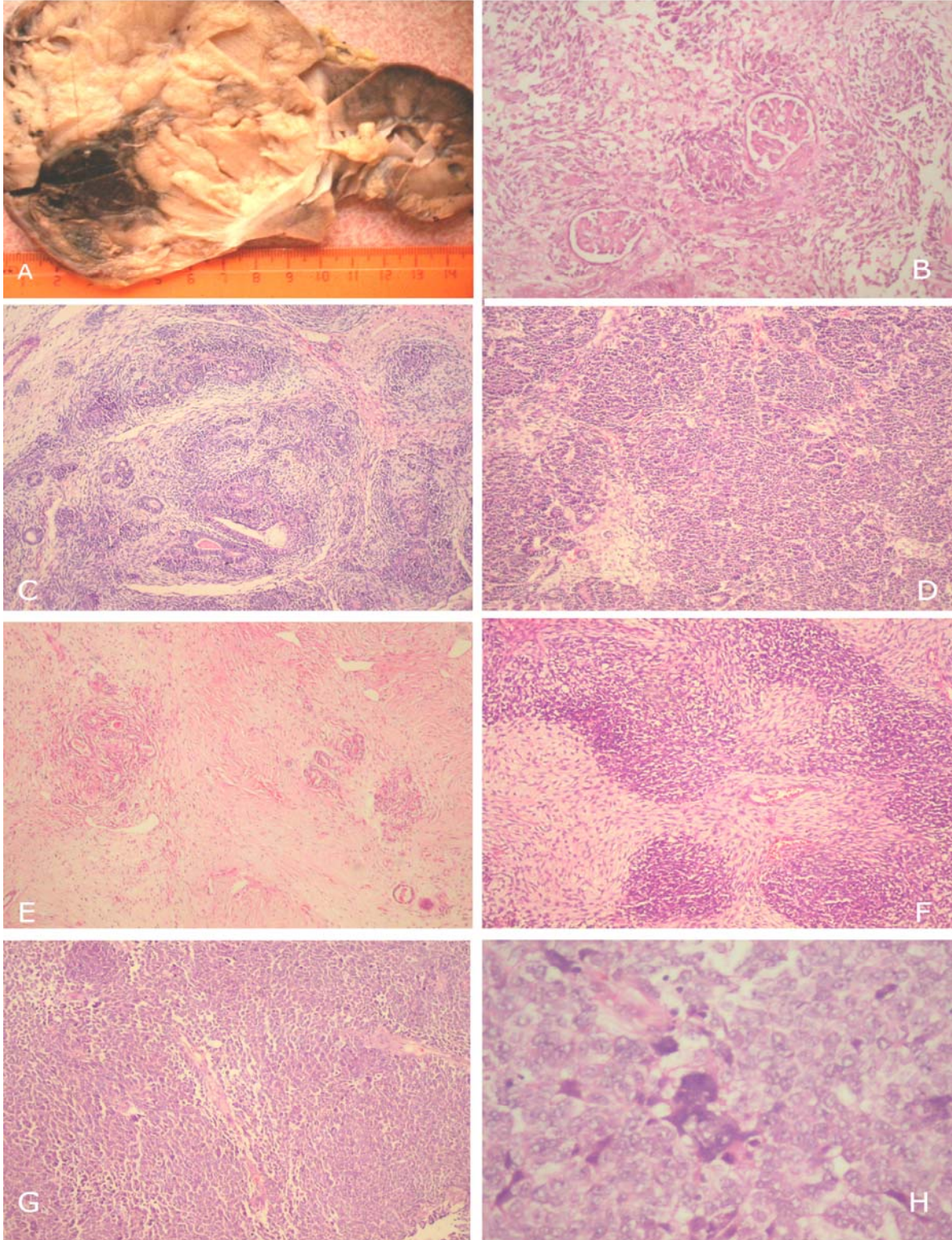
Avrupa'daki pek çok çocuk onkoloji merkezinde uygulanmakta olan International Society of Pediatric Oncology (SIOP) Wilms tümörü protokolünde, hastalara preoperatif kemoterapi (KT) verilmesi sonrasında nefrektomi ve tedavi planının preoperatif tedaviden sonra cerrahi ve histopatolojik bulgulara göre yapılması önerilir (6-8). SIOP yaklaşımını benimseyenler; preoperatif KT verilmesi ile ameliyatta tümör rüptürü riski ve diğer komplikasyonların azaldığını, düşük evreli tümörlerin oranının arttığını, tümörün KT'ye duyarlılığı ile yanıtının görüldüğünü ve tanı anındaki olası mikrometastazların zaman yitirilmeden tedavi edildiğini ileri sürer. Ancak SIOP serilerinde %5 oranında başka patolojik tanılara ulaşılmıştır. Amerikan Ulusal Wilms Tümörü Çalışma Grubu (National Wilms Tumor Study Group-NWTSG) protokollerinde ise malign olmayan durumlarda çocuklara KT verilmemesi, WT'lü hastalarda evre ve histopatolojinin doğru tespiti için önce cerrahi (nefektomi) yapılması önerilir. Bu yaklaşım; kesin tanı koymadan tedavi verilmemesi gerektiği, preoperatif tedavi ile tümörün histopatolojik özelliklerinin değiştiği, preoperatif tedavinin genel yaşam hızına katkı sağlamadığı ve tedavi sonrasında evreleme bilgilerinde eksilme olduğu görüşlerini esas alır. NWTSG toplam 5 çalışma yapmıştır. Her çalışmada elde edilen iyi sonuçlardan dolayı, sağkalım oranlarında düşme olmadan morbiditeyi ve geç yan etkileri azaltmak amacıyla tedavide ilaç kombinasyonları, dozları ve veriliş süreleri kısaltılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Son protokole göre; 2 yaşından küçük, erken evrede ve tümörü 550 gramın altında olan hastalar salt nefrektomi ve yakın izlemele tedavi edilmekteydiler. Ancak böyle sağaltılan 75 olguluk bir seride, 11 olguda 2 yıl içinde akciğer metastazı, tümör yatağında relaps veya karşı böbrekte WT gelişimi gözlenmiştir (6). Bu nedenle günümüzde iyi histolojili WT'nde 1p ve 16q'da LOH varlığı, DNA ploidisi, telomeraz ekspresyonu ve multidrug-protein ekspresyonu benzeri yeni biyolojik prognostik

belirleyicilerin de irdelenip; bunlara göre riskli gruba KT eklenmesi önerilmektedir (6). Ameliyat sonrası KT planlarında; evre I olguların tümü ve evre II iyi histolojili olanlara ikili KT (vinkristin ile aktinomisin-D), evre III ve IV iyi histolojili olanlara 3'lü KT (vinkristin, aktinomisin-D, adriamisin); evre II- IV diffüz anaplazisi olan olgulara ise 4'lü KT (vinkristin, aktinomisin-D, adriamisin kombinasyonuna siklofosamid veya etoposid eklenir) uygulanmaktadır (8). Rekürrens olursa veya hasta yanıtız ise diğer ilaçlarla daha yoğun KT şemaları uygulanır (Tablo2).

Türk Pediatrik Onkoloji Grubunun (TPOG) önerdiği tedavi protokolü de, temel olarak NWTSG protokolüne benzemektedir (31). Bu şemaya göre; sadece 6 aydan büyük, tanı anında çocuk cerrahı tarafından ameliyatı uygun bulunmayan veya vena kavada trombüsü olan olgulara preoperatif 4 hafta süreyle ikili KT verilir. Diğer hastalarda ise önce cerrahi, sonrasında evre ve histopatolojiye göre tedavi uygulanır.

WT, radyoterapiye (RT) de çok duyarlı bir tümör olmasına karşın RT endikasyonları, küçük çocuklara uygulanmasından sonraki geç yan etkiler nedeniyle zaman içinde azalmıştır. Günümüzde tüm evre III iyi histolojili olgular ve evre II- IV kötü histolojili olgularda tümör yatağına RT verilmesi önerilmektedir (6-8).

Çok merkezli çalışmalarda; tüm hastalarda genel yaşam oranları %90'ın üzerindedir. Tanı anında metastatik hastalığı olan hastalarda %80, bilateral hastalıkta %73 sağ kalım oranları bildirilmektedir (6-8). Yüksek riskli hastalarda ve tekrarlayan hastalık sonrasında ise yaşam oranları %50'ye düşer (31). Lenf nodu metastazı ve çevre yapılara invazyon durumu prognostik parametreler olmakla birlikte en önemli prognostik göstergeler evre ve diffüz anaplazi varlığıdır (2). Tanı anında 2 yaş altında olanlarda prognozun daha iyi olduğu bildirilmiştir. Bunun en önemli nedeni; küçük çocuklarda anaplazinin daha nadir gözlenmesi nedeniyle iyi histolojili olgularla daha sık karşılaşılmasıdır. Ayrıca iyi histolojili tümörlerde yoğun vinkristin tedavisiyle çok yüksek olaysız sağkalım oranları (%94) elde edilmiştir (6-8) Bilateral WT için tanı anındaki yaş çok önemli olup; 2 yaşın altındakilerde sağkalım %70-75 iken, 2 yaşın üstündekilerde sağkalım oranı % 20-45'dir (2,6-8,31).



Resim1: WT'nün histopatolojik özellikleri: A. Makroskopik görünümü, B. Arada kısıtlı kalmış normal glomerüller, C-D. Tipik trifazik tümörler, E. Tümörde yoğun iskelet kasi diferansiasyonu, F. Mezenkimal ve blastemal komponentli bifazik tümör, G. Tek fazlı blastemal tümör, H. Diffüz anaplazi gösteren tümör.

Tablo1: WT evrelemede kullanılan COG evreleme sistemi (Principles and Practice of Pediatric Oncology, 6th, Pizzo, P, Poplack, D (Eds), Lippincott Williams & Wilkins, St. Louis 2011. p.871).

Evre I	Tamamen çıkartılmış böbreğe sınırlı tümör Biyopsi yapılmamış Rezeksiyon sınırının ötesinde ve bölgesel lenf nodlarında tümör yok Cerrahi sırasında tümör bütünlüğü bozulmamış Damar, renal sinüs tutulumu yok
Evre II	Evre I'e benzer şekilde böbreğe sınırlı ve tümüyle çıkarılmış tümör söz konusu. Ek olarak renal kapsüle penetrasyon ve renal parankim dışı damarlara invazyon var.
Evre III	Cerrahi sonrası abdominal rezidüel tümör dokusu var Bölgesel lenf nodlarında tutulum var Peritonda tümör implantları var Cerrahi öncesi veya cerrahi sırasında tümör yayılımı (biyopsi dahil) var. Tümör birden fazla parça halinde çıkartılmış.
Evre IV	Akciğer, karaciğer, kemik veya beyne hematogen yayılım var Abdomen dışı veya pelvik lenf nodlarına yayılım var
Evre V	Her iki böbrekte WT mevcut

Tablo2: WT'nde önerilen tedavi şeması (Lanskowsky P. Renal Tumors. In: Manuel of pediatric hematology and oncology. 5th ed. London, Elsevier 2011, p:702).

EVRE	Histoloji	Cerrahi	RT	KT rejimi	Tedavi süresi (hafta)
I ve II	İH	+	-	AMD+VCR	18
III ve IV	İH	+	+	AMD+VCR+DOX	24
I, II ve III	FA	+	+	AMD+VCR+DOX	24
I	DA	+	+	AMD+VCR+DOX	24
IV	FA	+	+	VCR+DOX+CTX+ETOP	24
II, III, IV	DA	+	+	VCR+DOX+CTX+ETOP	24

İH: İyi histoloji, DA: diffüz anaplazi, FA: fokal anaplazi, AMD: AktinomisinD (daktinomisin), VCR: vinkristin, DOX: doksorubisin (adriamisin), CTX: siklofosamid, ETOP: etoposid

2.2. Mikrosatellitler ve Mikrosatellit İnstabilite (MSİ) kavramı

Ökaryot genomun %30'u tekrar eden DNA dizilerinden oluşmuştur (14). Rekombinasyon ve mutasyona yatkın olan ve DNA'nın katlanması ile korunmasında görevli olabilecekleri bildirilen bu diziler; dağınık (interdispersed) tekrarlar ve satellit DNA tekrarları olmak üzere 2 ana sınıfta incelenirler (14). Dağınık tekrarlar; uzunlukları 300- 10000 baz çifti arasında değişen ve genellikle bir gen bölgesinin başlangıcında yer alan, rekombinasyona yatkın DNA bölgeleridir (14). Satellit DNA tekrarları, uzunlukları megabaz, yani 1 milyon baz çiftine kadar ulaşabilen DNA tekrarları olup; mikrosatellitler, minisatellitler ve makrosatellitler olarak 3 ana gruba ayrılırlar. Mikrosatellitler ökaryot genomun içinde bol miktarda bulunan, oldukça polimorfik, 1-6 baz çiftlik DNA tekrarlarıdır (15). Polimorfizm genellikle aileler arasında tekrar sayılarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Mikrosatellitler; evrimle ilgili araştırmalarda, toplumların genetik yapılarının araştırılmasında ve bilinmeyen genlerin araştırılmasında (pozisyonel klonlama) kullanılır (14-16). Genin bilindiği ama mutasyonun belirlenemediği hastalarda mutant allel geçişini göstermek amacıyla, adli tıpta babalık tayini, kimlik tespiti benzeri gerekçelerle, mikrosatellitlerin yer aldığı bölgelerde bir instabilite ya da allel kaybı olup olmadığının araştırılması gibi birçok alanda MS'lerin incelenmesi gerekir (14-16).

Yaşayan organizmalar kendi genomlarını her zaman tam doğrulukla olmasa da oldukça tutarlı şekilde kopyalayabilme yeteneğine sahiptirler. Bu yetenek türlerin sürekliliğini ve kalıcılığını sağlarken, aynı zamanda çevresel adaptasyonlar ve evrim için gereklidir. DNA replikasyonu kusursuz olmayıp; baz çiftlenmesi (replikasyon) sırasında organizmanın cinsine, yaşına, o organizmadaki DNA polimeraz etkinliğine ve lokal çevre faktörlerine bağlı olmak üzere çeşitli hatalar ortaya çıkabilmektedir. Bu hatalar özellikle DNA polimeraz tarafından hatasız kodlanması zor olan ve dizi kayma olasılığı fazla olan mikrosatellit bölgelerinde daha sıklıkla oluşmaktadır. Eğer tamir mekanizmaları devreye girmezse her replikasyonda bu hatalar artacak ve sonuç olarak mikrosatellitlerin yer aldığı gen lokusunun uzunluğu değişecektir (Şekil1). Mikrosatellit instabilite (MSI); küçük DNA baz çifti tekrarlarının uzunluğunun tümör dokusunda, normal dokuya göre daha uzun ya da daha kısa olması durumunda kullanılan terimdir. Eğer fark yoksa mikrosatellit stabil (MSS) terimi kullanılır.

MSI'nin patogenezde rol oynadığı tümörler; Lynch Sendromu (LS) olarak da bilinen, herediter non-polipozis kolorektal kanserler (HNPCC) kapsamındaki tümörlerdir (17-20). DNA tamir genlerindeki germline mutasyonuna bağlı gelişen bu sendrom kapsamındaki tümörlerin %90'ında MSI fenotipi saptanırken, sporadik kolorektal kanserlerde bu oran çok daha düşüktür (%15-40). Yapılan çalışmalarda, HNPCC aileleri dışında MUIR- Torre sendromunda da benzer şekilde MSI gösterilmiş ve MSI'nin çeşitli ailevi kanserlerde etkin olabileceği bildirilmiştir (18,20). Günümüze dek birçok tümörde MSI varlığı araştırılmış olmakla birlikte özellikle pediatrik malignitelerde az sayıda çalışma mevcuttur (18,20,22,32-38).

2.3. Yanlış eşleşme tamir genleri ve karsinogenez.

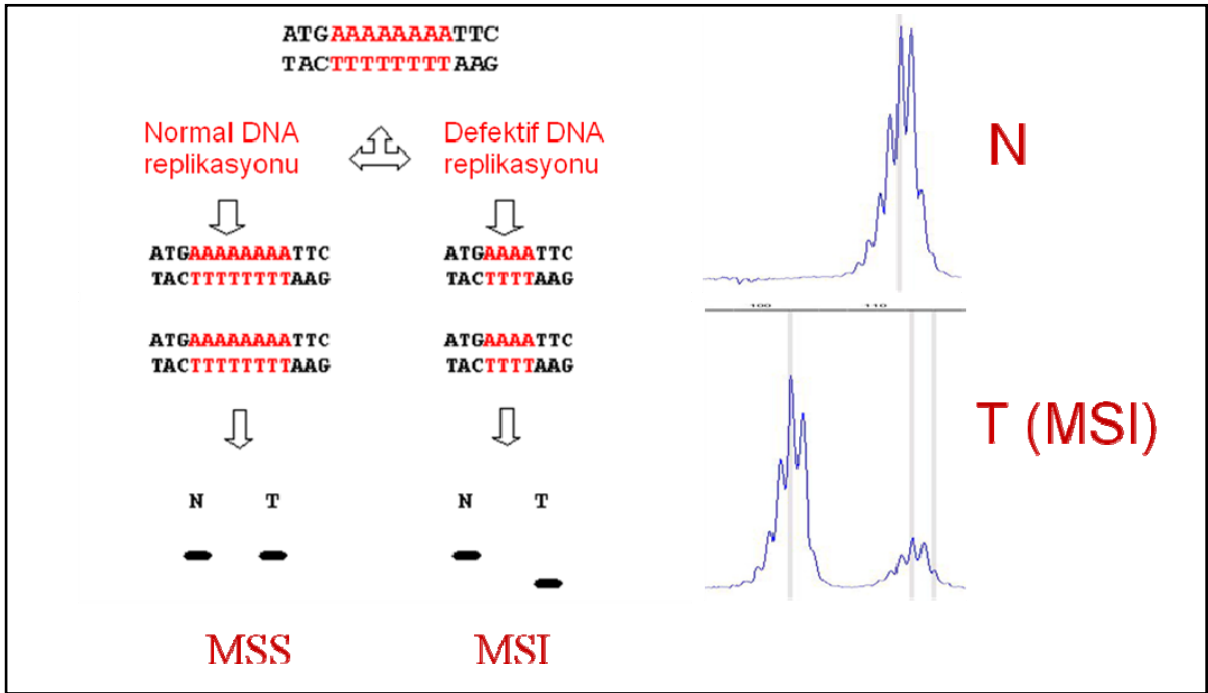
DNA onarımında 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar (14-16). Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yüzden fazla kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olan hasar meydana gelmektedir. DNA tamir mekanizmaları genomik kararlılığın devamını sağlayan sistemlerdir. DNA polimeraz, replikasyon sırasında hata okuma (proofreading) yeteneğine sahiptir (32). Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri, hata okuma sonrası kalan yanlış eşleşmeleri tamir (YET) eden mekanizmadır. Çeşitli kanser tiplerinde replikasyon sırasında oluşan DNA nükleotid yanlış eşleşmelerini (mismatch) fark etme ve düzeltme yeteneğinde kayıp oluşmaktadır. Bu tip tümörlerde YET tamir bozukluğunun karsinogenezde ilk aşama olduğu düşünülmektedir. Bu bozukluk hücre içinde mutasyon hızını arttırmaktadır (18).

Yanlış Eşleşme Tamir (YET) veya Mismatch Repair (MMR) mekanizması, DNA replikasyonu esnasında meydana gelen ve çift sarmalda anormal boyutlara neden olan, normal bazların yanlış eşleşmesi şeklindeki hataları düzeltir. Bu süreç *Escherichia coli* bakterisinde ayrıntılı olarak incelenmiş olup; hatalı eşleşme 7 proteinden oluşan bir sistem tarafından belirlenir. Bu proteinler, mutS, mutL, mutH, uvrD, ekzonükleaz I, SSB ve DNA polimeraz III tür (32). *E.coli* DNA'sında, replikasyon sırasında oluşan yanlış eşleşmeyi MutS algılar ve bölgeye bağlanır. MutL'nin bağlanması ile kompleks kararlılık kazanır. MutS- MutL kompleksi MutH'yi aktive eder. MutH'deki endonükleaz fonksiyonu metil grubunun karşısında metillenmemiş zincire bir çentik atar. UvrD (Helikaz II) proteini kesip çıkarma işlemine

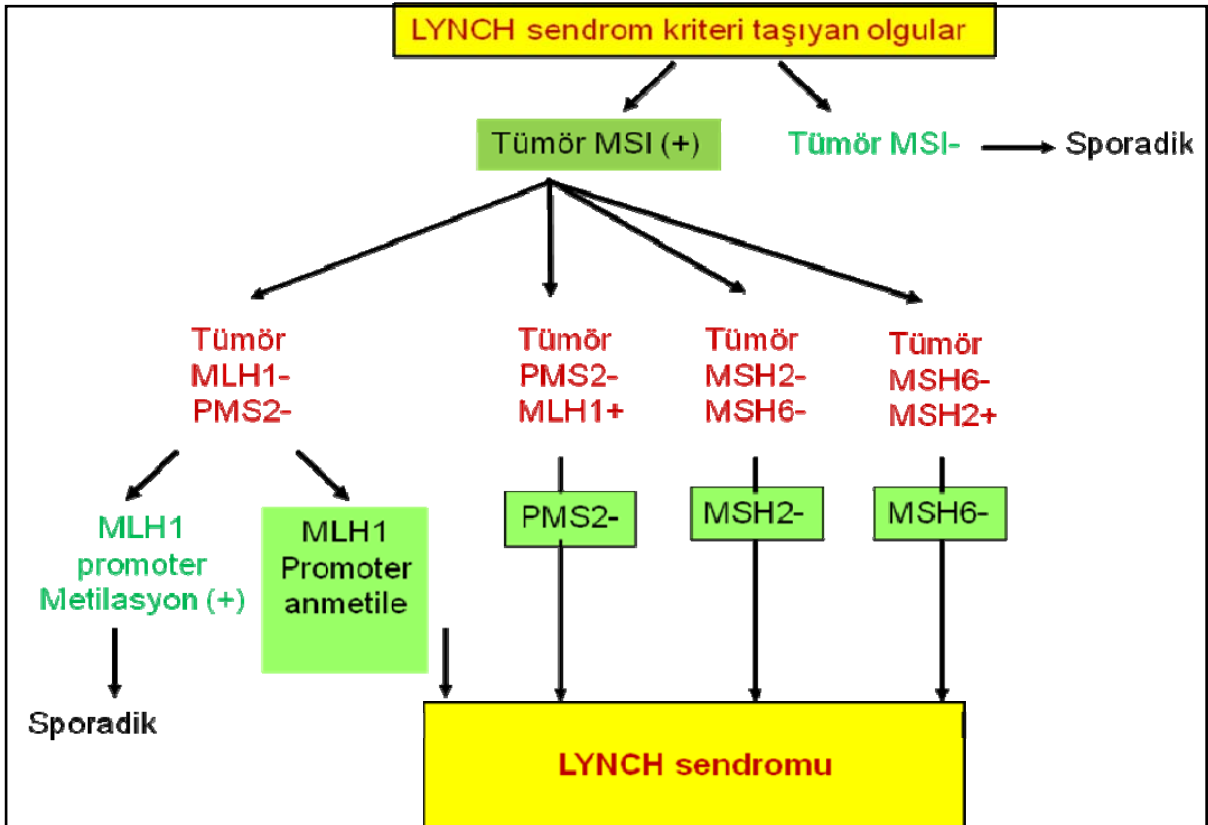
yardımcı olur. DNA polimeraz III boşluğu doldurmak amacıyla doğru DNA zincirini yeniden oluşturur ve DNA ligazın yapıştırma işlemiyle onarım sona erer (32). Yapılan araştırmalar sonucu insanda da benzer onarım mekanizmalarının olduğu gözlenmiş olup; benzer fonksiyonlu genler E.coli MutS veya MutL geninin homoloğu (MSH veya MLH) şeklinde adlandırılmışlardır (39-44).

İnsan YET genleri ve bunların ürünleri olan YET proteinleri; MutS'nin homologları olan MSH2, MSH3, MSH4, MSH5, MSH6 ile MutL'nin homologları olan MLH1, PMS2, PMS1, MLH3'dir. Saccharomyces cerevisiae mantarında postmayotik segregasyonu arttıran (PMS) şeklinde adlandırma da kullanılmaktadır (39). MLH1, 3p21.3 gen bölgesinde lokalize olup; metilasyon yoluyla epigenetik (somatik) susturulması sıktır (40). PMS2, 7p22 bölgesinde (41), MSH2, 2p22-p21 bölgesinde (42), MSH6, 2p16 bölgesinde (43,44) yerleşmiş insan YET genleridir. Bu genler replikasyon boyunca doğru DNA sentezinin sağlanmasında rol alarak genomun stabilizasyonunu sağlarlar ve kolorektal karsinogenezde çok önemlidirler. Etkin YET gen aktivitesinin yokluğunda MSI gözlenir. DNA onarım genlerindeki germline mutasyonlar LS'una neden olurken, somatik mutasyonlar sporadik kolorektal kanserlerin %10-15'inde görülmektedir. Gastrointestinal tümörler dışında birçok farklı tümörde, farklı oranlarda YET gen inaktivasyonu bildirilmiştir (35-38). Özellikle gastrointestinal sistemde; MSI gösteren tümörlerin farklı klinik özellik taşıdığı saptanmıştır (45,46). Bu tümörler çoğu kez proksimal kolonda lokalize olup; genellikle musinöz veya andiferansiye özelliktedir. Stromalarında belirgin lenfositik infiltrasyon bulunmaktadır ve MSS tümörlere göre daha iyi prognoz gösterirler.

Özellikle LS kapsamındaki tümörlerin tanı, tedavi ve izleminde Bethesda sistemi olarak bilinen algoritma geliştirilmiştir (45). Bu sisteme göre; 2 veya daha fazla MSI marker gen sekansında instabilite saptanırsa yüksek derecede instabil (MSI-H) tümör olarak nitelenmektedir. Eğer yalnızca tek sekansta saptanırsa düşük derecede instabil (MSI-L) tümör olarak adlandırılır. Sınanan 7 belirleyici genin hiçbirinde instabilite saptanmıyorsa tümörün fenotipi stabildir (MSS). Modifiye Bethesda sisteminde yaş sınırı 50 olarak değiştirilmiştir. Bu sınır altındaki kişilerde gelişen gastrointestinal sistem tümörleri, endometrial, renal pelvis ve sebace gland tümörlerinde öncelikle MSI varlığı araştırılır. MS fenotipine ve YET proteinlerinin doku ekspresyonuna göre tümörün LS komponenti bir tümör olup olmadığına karar verilir (Şekil2).



Şekil 1: Mikrosatellit instabilitenin gelişim mekanizması.



Şekil 2: Lynch Sendromu tanısında Bethesda algoritması (Promoter: RNA polimeraz tarafından tanınan ve transkripsiyonun başlama sinyalini kapsayan DNA bölgesi).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER:

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu çalışma yarı deneysel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu çalışma İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde (BUÇH) 1999- 2010 yılları arasında ameliyat edilen hastaların nefrektomi materyalleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Olguların tedavi sonrası izlemleri BUÇH Onkoloji servisinde yapılmakta olup; düzenli aralıklarla BUÇH Onkoloji Konseyinde tartışılmaktadırlar. DNA ekstraksiyonu ve İHK'sal çalışmalar Ocak 2010- Mayıs 2010 tarihleri arasında BUÇH Patoloji Laboratuvarında, RT-PCR melting peak inceleme ve MSI belirleyici gen lokuslarının PCR ile çoğaltılması işlemi Ekim 2010- Mart 2011 tarihleri arasında Genmar Firmasının Laboratuvarında, FCE ise Haziran- Temmuz 2011 tarihleri arasında DEÜTF Onkoloji Enstitüsünün Araştırma Laboratuvarında çalışılmıştır.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örnekleme

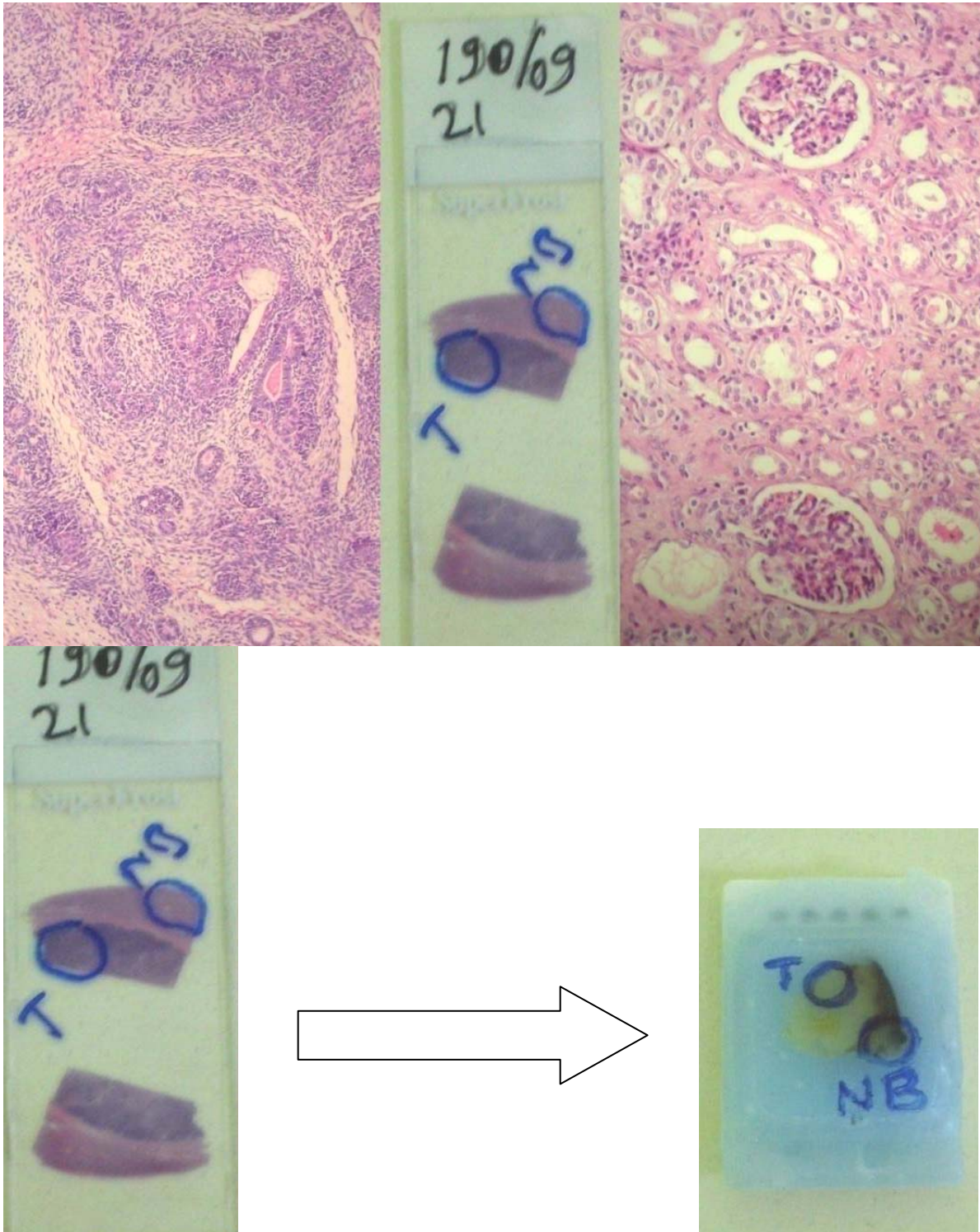
Araştırmanın evrenini İzmir BUÇH'nde ameliyat edilen, tanı konulup, tedavileri ve izlemleri yapılan yaşları 5 ay ile 8 yaş arasındaki 45 WT'lü çocuk oluşturmaktadır. Örnekleme ise olguların nefrektomi materyallerinden BUÇH Patoloji Laboratuvarında hazırlanan parafin bloklar oluşturmaktadır.

3.4. Araştırmanın Materyali

Ameliyat materyalinden örneklenen ve parafin bloğa gömülen dokular arasında; canlı demonstratif tümör ve normal böbrek dokusu bulunduran bloklar ayrılmıştır (Resim 2). Bu bloklardan polilizinli lamlara 5 mikrometre kalınlıkta kesitler hazırlanmış ve İHK'sal boyamalar yapıncaya dek oda ısısında saklanmıştır. Ayrıca tümör dokusu ve sağlam böbrek dokularından DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'larda RT-PCR melting peak ve FCE ile MSI varlığı araştırılmış olup, tüm bulgular istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Bu çalışmadaki bağımsız değişkenler hastaların cinsiyeti, yaşı, patolojik evresi, tümörün lokalizasyonu, histolojisi, invazyon ve metastaz olup olmaması gibi özelliklerden oluşmuştur. Bağımsız değişken ise tümörün WT olmasıdır.



Resim 2: Arşiv bloklarından yapılan HE boyalı kesitlerde (üst ortada); canlı demonstratif tümör (üst solda) ve normal böbrek (üst sağda) bulunduran bloğun (altta) işaretlenmesi.

3.6. Veri toplama araçları

3.6.1.ARAÇ VE GEREÇLER

3.6.1.1. Tez çalışmasında kullanılan gereçler:

- Mikrotom.....Leica RM2125RT
- PCR.....GeneAmp 9700
- RT-PCR.....Roche Light Cycler 15
- RT-PCR.....Roche Light Cycler 480II
- Tartı.....Denver
- Elektroforez cihazı.....Consort EV243
- FCE.....Beckmann DNA squencer
- Mikroskop.....Nikon E400
- Vorteks.....Biovortex V1
- Mikrodalga fırın.....Arçelik MD551
- Santrifüj cihazı.....Centrifuge S424
- Etüv.....Nüve FN500
- Tartı.....Shimadzu AY120
- pH metre.....NEL elektronik pH890
- Otomatik pipet (0,5-10mikron).....DiaMed-ID pipette FP5
- Otomatik pipet (20-200mikron).....ISOLAB
- Otomatik pipet (1000 mikron).....ISOLAB
- -20°C derin dondurucu.....Ufuk
- +4°C buzdolabı.....Arçelik 450 lüks
- Eppendorf.....miniSpin
- Polilizinli lam.....ISOLAB
- Plastik pipet ucu sarı, beyaz ve mavi.....Barrier100
- Sınırlayıcı kalem.....DAKOpen
- Lamel 22X22mm.....ISOLAB
- DNA ölçümü için spektrofotometre.....WPA BiowaveDNA

3.6.1.2. Kullanılan sarf malzemeleri:

- Fosfat tamponlu tuz solüsyonu (PBS) 150mM NaCl + 10nM Na-Fosfat, pH:7,4
- TRİS: 11,1 gr+ 940 ml bidistile H₂O + 7 ml HCL, pH:7,2
- %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu
- Sitrat tampon çözeltisi sitrat 0,399 gr+ tri sodtyum sitrat 2,382gr + 1litre su, pH:6.0
- Proteinaz K stok çözeltisi
- Tamponlu %4'lük paraformaldehid

3.6.1.3. Kitler ve reaktifler:

- Etil alkol %96'lık
- Xylene
- Kapatma maddesi (mounting medium, Surgipath MicroMounth)
- PBS tampon solüsyonu için hazır toz karışım (Scy Tek)
- Proteinaz K, Sigma P2308
- Agarose gel, Sigma A9539
- İmmünohistokimya üniversal kiti, LSAB, Thermo
- DAB kromojen, Thermo
- DNA ekstraksiyon kiti, QIAamp DNA FFPE Tissue
- Anti-MLH1 (klon:17814; Spring Bioscience, CA, USA)
- Anti-PMS2 (klon: CS-618, Santa Cruz Biotechnology, California, USA)
- Anti-MSH2 (klon: E17794, Spring Bioscience, CA, USA)
- Anti-MSH6 (klon: E17674, Spring Bioscience, CA, USA)

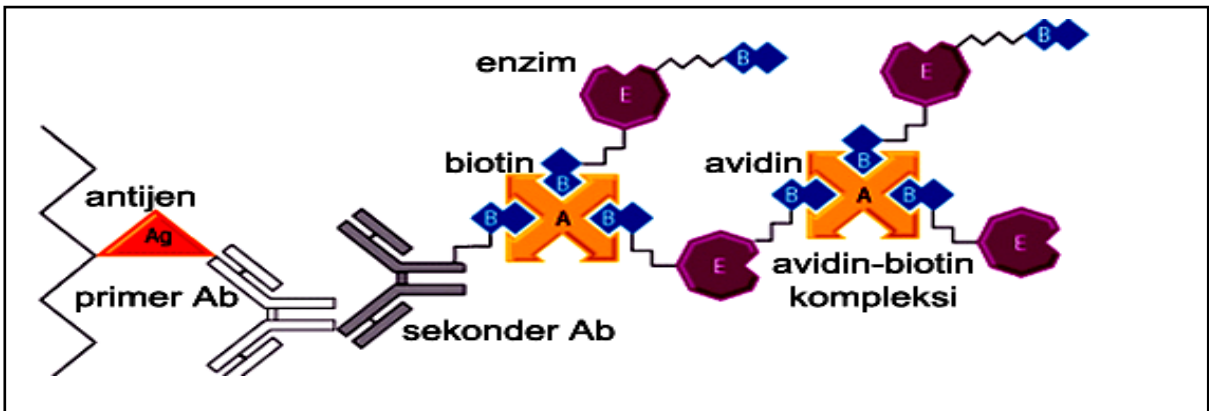
Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Daire Başkanlığı tarafından "2010 KB SAG 038" numaralı proje olarak desteklenmiştir.

3.6.2. YÖNTEMLER

3.6.2.1 Arşiv bloklarından yapılan kesitlerde İHK'sal olarak, YET gen ürünü MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6 proteinlerinin doku ekspresyonunun araştırılması

3.6.2.1.1 Genel ilke:

İmmünohistokimyasal testler; antijen antikor tepkimelerinin kullanıldığı tanısal testlerdendir. Bu test, hücre veya doku antijenlerini, bunlara karşı geliştirilmiş ve değişik maddelerle işaretlenmiş antikolarla karşılaştırarak, mikroskopik olarak görünür hale getirmeyi amaçlar. Testlerde kullanılmak üzere aranacak antijene karşı deney hayvanlarında geliştirilen ve genellikle İgG tipinde olan monoklonal antikor, dokuyla karşılaştırılır. Ardından bir başka deney hayvanından bu antikoları üreten deney hayvanına karşı antikolar yaptırılır ve sekonder antikolar kromojeni aktive edecek bir enzimle işaretlenir. İndirekt olarak nitelenen testlerden olan Avidin- biotin kompleksi (ABC) sisteminde ise sekonder antikor enzimle işaretlenmez. ABC yöntemi, yumurtanın akındaki bir glikoprotein olan avidinin biotin vitaminine ilgisine dayanarak geliştirilmiştir. Avidine benzer bir molekül de Streptomyces avidinii bakterisinden elde edilir. Streptavidin denen bu madde nötrale olduğu ve karbonhidrat komponenti taşımadığı için daha az boya artefaktına yol açar. Biotin ise hem enzimlerle hem de antikolarla kolay bağ kurar. Enzim kompleksi testlerinde olduğu gibi primer antikorla avidin-biotin kompleksi arasındaki ilişkiyi sekonder antikolar sağlar (Şekil3). Eğer dokuda antijen yoksa antikor bağlanamayacak ve yıkamalar esnasında atıldığından boyanma olmayacaktır. Primer antikolar dışındaki substratlar üniversal kitler olarak pazarlanmaktadır.



Şekil 3: Avidin-biotin kompleks (ABC) immün histokimyasal boyama tekniği.

3.6.2.1.2. Uygulama basamakları:

- İHK için manuel yöntem uygulandı.
- Lizinli lamlara, olgulara ait demonstratif bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı.
- Kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde bekletildi.
- 1 saat süreyle ksilen içerisinde oda ısısında bekletildi.
- Konsantrasyonu giderek azalan (%95, %90, %80, %70) etil alkol serilerinden geçirildi.
- Distile suda 10 dakika yıkandı.
- Hidrojen peroksitte 15 dakika tutuldu.
- Distile suda 5 dakika süreyle yıkandı.
- Sitrat tampon (pH:6) içerisinde, kapağı kapalı plastik şalelerde 40 dakika süreyle mikrodalga fırında 400 Watt'ta ısıtıldı.
- Oda ısısında soğuyuncaya dek beklendi.
- Distile suda 10 dakika yıkandı.
- PBS (pH:7,4) içinde 10 dakika bekletildi.
- Lamlar üzerindeki dokular sınırlayıcı kalemle çerçeveselendi.
- İHK'sal boyamada indirekt ABC yöntemi uygulandı.
- Blokan solüsyonda 5 dakika bekletildi.
- Yıkama yapılmadan primer antikorlar olan anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 ve anti-MSH6 uygulandı.
- 1 saat süreyle lamların kurumaması için altına ıslak kağıt yayılmış plastik boyama kabında lamlar bekletildi.
- PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı.
- Anti polivalant biotinli antikor oda ısısında 20 dakika uygulandı.
- PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı.
- Bayır turbu peroksidazı (horseradish peroxidase: HRP) eklenmiş streptavidin solüsyonuyla kaplanan kesitler oda ısısında 20 dakika bekletildi.
- PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı.
- DAB, hidrojen peroksitli hazır solüsyonu ile 1/20 oranında sulandırıldı ve lamlar üzerinde 10 dakika tutuldu.
- Distile suda yıkandı.

- Harris hematoksilen ile 15 saniye zemin boyama yapıldı.
- Akar çeşme suyunda yıkandı.
- Konsantrasyonu giderek artan (%70, %80, %90, %95) etil alkol serilerinden geçirilip havada kurutuldu.
- Ksilen içinde 30 dakika bekletildi ve kapama maddesi damlatılıp lamelle kapatıldı.
- Boyalı preparatlar ışık mikroskopisi ile değerlendirildi.

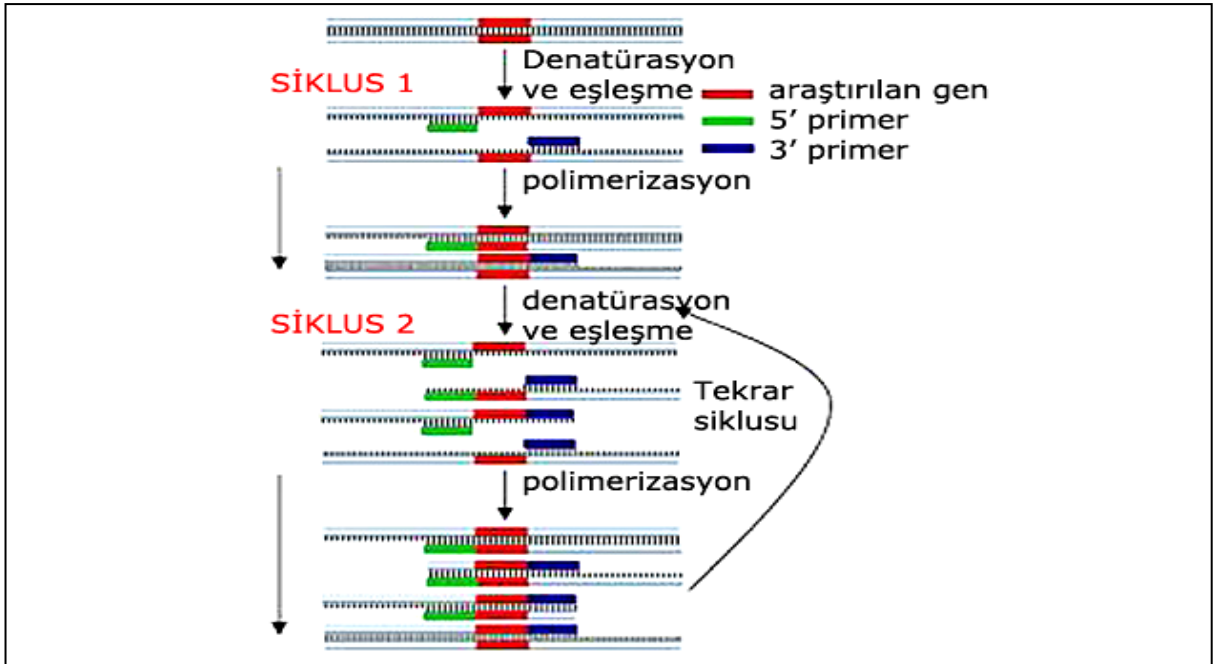
3.6.2.2. Parafine gömülü arşiv bloklarından DNA ekstraksiyonu ve PCR çalışması

3.6.2.2.1. Genel ilke:

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) dokudan ekstrakte edilen DNA'nın in vitro olarak çoğaltılması için geliştirilmiş bir yöntem olup; bu sayede eser miktardaki genetik materyalle moleküler testlerin yapılması olanaklı hale gelmiştir. Reaksiyonlar farklı sıcaklıklardaki üç işlemin ardışık tekrarına dayanır. PCR için gerekli olan reaktifler; kalıp olarak kullanılan genomik DNA, PCR yapılmak istenen gen dizisini belirleyen, forward ve reverse çalışan 2 adet tek iplikli sentetik DNA oligonükleotidi, 4 tip dNTPs (deoksiribo-nükleotid trifosfat) ve termofilik bir canlıdan elde edilmiş, yüksek ısıda çalışan DNA polimerazdır. Çünkü denatürasyon işleminde çift iplikli DNA zincirinin tek iplikli hale getirilmesi normal hücrede olduğu gibi bazı özel enzimlerle değil, 94°C'ye varan yüksek ısı ile yapılır. Annealing (eşleşme) aşamasında primerler, 50-60°C'de tek iplikli kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanırlar. Aranılan mutant gen bölgesine bağlanacak sentetik DNA parçacıklarının istenen bölge dışında benzer yapılar bulma riski 2 bazlık bir primerde 1/16 gibi yüksek değerlerdedir. Hesaplamalara göre 4 bazlık bir DNA parçacığında bu risk 1/256'e, 20 bazlıkta ise 4 milyarda bire düşer. Bu nedenle primerlerin boyları genellikle 18- 22 nükleotid arasındadır. Extension (sentez), 72 derecede, primerlerle sınırlandırılmış bölgede yüksek ısıya dayanıklı polimerazlarca gerçekleştirilir. Günümüzde en sık kullanılan enzimlerden biri olan Taq polimeraz, kaplıcalarda yaşayan *Thermus aquaticus* bakterisinin DNA polimeraz enzimidir. İki fazda ısı değişmezken, ayrışma fazının ısısı, istenen DNA dizisinin AT/ GC içeriğine göre değişir. G ve C arasında 3 bağ olduğundan, G-C'den zengin olan bölümlerin denatürasyonu daha güçtür. Daha uzun süreli ve daha yüksek ısı uygulaması gerekir. Sikluslar yaklaşık 30 defa tekrar

edilir. Yeni sentezlenen parçalar, sonraki siklusta kalıp görevi görürler. Böylelikle her siklusta çoğaltılmak istenen dizinin logaritmik artışı söz konusudur. İşlem sonunda, başlangıçtaki 2 zincirli kalıp DNA parçacığı, 230 kez çoğaltılır ve elde edilen parçacık sayısı 1 milyarın üstüne çıkar (Şekil4).

PCR ile çoğaltılan DNA'nın kantitatif ve kalitatif değerlendirmesi spektrofotometrik ölçümle veya jelde elektroforezle yürütme sonrası fotoğraflamayla yapılabilir. Son yıllarda geliştirilen cihazlar sayesinde her siklus sonrası spektrofotometrik ölçüm yapılabilmekte olup; bu cihazlar RT-PCR (Real time: gerçek zamanlı PCR) olarak bilinmektedir.



Şekil 4: Polimeraz zincir reaksiyonunda istenen gen bölgesinin çoğaltılması.

3.6.2.2.2. Uygulama basamakları:

- Olguların her birinden seçilen bloklarda işaretlenen demonstratif tümör ve normal böbrek dokularından yaklaşık 2 mm çapında parçalar bistüri yardımıyla çıkartıldı ve steril ependorflara konuldu.
- DNA ekstraksiyonu yapılması amacıyla geliştirilmiş hazır bir kit kullanıldı.
- Hazır kitin içerisinden çıkan uygulama önerisine göre işlemler gerçekleştirildi.
- Her bir ependorfa doku içindeki parafini çıkartmak amacıyla 1 mililitre ksilen eklendi ve 10 saniye vorteks ile karıştırıldı.
- Yüksek hızda 2 dakika santrifüj yapıp üstteki solüsyon atıldı.

- Tüplere %96-100'lük etanol eklendi ve vortekslendi.
- Yüksek hızda santrifüj edilip üstteki solüsyon atıldı.
- Ağızı açık olarak 37°C'lik etüvde kalan alkolün uçması için en az 10 dakika bekletildi.
- Çok büyük olan örnekler steril bistüri yardımıyla parçalara ayrıldı.
- Her bir ependorfa 180 mikron ATL solüsyonu (özel lizat) ve 20 mikron proteinaz K düşecek şekilde hazırlanan ve vortekslenen karışımdan her ependorfa 200 mikrolitre eklendi.
- Etüvde 56°C'lik ısıda ağızı kapalı tüpler doku yıkımı için bekletildi. Eğer doku tümüyle lizise gitmediyse 1 saat daha beklendi.
- Oda ısısına alınan ependorflar proteinaz K'nın inaktivasyonu için 90°C'lik ısıda 10 dakika enkübe edildi.
- Her ependorfa 200 mikrolitre etanol ve 200 mikrolitre AL tamponu (özel lizat) eklendi, vortekslendi.
- Santrifüj edildikten sonra üstteki solüsyon kite ait özel filtreli (membranlı) tüplere alındı ve santrifüj yapıldı.
- Alttaki süzüntü atılıp, yeni toplayıcı tüpler yerleştirildi.
- İlk yıkama solüsyonundan (AW1) 0,5 ml eklendi ve 8000 rpm hızda 1 dakika santrifüj uygulandı.
- Alttaki süzüntü atılıp, yeni toplayıcı tüpler yerleştirildi.
- İkinci yıkama solüsyonundan (AW2) 0,5 ml eklendi ve 8000 rpm hızda 1 dakika santrifüj uygulandı.
- Alttaki süzüntü atılıp, steril ependorflar yerleştirildi.
- Membranın tam ortasına gelecek şekilde her tüpe 100 mikrolitre elüsyon solüsyonu (ATE) eklendi.
- Daha fazla DNA'nın ayrılması için birkaç dakika beklenip 14000 rpm hızda santrifüj yapıldı.
- Alttaki tüpte elde edilen DNA'nın miktarı spektrofotometrik olarak ölçüldü.
- Ekstrakte edilen DNA'nın bir kısmından, MSİ belirleyicisi 7 gen bölgesi, özel hazırlanmış 14 ayrı primer kullanılarak konvensiyonel PCR (Applied Biosystem Gene Amp PCR 9700) ile amplifiye edildi.
- Tüm DNA'lar -25°C'de dondurularak saklandı.

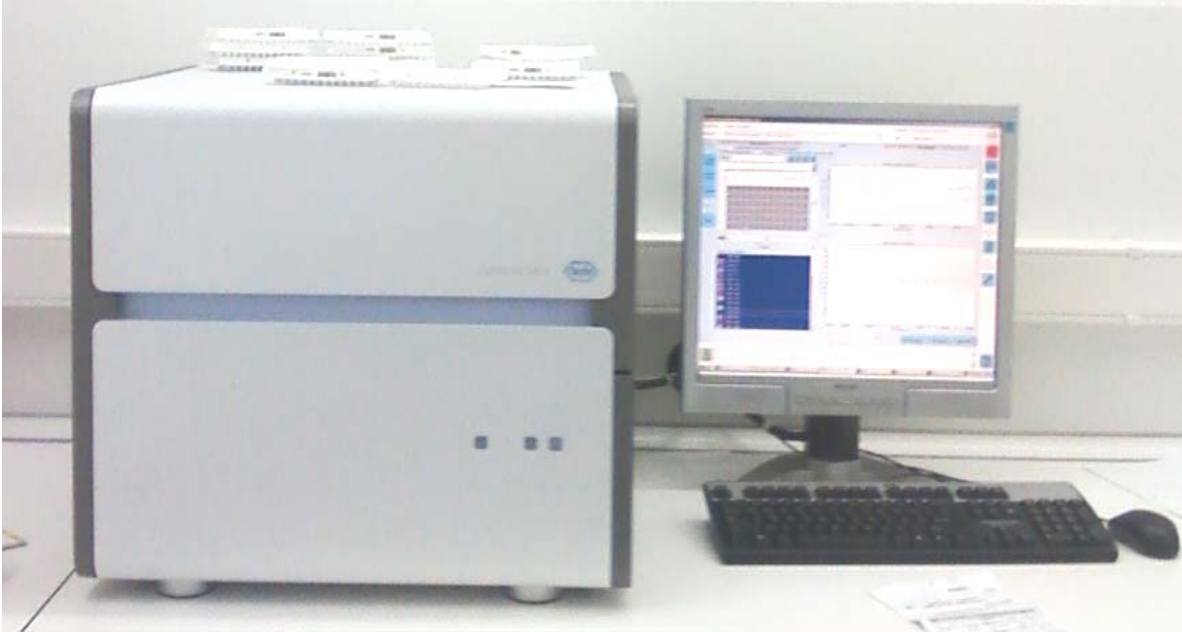
3.6.2.3. RT-PCR melting peak ile MSİ araştırması

3.6.2.3.1. Genel ilke:

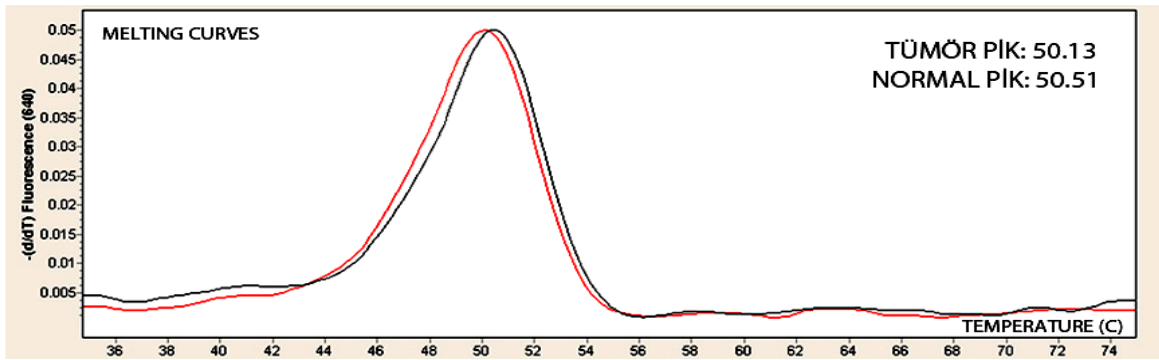
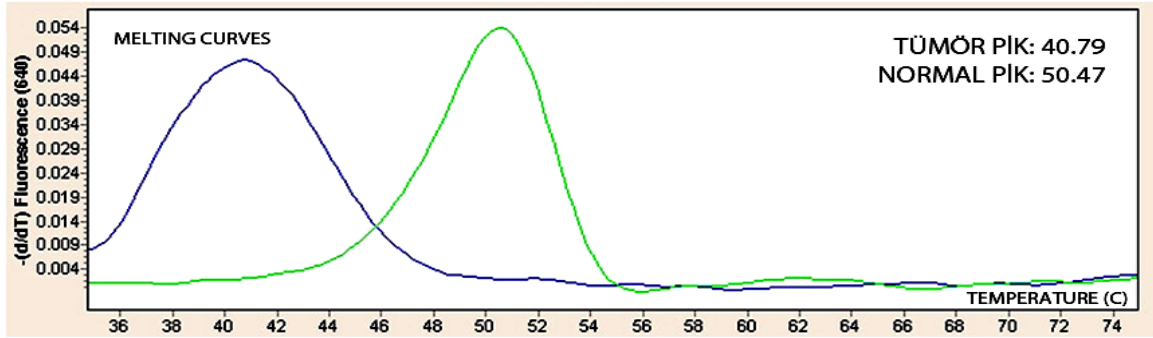
Araştırmada kullanılan bu teknik genel olarak PCR reaksiyonundan ibarettir. Ekstrakte edilen DNA'dan PCR ile çoğaltılan 7 gen bölgesi mikrosatellitlerin yoğun olduğu bölgeler olup; bu nedenle MSİ marker (belirleyici) gen bölgeleri olarak bilinirler. Bu bölgeler RT-PCR yardımıyla çoğaltılırken; eşleşme aşamasında çift zincir haline gelir, denatürasyon aşamasında ise ısı yardımıyla ayrılır. İşte bu süreçte eğer mikrosatellit bölgeleri stabilse, başka bir deyişle bu gen bölgelerinde nükleotid sıralanmasında bir farklılaşma yaksa eşleşme daha sağlamdır ve denatürasyonda ayrılma için daha yüksek ısı gerekir. Tersine MSİ nedeniyle zincirde farklılaşma oluyorsa bağlanma daha zayıf olup, daha düşük ısıda gerçekleşir. Bu yöntemde kişinin hem tümör hem de normal dokusunun bulunması şarttır. RT-PCR ile tümör dokusunda denatürasyonun normal dokuya göre çok daha düşük ısıda gerçekleştiği gözlenir. RT-PCR melting peak yönteminde çift zincirinin ayrılması için gereken ısıların dökümü yapılır ve grafik halinde görüntülenir (Şekil 5).

3.6.2.3.2. Uygulama basamakları:

- Özel olarak hazırlanan primerler kullanılarak MSİ belirleyici genleri olan Bat25, Bat26, NR21, NR24, mono27, pentaD ve pentaC bölgeleri RT-PCR ile amplifiye edildi.
- Amplifikasyon öncesi önerilen prosedürler uygulandı. Bu amaçla primerleri hazırlayan firma tarafından tedarik edilen reaktifler, önerilen miktarda primerlere eklenerek cihaza konuldu.
- RT-PCR melting peak testi Roche Light Cycler 480II cihazıyla gerçekleştirildi (Resim3).
- Cihaz, işlem sırasında tümörden ve normal dokudan ekstrakte edilen DNA'lar arasında çift zincirin ayrılması için gereken ısıyı hem sayısal hem de grafiksel olarak yansıttı.
- Grafiksel dökümlerde eğer ayrışma ısıları arasında fark yoksa tek eğri, büyük fark varsa çift eğri oluşmaktaydı (Şekil6).



Resim 3: MSİ tespitinde kullanılan RT-PCR melting curve (peak) cihazı.



Şekil 5: MSİ saptanan olguda, tümörden ve normal dokudan ekstrakte edilen DNA'lar arasında çift zincirin ayrılması için gereken ısıdaki büyük fark (üstte) ve MSS bir olguda ihmal edilebilir fark (altta).

3.6.2.4. Arşiv bloklarından ekstrakte edilen DNA'dan PCR ile çoğaltılan 7 MSİ belirleyici gen lokusunda FCE ile MSİ araştırılması

3.6.2.4.1. Genel ilke:

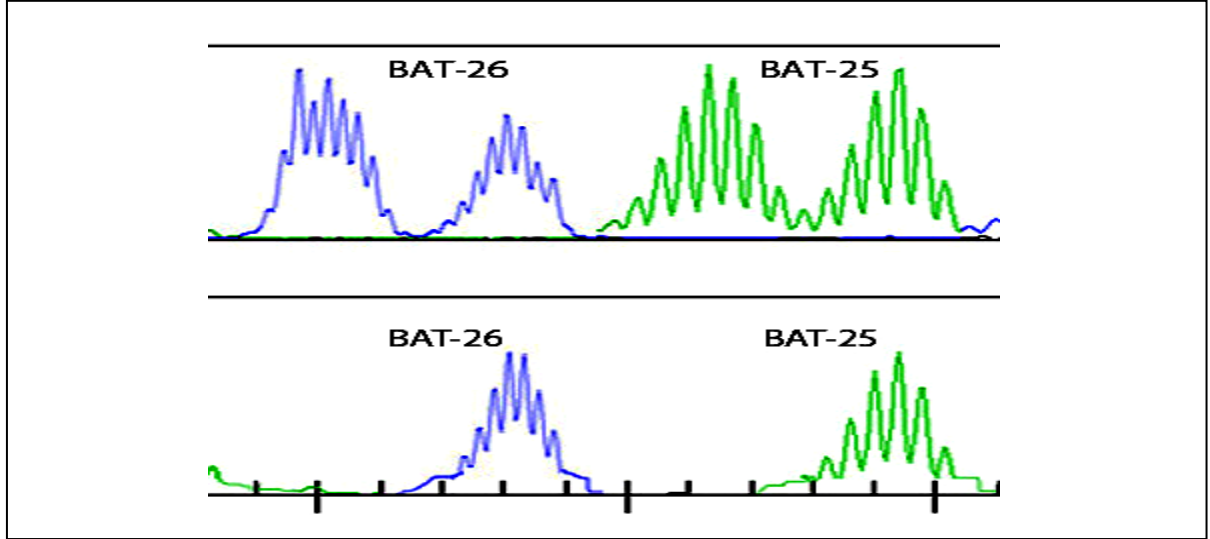
Floresan kapiller elektroforez (FCE) yönteminde; istenen gen bölgesi yine PCR yardımıyla çoğaltılır. Ancak bu defa MSİ belirleyici 7 gen bölgesi, moleküler genetik çalışmalarda kullanılan malzemeleri hazırlayan laboratuvarında özel floresan boylarla işaretlenir. Farklı floresan boylarla işaretli primerler ile 7 gen bölgesi PCR yardımıyla çoğaltılır. Çoğaltılmış ve farklı floresan boylarla bağlanmış gen parçacıkları kapiller elektroforezde yürütülür. Jelde ilerlerken lazer ışık kaynağı ile karşılaşır. Bu sırada lazer etkisi ile floresan boyanın yaptığı ışımaya bir detektör aracılığıyla ölçülür. Tüm bu aşamalar otomatik kapalı sistemde yürür ve sonuçlar grafik şekline dönüştürülür.

3.6.2.4.2. Uygulama basamakları:

- Özel olarak hazırlatılan floresan boylar ile işaretlenmiş primerler kullanılarak MSİ belirleyici genleri olan Bat25, Bat26, NR21, NR24, mono27, pentaD ve pentaC bölgeleri amplifiye edildi.
- Amplifikasyon öncesi FCE tekniği için önerilen prosedürlere uygun şekilde işlemlerden geçirildi. Bu amaçla primerleri hazırlayan firma tarafından tedarik edilen reaktifler, önerilen miktarda primerlere eklenerek cihaza konuldu.
- FCE işlemi Beckmann DNA squencer cihazıyla gerçekleştirildi (Resim4).
- Kapalı sistem gerçekleşen reaksiyon sonrası cihaz, maksimum ışımamanın saptandığı tepelerin grafik olarak dökümünü yaptı.
- FCE yöntemiyle MSİ araştırıldığında, tıpkı bir önceki yöntemle benzer şekilde normal doku ve tümörden elde edilen gen lokuslarında farklı ışımaya tepelikleri oluştu.
- Grafikselleştirilmiş dökümlerde eğer MSİ yoksa tümör ve normal dokuda benzer eğri, MSİ varsa farklı eğriler oluşmaktaydı (Şekil6).



Resim 4: FCE uygulaması için kullanılan cihaz.



Şekil 6: MSİ olan bir kolon tümöründe, normal dokuda FCE ile tek bir ışımaya tepesiği izlenirken (altta), tümörde MSİ'ye bağlı iki ışımaya tepesi oluşmuş (üstte).

3.7. Araştırma planı ve takvimi:

BUÇH Çocuk Cerrahisi servisinde nefrektomi işleminin gerçekleştirilmesi ve BUÇH patoloji Laboratuvarında dukuların incelenmesi ve raporlanması (1999- 2010).



Demonstratif parafin bloklardan 5 mikrometrelilik kesitlerin lizimli lamlara alınması ve YET proteinleri için İHK'sal çalışmaların yapılması (Ocak- Mart 2010).



Normal böbrek ve tümörden 2 mm çapında doku rneklelerinin ayrılması ve DNA ekstraksiyonu (Haziran – Temmuz 2010).



PCR ile istenen MSİ belirleyici gen bölgelerinin çoğaltılması ve PCR melting peak analizinin yapılması (Ekim- Aralık 2010).



FCE testinin yapılması (Mayıs- Haziran 2011).



Verilerin istatistiksel analizi (Temmuz 2011)



Sonuçların analizi ve değerlendirilmesi (Ağustos 2011)

3.8. Verilerin değerlendirilmesi

3.8.1. İstatistik Yöntem:

İstatistiksel değerlendirme SPSS 9.0 programı kullanılarak yapıldı. Mikroskopik değerlendirme sonrası YET protein ekspresyon oranları yüzde olarak sayısal, RT-PCR melting peak sonuçları santigrad derece olarak sayısal, FCE sonuçları işıma dereceleri olarak yine sayısal olarak değerlendirilmiştir. Sağ kalım süreleri, tümör boyut ve ağırlıkları da sayısal verilerle ölçeklenmiştir. Ancak alışma ve kontrol gruplarındaki olgu sayısı temel alındığında değerlendirme nonparametrik Spearman korelasyon testi, Mann Whitney U testi Ve Ki-Kare testi kullanılarak yapılmıştır. 0.05'den küçük p değerleri istatistiksel anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.9.Araştırmanın sınırlılıkları

İHK'sal boyamalarda saflaştırılmış poliklonal anti-MLH1 (klon:17814; Spring Bioscience, CA, USA) 1:100 dilüsyonda, anti-PMS2 (klon:CS-618, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) 1:200 dilüsyonda, anti-MSH2 (klon: E17794, Spring Bioscience, CA, USA) 1:100 dilüsyonda ve anti-MSH6 (klon: E17674, Spring Bioscience, CA, USA) 1:50 dilüsyonda kullanıldı.

Hazır ticari ürünler olan bu primer antikörlerin her birinin prospektüsünde önerildiği şekilde, sadece nükleer boyanmalar dikkate alındı. Çok zayıf veya düşük orandaki nükleer boyanma yanı sıra sitoplazmik veya stromal renklenme şeklindeki nonspesifik boyanmalar negatif kabul edildi. Birkaç demonstratif büyük büyütme alanı incelendikten sonra eğer nükleer boyanma 100 hücreden birinde saptanırsa ya da yoğun ama sitoplazmikse sonuç negatif kabul edildi.

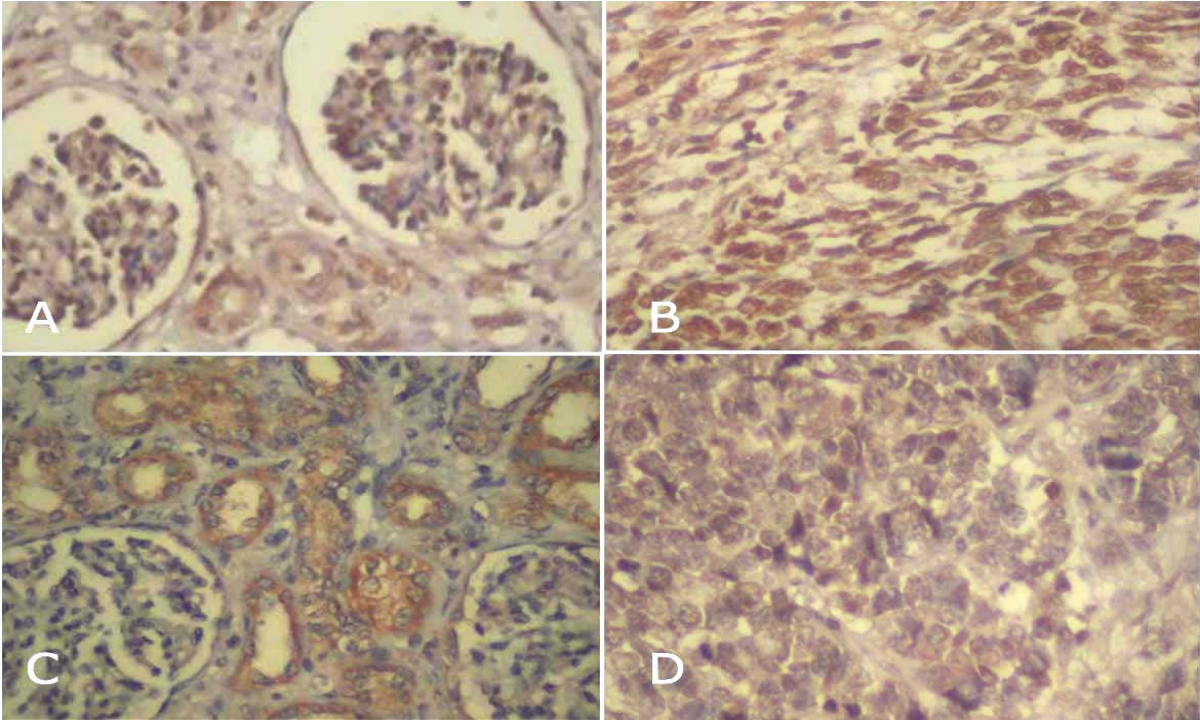
Wilms tümörlü olgularda böbrek dokusu ile tümör dokusunun boyanma paterni benzer iken (Resim5); kontrol kolon tümörlü olgularda, tümör dokusu ve normal dokudaki boyanmanın farklı olabildiği görüldü. MSİ pozitif olguların normal dokusunda boyanma defekti yokken, tümörde boyanma defekti vardı (Resim6).

RT-PCR ile melting peak testinde; çalışma grubunda tümör ve normal dokudan ekstrakte edilen DNA çift zincirlerinin ayrışması için gereken ısılar arasında 1 santigrad dereceden fazla fark varsa MSİ pozitif kabul edildi. Isı farkı en fazla 1,7°C bulundu. Oysa test kapsamında kontrol grubu olarak değerlendirilen kolon tümörlü olguların MSİ pozitif bulunanlarında fark 6°C'den fazlaydı.

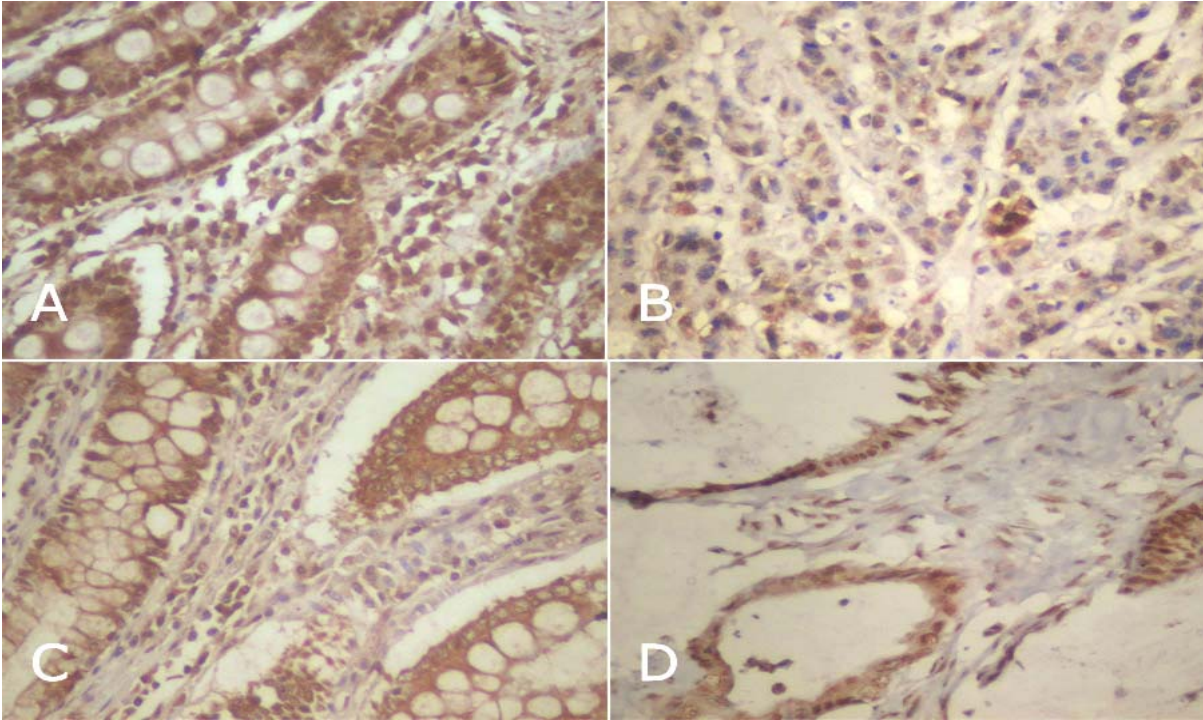
FCE sonuçlarının değerlendirmesinde de benzer şekilde, cihazın verdiği grafiksel dökümler dikkate alındı. MSİ fenotipindeki bir kolon tümöründe, normal dokuda FCE ile tek bir ışımaya tepesi izlenirken, tümörde MSİ'ye bağlı iki ışımaya tepesi oluşmuştu. Oysa MSS fenotipindeki kolon tümörlülerde ve çalışma grubunun tamamında normal doku ve tümörde benzer grafik görünümü elde edildi. Kontrol grubunda pozitif örneklerin varlığı nedeniyle grafiksel fark olmayan tüm WT'lü olgular FCE ile MSS kabul edildi.

3.10. Etik Kurul Onayı

Etik Kurul onayı (08.01.2010) alınmış (EK1) ve her çocuk için ayrı bilgilendirilmiş onam formu düzenlenip, çocukların anne veya babalarına imzalatılmıştır.



Resim 5: MSH2 boyanması normal (B) ve defektif olan (D) WT'lü 2 ayrı olgunun böbrek dokularında da benzer boyanma paterni (A ve C).



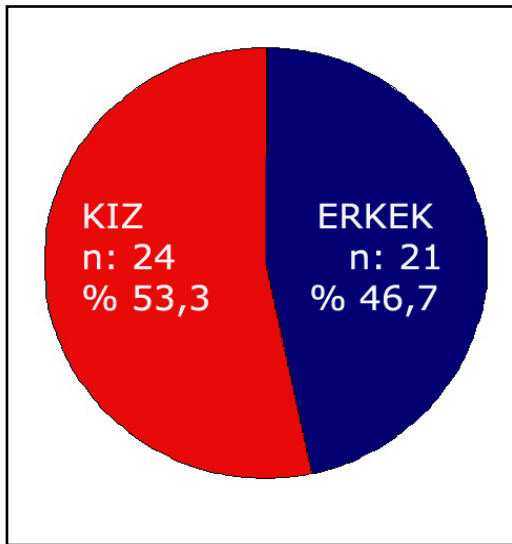
Resim 6: MSİ (B) ve MSS fenotipindeki (D) 2 kolon tümörünün normal dokularında MSH2 ile normal boyanma paterni (A ve C). MSİ pozitif olgunun normal dokusunda defekt yokken (A), tümörde boyanma defekti var (B). MSS olguda hem normal dokuda (C), hem de tümörde (D) MSH2 defekti yok.

4.BULGULAR

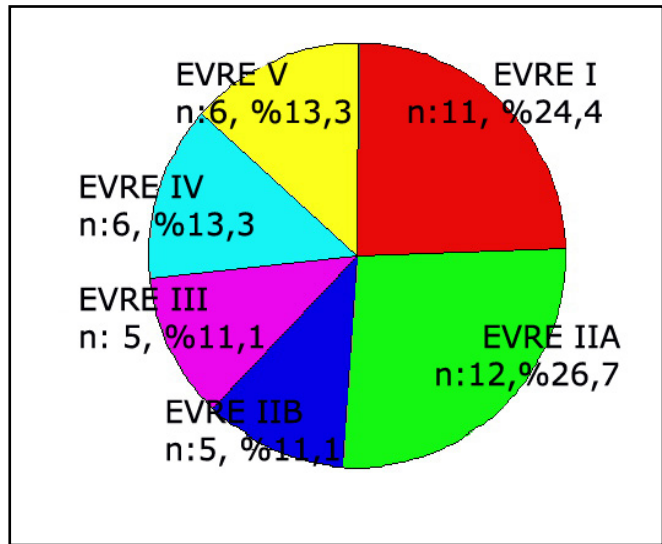
4.1.Olgulara genel bakış

WT'lü 45 çocukta; bireysel özelliklerine uygun tedavi modalitelerine göre cerrahi, KT ve RT uygulandı (6). Tek taraflı tümörü olan tüm hastalara preoperatif neo-adjuvant KT verilmeksizin direkt nefrektomi uygulandı. Bir olgudaki çift toplayıcı sistem varlığı dışında olguların hiç birinde konjenital majör anomali veya eşlik eden spesifik sendrom saptanmadı. Hastaların 21 tanesi (%46,7) erkek, 24'ü (%53,3) kız çocuğuydu (Şekil 7). Ortalama yaş $3,18 \pm 2,1$ yıl (5 ay- 8 yıl) bulundu. Tümörlerin 18'i (%40) sol böbrekte, 21'i (%46,7) sağ böbrekte lokalize olup; 6 olguda (%13,3) çift taraflı tümör saptandı. Ortalama tümör çapı 9,29 cm, ortalama böbrek ağırlığı 491,47 gr bulundu. Onbir olguda (%24,4) evre I, 17 olguda (%37,8) evre II, 5 olguda (%11,1) evre III, 6 olguda (%13,3) evre IV ve yine 6 olguda (%13,3) evre V tümör saptandı (Şekil 8). Olguların 35'i (%77,8) sağ iken, 10 hasta (%22,2) eks oldu. Ortalama sağ kalım süresi $43,8 \pm 30,6$ aydı (2- 111).

Çalışmada genel olarak NWTSG protokolüne uygun şekilde önce cerrahi yapılmakla birlikte, bilateral tümürlü olgularda preoperatif KT eklendi ve diffüz anaplazi saptanan olguda ilaç kombinasyonları değiştirildi. Ek olarak kötü histolojili olgularda önerildiği şekilde RT uygulandı.



Şekil 7: Olguların cinsiyete göre dağılımı.



Şekil 8: Olguların evreye göre dağılımı.

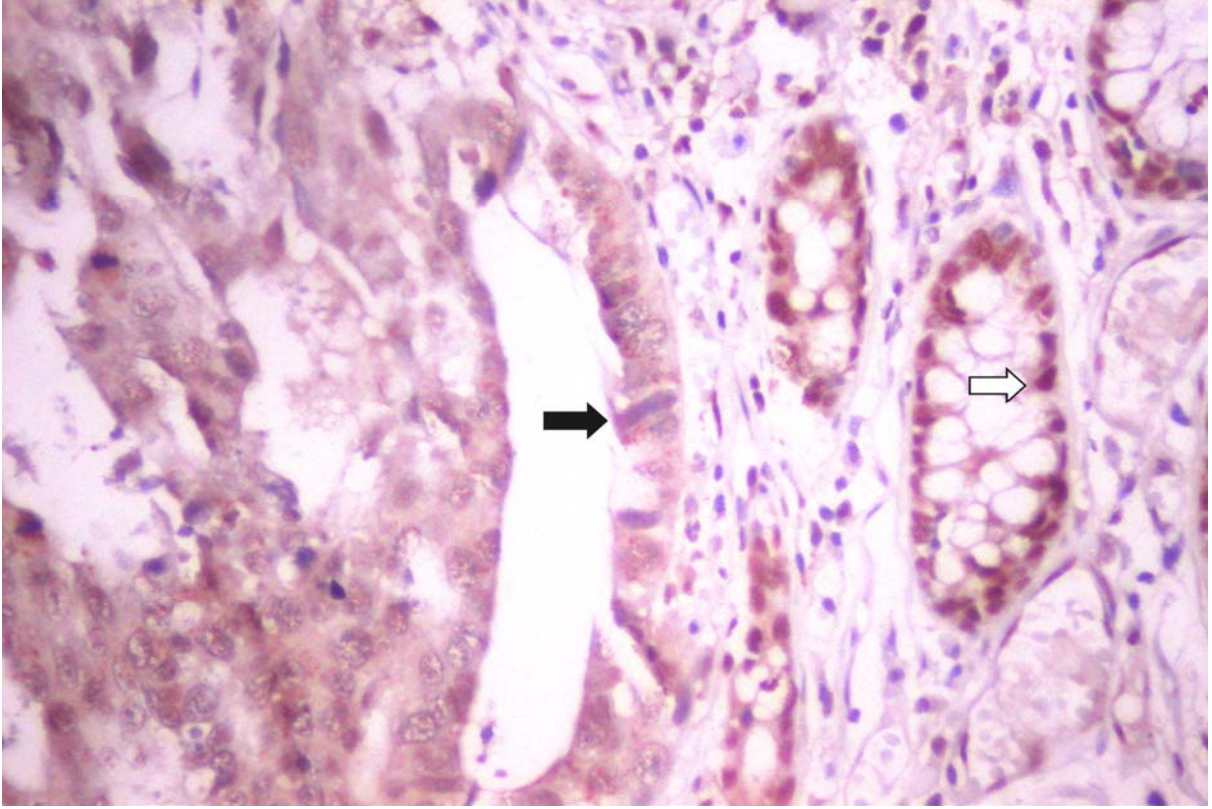
Tümörler iyi ve kötü histolojili olarak sınıflandırıldı. Otuz altı tümör (%80) trifazik iken; 9 (%20) tanesi blastemal ağırlıklı bifazik veya blastemal monofazik görünümdeydi. Bir olguda diffüz anaplazi saptandı. Bu 10 olgu kötü histolojili hastalar olarak değerlendirildi. Diffüz anaplazili tümör evre IV olup; PMS2, MSH2 ve MSH6 boyanma defekti gösteriyordu. İki yaşındaki erkek hastada KT yanıtı yoktu ve 6 ay içinde kaybedildi. Bilateral tümörlü 6 olgunun 3 tanesi ile tek taraflı tümör olanlardan 3 tanesi tümör relapsı sonrası eks oldu. Tüm seride ölen 10 hastanın diğer 4 tanesi ise WT ile ilişkisiz pnömoni, sepsis, hepatik yetmezlik ve veno-okluzif hastalıktan kaybedildi. Olguların klinikopatolojik özellikleri Tablo 3'de özetlenmiştir.

4.2.İmmünohistokimya, RT-PCR melting peak ve FCE bulguları

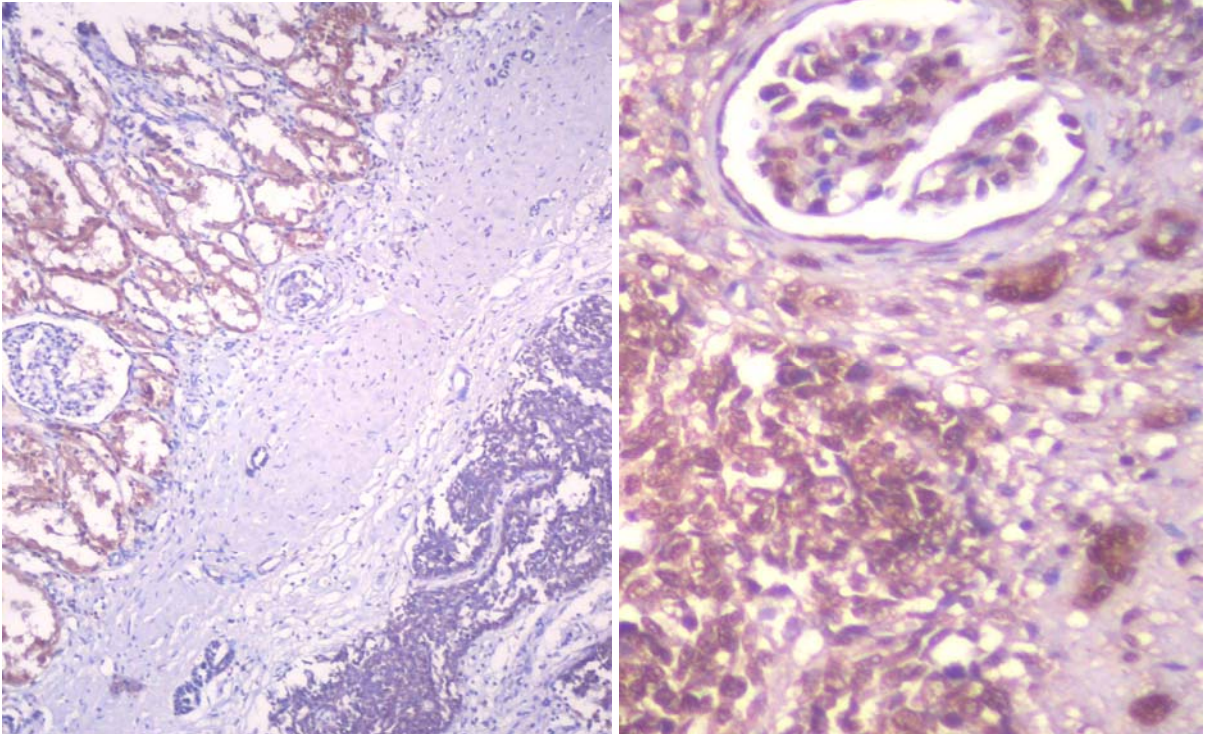
DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonu başarılıydı. Kontrol amacıyla 35 yaş altında kolorektal karsinom tanısı alan ve multipl polipleri bulunmayan 5 kolon tümörü materyali kullanıldı. Benzer şekilde demonstratif tümör alanları ve normal doku içeren bloklardan İHK'sal çalışmalar ve DNA ekstraksiyonu yapıldı. Bu 5 tümörün 3'ünde (%60) YET protein ekspresyon defekti ve MSİ saptandı. İlginç olarak kolon tümörlerinde YET protein ekspresyon defekti olsa bile aynı olgunun normal kolon dokusunda YET proteinler normal şekilde eksprese ediliyorlardı (Resim7). Oysa WT'lü olguların tümörde YET protein ekspresyon defekti varsa, normal böbrekte de benzer defekt izlendi (Resim 8). Aynı farklılık RT-PCR ile melting peak testinde de saptandı. Çalışma grubunda tümör ve normal dokudan ekstrakte edilen DNA çift zincirlerinin ayrışması için gereken ısılar arasında fark en fazla 1,7°C bulundu. Oysa test kapsamında kontrol grubu olarak değerlendirilen kolon tümörlü olguların MSİ pozitif bulunanlarında fark en az 6°C'deydi (Şekil 9).

Çalışma grubundaki 6 olguda, 7 MSİ marker geninden sadece birinde MSİ saptandı ve bu gen, insan c-kit genini de taşıyan BAT-25 sekansiydı (48). FCE testinde çalışma grubunda tüm olgular MSS fenotipinde bulundu (Şekil 10)

Çalışma grubundaki tümörlerden 19'unda (%42,2) MLH1, PMS2, MSH2 ya da MSH6 proteinlerinin birinde ekspresyon kaybı vardı. Sekiz olguda (%17,8) MLH1, 9 Olguda (%20) PMS2, 7 olguda (%15,6) MSH2 ve 16 olguda (%35,5) MSH6 ekspresyon defekti gözlemlendi. Oysa kontrol kolon karsinomlarında daha çok MLH1 ve MSH2 boyanma defektleri mevcuttu.



Resim 7: Kolon karsinomunda nükleer MSH2 ekspresyon kaybı izlenirken (siyah ok), bitişik normal kolon dokusunda nükleer ekspresyon devam etmekte (beyaz ok).

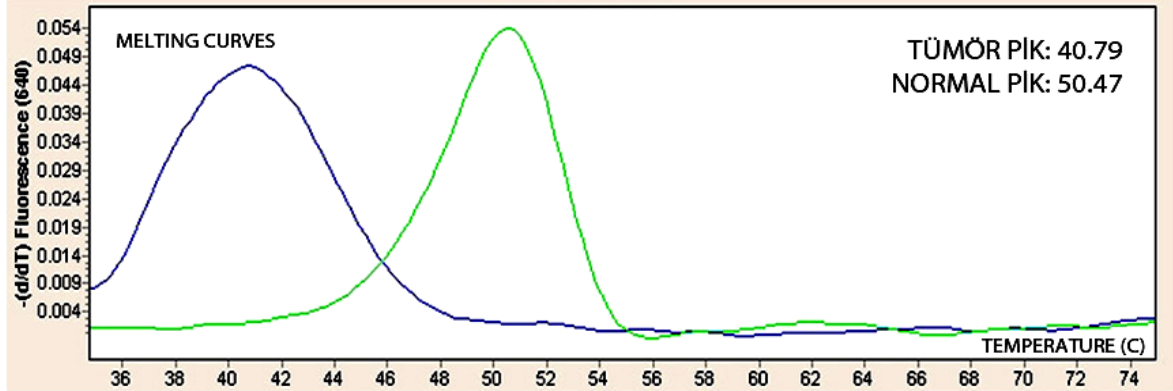


Resim 8: WT ve komşu renal dokuda nükleer MSH6 ekspresyon kaybı (solda), başka bir WT'ünde hem normal dokuda hem de tümörde pozitif MSH2 boyanması (sağda).

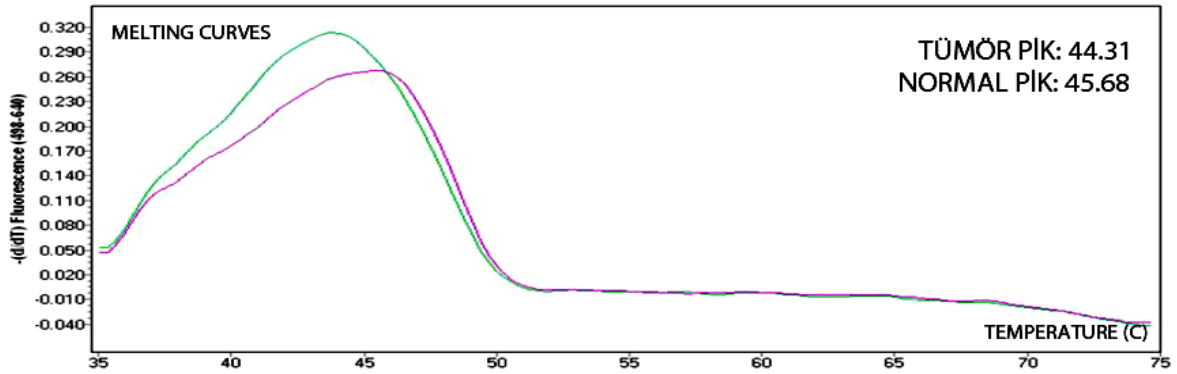
Tablo 3: Çalışma kapsamındaki hastaların klinikopatolojik özellikleri.

Cins	MSI	Yaş	BAT25	BAT26	NR21	NR24	Mono27	Histoloji	MLH1	PMS2	MSH2	MSH6	Tümör yeri	Tümör ağırlığı (g)	Tümör Çapı (cm)	Evre	Durum	İzlem süresi (ay)
E	-	2	.5	.2	.2	.2	.3	iyi	+	+	+	-	sol	1602	6	III	ölü	42
K	+	2	1.7	.5	.2	.0	.1	iyi	-	+	+	+	sag	450	8	IV	ölü	17
K	-	5	.9	.0	.0	.3	.4	kötü	-	+	+	+	sol	680	8	II	sag	111
E	-	5	.3	.0	.3	.0	.2	iyi	+	+	+	+	sol	510	8	II	sag	111
K	-	8	.9	.4	.5	.1	.5	kötü	+	+	+	-	sag	600	10	I	sag	109
K	-	7	.1	.1	.2	.4	.4	iyi	+	+	+	+	sag	500	9	II	sag	25
E	-	3	.1	.1	.2	.1	.2	iyi	+	+	+	-	sol	700	11	II	sag	91
K	-	6	.1	.0	.1	.0	.1	iyi	-	+	+	-	çift	130	10	V	ölü	48
K	-	1	.2	.0	.0	.2	.1	kötü	-	-	+	+	sol	415	11	III	sag	91
E	-	1	.6	.2	.1	.3	.4	iyi	+	+	+	+	sol	345	12	II	sag	37
K	-	6	.4	.2	.2	.4	.5	iyi	+	-	+	-	sag	500	6	III	sag	79
K	-	5	.0	.0	.0	.0	.1	kötü	-	-	-	-	çift	30	2	V	sag	75
K	-	4	.4	.1	.0	.0	.2	kötü	+	+	+	+	çift	198	7	V	sag	2
E	-	2	.0	.1	.3	.4	.3	kötü	+	-	-	-	sol	1004	11	IV	ölü	6
E	-	0	.0	.0	.2	.0	.2	iyi	+	+	+	+	sol	215	10	II	ölü	17
K	+	3	.4	.2	.3	.3	1.5	iyi	-	-	-	-	sol	138	11	I	sag	80
K	-	3	.0	.0	.1	.0	.1	iyi	-	-	+	-	çift	60	3	V	ölü	11
E	+	1	.8	.2	.1	.1	1.4	iyi	+	-	-	-	sol	1007	15	I	sag	70
E	-	6	.1	.0	.2	.1	.2	iyi	+	-	-	-	sag	550	6	III	sag	67
K	-	2	.2	.0	.4	.2	.4	iyi	+	+	+	+	sag	330	8	II	sag	65
E	-	2	.3	.5	.5	.5	.5	iyi	+	+	+	-	sol	323	7	I	sag	67
E	-	2	.5	.1	.2	.3	.3	iyi	+	+	+	-	sol	225	9	IV	sag	57
E	-	7	.1	.2	.3	.0	.1	iyi	+	+	+	+	sol	795	14	II	sag	45
E	-	7	.1	.0	.2	.3	.4	iyi	-	-	-	-	sag	176	7	II	sag	51
E	-	5	.0	.0	.1	.0	.1	iyi	+	+	-	-	sag	211	8	II	ölü	30
E	-	3	.0	.1	.3	.3	.4	iyi	+	+	+	+	sag	550	11	I	sag	52
K	+	4	1.1	.3	.0	.0	.7	iyi	+	+	+	-	sag	403	7	IV	sag	51
E	-	5	.0	.0	.4	.3	.2	iyi	+	+	+	+	sag	233	10	IV	sag	51
K	-	1	.9	.0	.1	.2	.5	iyi	+	+	+	+	sol	750	13	I	sag	50
E	-	3	.2	.0	.3	.3	.2	kötü	+	+	+	+	çift	250	8	V	sag	49
E	-	2	.1	.0	.2	.0	.1	kötü	+	+	+	+	sag	530	8	II	sag	37
K	-	0	.1	.0	.0	.1	.2	iyi	+	+	+	+	sag	450	8	I	sag	46
E	-	1	.3	.1	.1	.4	.4	iyi	+	+	+	+	sag	839	5	II	sag	46
K	+	2	.9	.5	.7	.9	1.6	kötü	+	+	+	+	sag	389	13	II	sag	35
K	-	5	.6	.0	.0	.4	.5	kötü	+	+	+	+	sag	1150	15	II	ölü	21
E	-	0	.1	.6	.2	.8	.5	iyi	+	+	+	+	sag	456	10	I	ölü	3
K	-	2	.2	.0	.5	.0	.4	iyi	+	+	+	+	çift	500	10	V	ölü	4
K	-	5	.2	.0	.2	.2	.1	iyi	+	+	+	+	sol	750	12	II	sag	25
E	-	4	.2	.2	.1	.2	.2	iyi	+	+	+	+	sol	945	13	IV	sag	25
E	-	1	.3	.2	.2	.2	.3	iyi	+	+	+	+	sag	90	5	III	sag	20
K	-	2	.5	.2	.1	.3	.5	iyi	+	+	+	+	sag	670	12	II	sag	18
K	-	3	.2	.1	.1	.2	.1	iyi	+	+	+	+	sag	356	9	II	sag	18
K	+	2	.8	.2	.0	.0	1.9	iyi	+	+	+	+	sol	699	14	I	sag	7
K	-	2	.0	.2	.2	.3	.3	iyi	+	+	+	+	sol	147	9	I	sag	6
K	-	1	.0	.2	.1	.18	.2	iyi	+	+	+	+	sag	265	7	I	sag	3

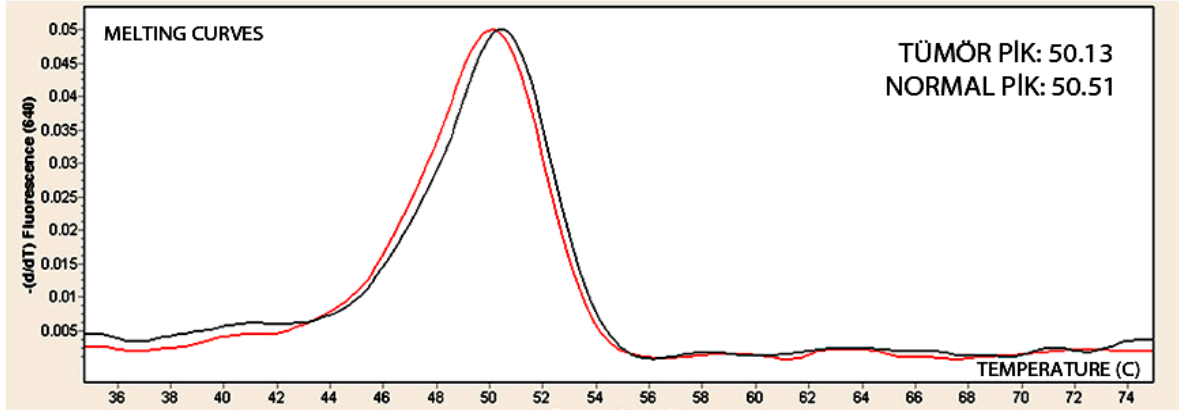
MSI- pozitif kolon karsinomu



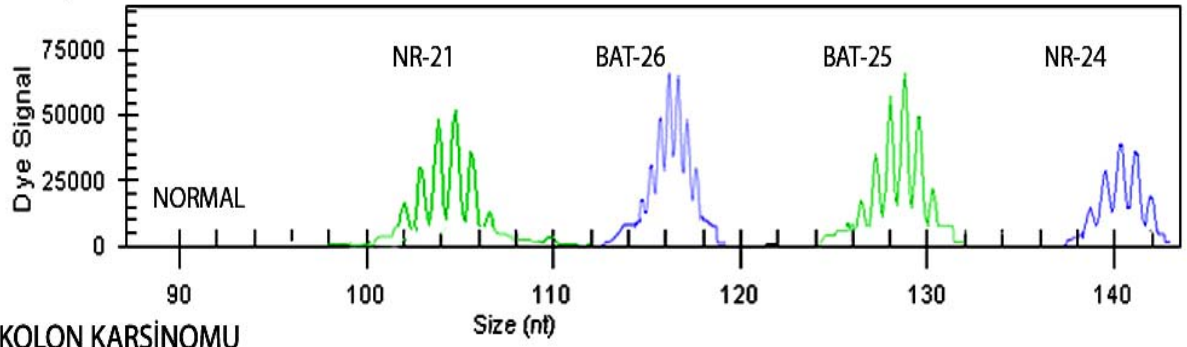
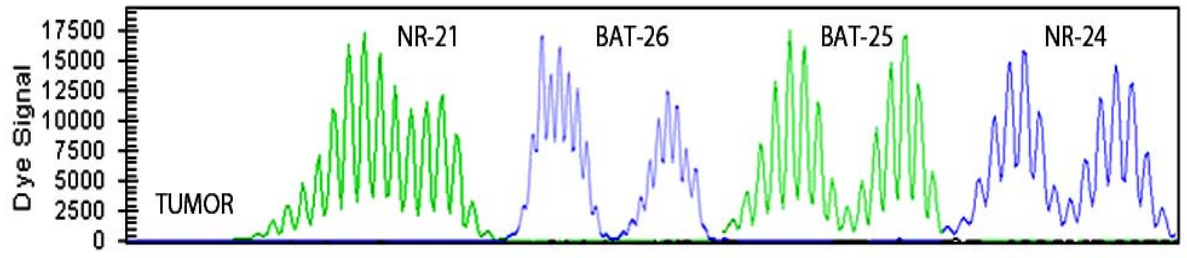
MSI-düşük derecede pozitif Wilms Tümörü



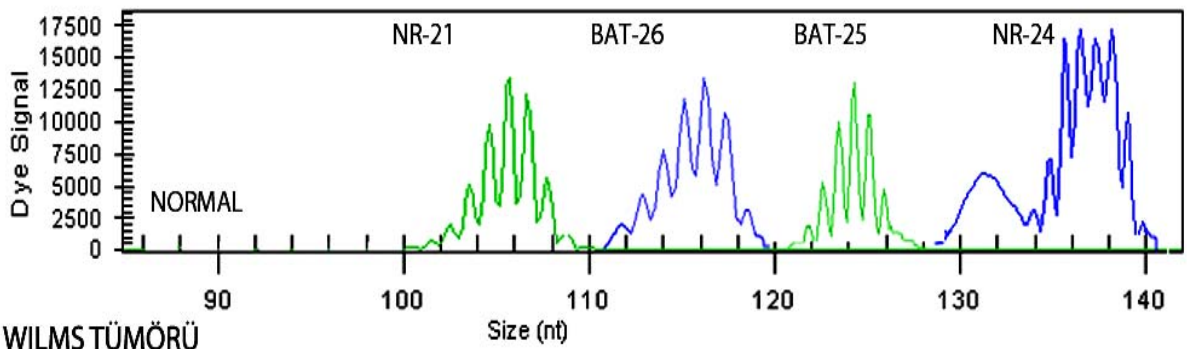
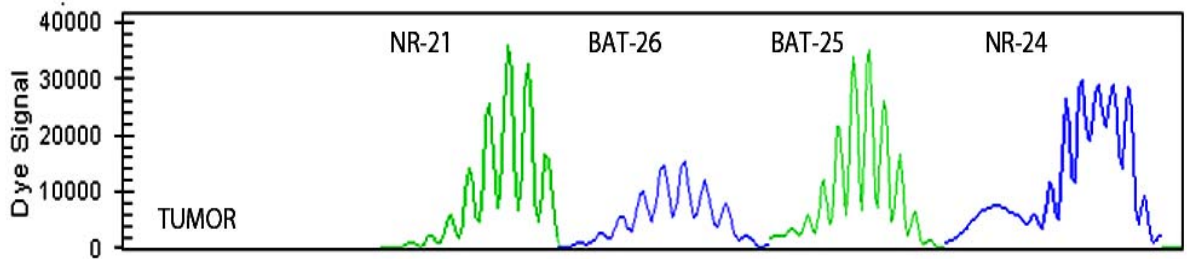
MSI- negatif Wilms tümörü



Şekil 9: RT-PCR melting peak testinde; MSS fenotipinde WT olgusunun (altta), MSI fenotipinde kabul edilen WT olgusunun (ortada) ve MSI (+) kolon karsinomunda (üstte), tümör ve normal dokulardan ekstrakte edilen DNA zincirlerinin ayrışma ısı derecelerini gösterir grafikler.



KOLON KARSİNOMU



WILMSTÜMÖRÜ

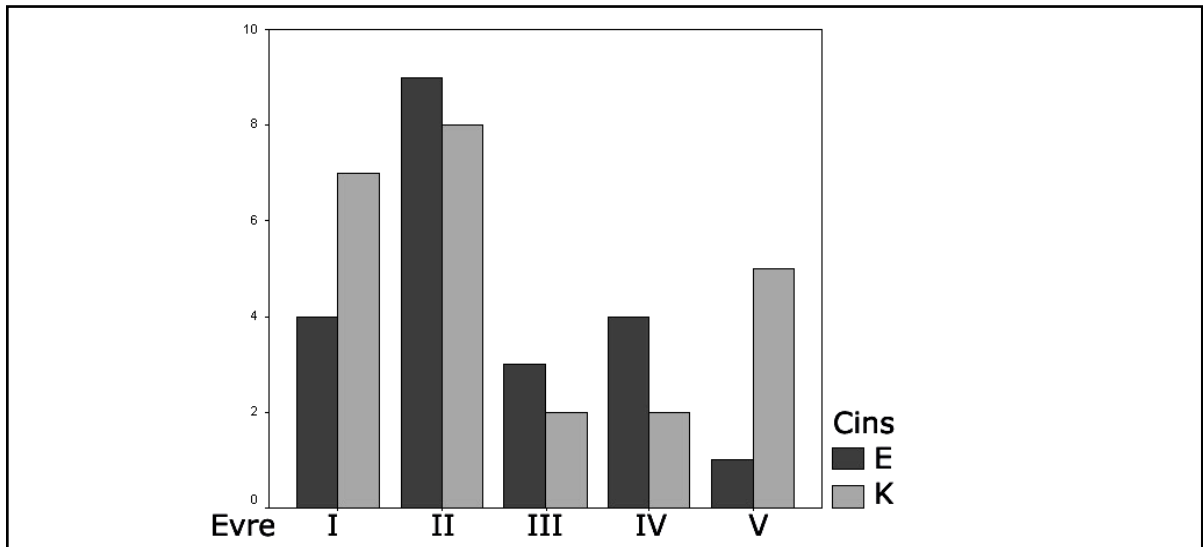
Şekil 10: FCE testinde; RT-PCR melting peak testiyle MSI fenotipinde kabul edilen WT olgusunda (altta) ve MSI (+) kolon karsinomunda (üstte), tümör ve normal dokulardan ekstrakte edilen DNA zincirlerinin floresans ışımalarını gösterir grafikler. Kolon tümöründe normal dokuda bulunmayan eğriler mevcut.

4.3. İstatistiksel bulgular

Evre ve cinsiyet arasında da ilişki yoktu (Şekil11). RT-PCR melting peak sonuçları dikkate alındığında MSİ ile bilateralite ($P=0,627$), evre ($p=0,815$) ve sağkalım oranı ($p=0,708$) benzeri prognostik faktörler arasında ilişki saptanmadı (Şekil 12 ve 13). Yalnızca tümör çapı ile MSİ arasında anlamlı istatistiksel ilişki vardı ($p=0,046$). MSİ saptanan olgularda daha büyük tümör mevcuttu. MSS 39 olguda ortalama tümör çapı 8,87 cm iken, MSİ fenotipli 6 olguda ortalama tümör çapı 11,67 cm bulundu.

YET protein ekspresyon defekti hem evre ile ($p=0.017$), hem de sağkalım süresiye ($p<0.01$) ilişkili bulundu (Şekil 14 ve 15). Ayrıca YET protein ekspresyon defekti ile tümör boyutu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon vardı ($p=0.021$). YET protein ekspresyon defekti saptanan olgularda daha küçük tümör mevcuttu. YET ekspresyonu normal olan 39 olguda ortalama tümör çapı 10 cm iken, YET ekspresyon defekti olan 19 olguda 8,21 cm bulundu. Mann Whitney U testi de, YET protein ekspresyon oranlarının hastalığın evresine göre değiştiğini gösterdi ($p=0.019$).

YET protein ekspresyon defekti ile MSİ varlığı arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.198$). Tüm olguların MS durumu ve YET protein defektine göre sağkalım eğrileri çıkartıldı (Şekil 16 ve 17). MSİ varlığı ve YET protein ekspresyon durumuna göre hastaların klinik özellikleri ve istatistiksel değerlendirme sonuçları tablo 4 ve 5’de özetlendi.



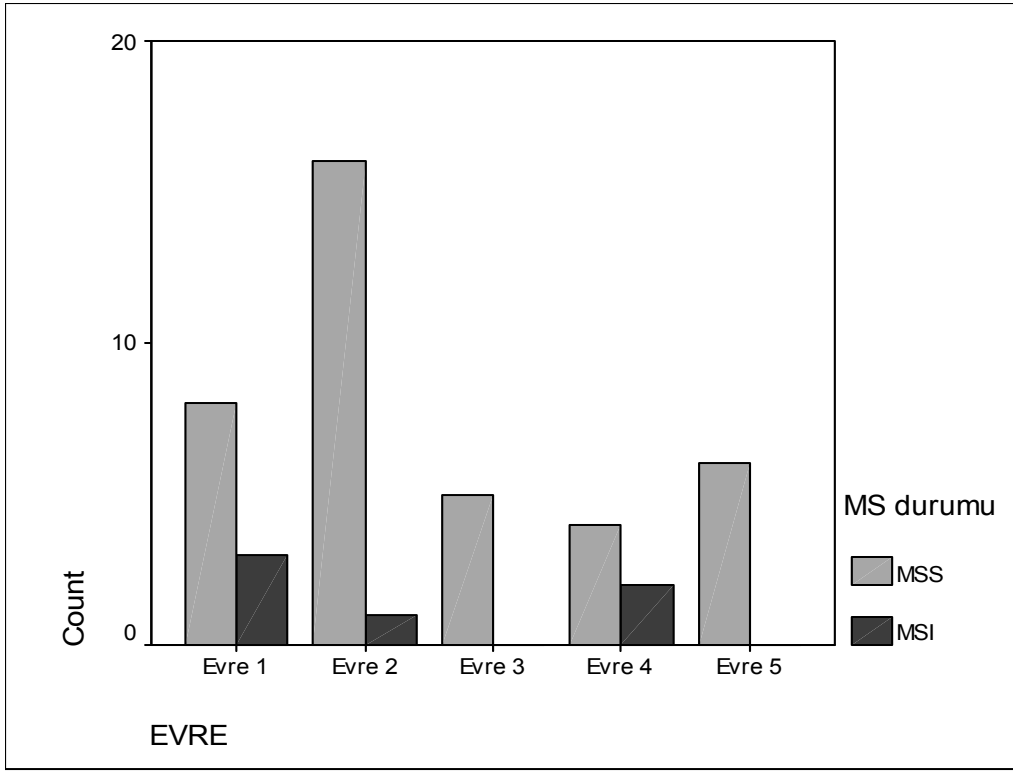
Şekil 11: Cinsiyet ve evre arasındaki ilişkiyi gösterir grafik ($p=0,954$).

Tablo 4: RT-PCR melting peak testinde MSI saptanan WT'lerinde, MS durumuna göre klinik özellikler.

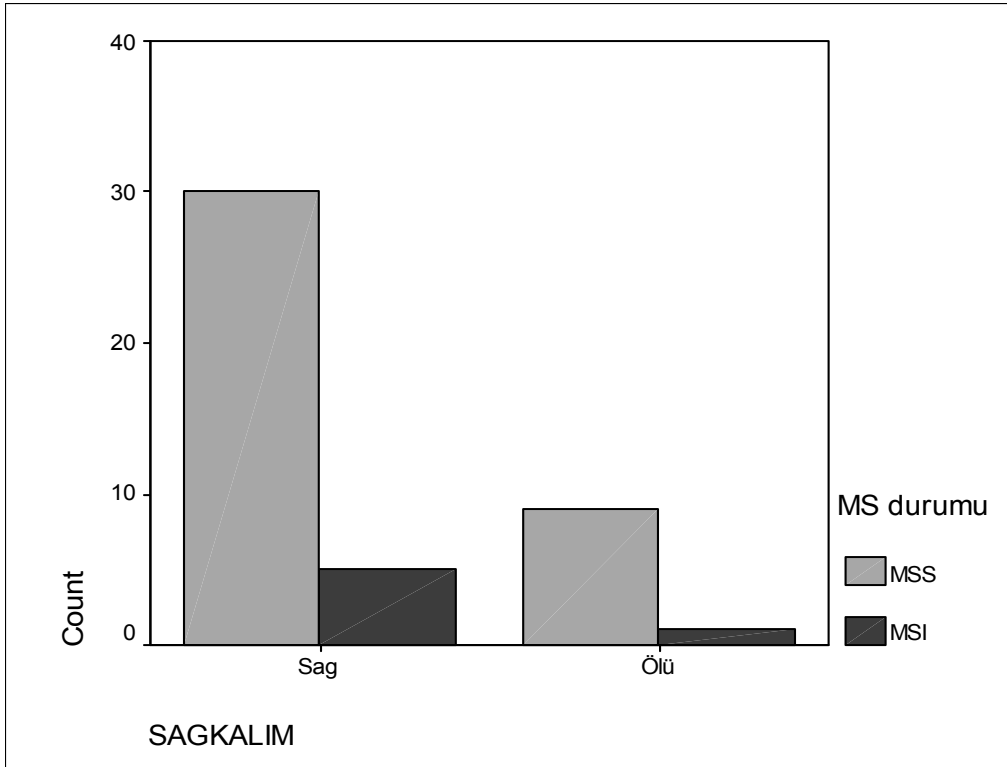
	Toplam olgu N=45	MSS N=39	MSI N=6	p
Cins (erkek/ kız)	21/24	20/19	1/ 5	0,119
Yaş (ortalama)	3,18± 2,1	3,31± 2,21	2,33± 1,03	0,404
Evre (erken/ ileri)	28/ 17	24/ 15	4/ 2	0,815
Prognoz (Sağ/ ölü)	35/ 10	19/ 2	12/ 8	0,708
Sağkalım süresi (ay)	43,8± 30,6	43,87± 31,2	43,3± 28,9	0,807
YET protein ekspresyonu (normal/ defektif)	26/19	24/ 15	2/ 4	0,286
Tümör çapı	9,29± 2,97	8,92± 2,85	11,67± 2,8	0,046
Böbrek ağırlığı	491,4± 322,2	487,9± 329,03	514,3± 300,2	0,832

Tablo 4: WT'lerinde, YET protein durumuna göre klinik özellikler.

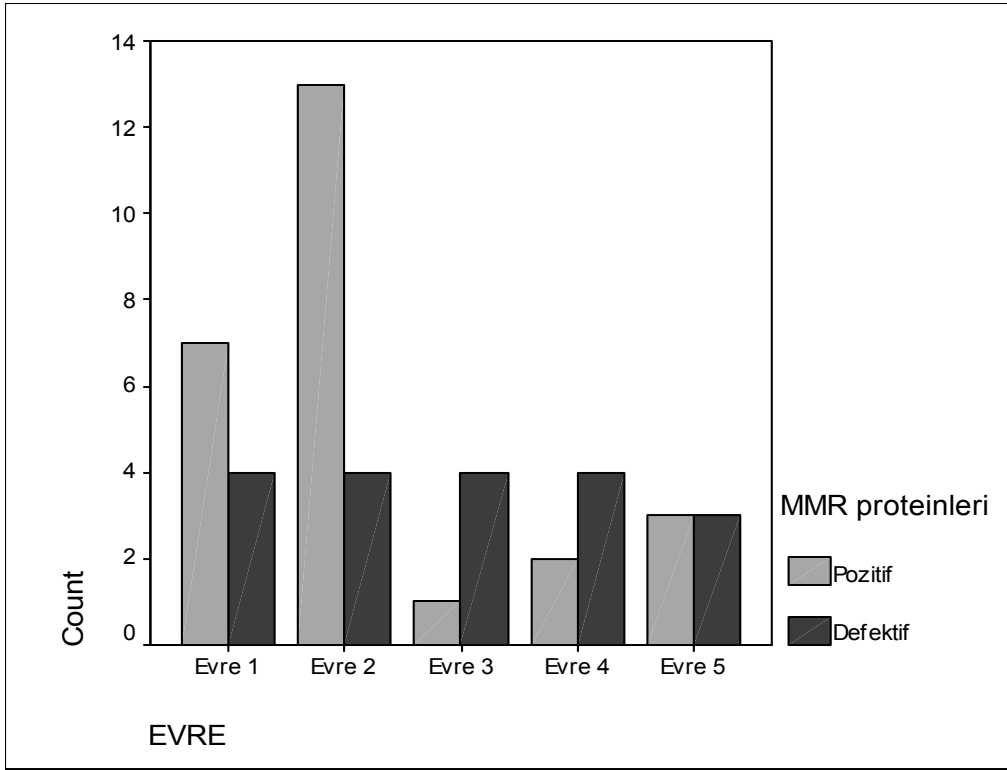
	Toplam olgu N=45	MLH1 (-) N=8	PMS2 (-) N=9	MSH2 (-) N=7	MSH6 (-) N=16	p
Cins (erkek/ kız)	21/24	1/7	4/ 5	5/ 2	7/7	0,297
Yaş	3,18± 2,1	4± 2,07	3,7± 2,2	4,1± 2,1	4,06± 2,1	0,068
Evre (erken/ ileri)	28/ 17	3/ 5	3/ 6	4/ 3	7/9	0,017
Prognoz (Sağ/ ölü)	35/ 10	5/ 3	7/ 2	12/ 4	11/5	0,176
Sağkalım (ay)	43,8± 30,6	60,5± 35,1	58,8± 30,5	54,1± 27,1	58,3± 27,5	0,001
MSS/ MSI	39/ 6	6/ 2	7/ 2	5/ 2	13/3	0,198
Tümör çapı	9,29± 2,9	7,5± 3,4	8± 4,2	8,5± 4,2	8,1± 3,2	0,021
Böbrek ağırlığı (g)	491,4± 322,2	259,8± 229,3	506,5± 311,6	445,1± 414,9	478,6± 428,8	0,083



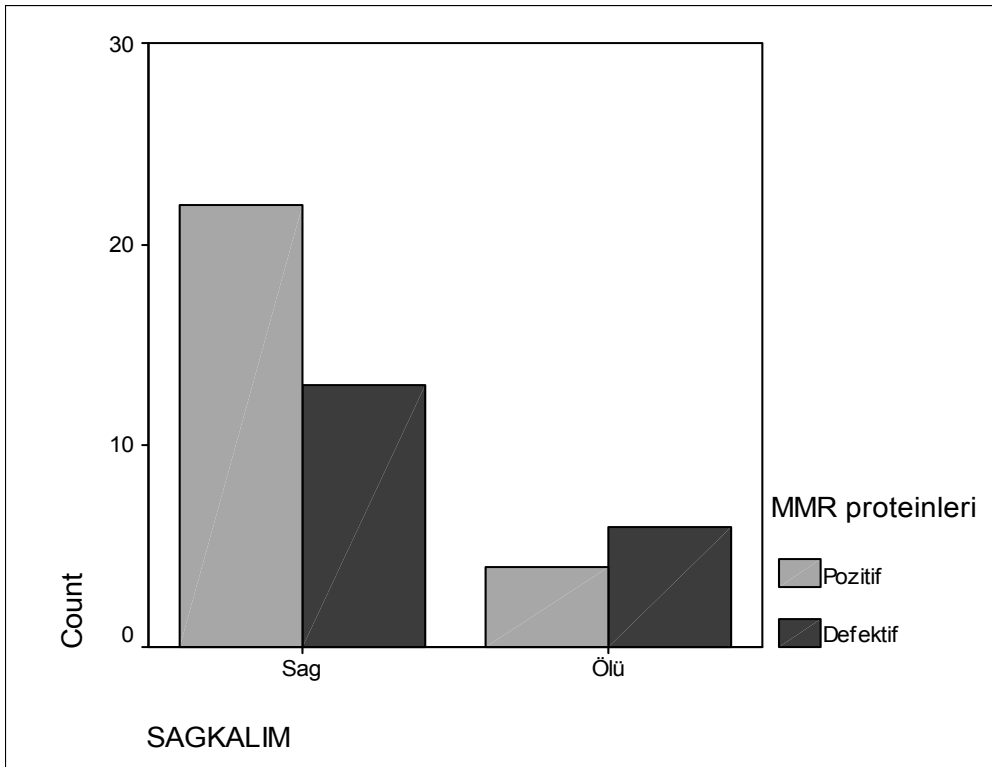
Şekil 12: MS durumu ve evre arasındaki ilişkiyi gösterir grafik ($p=0,815$).



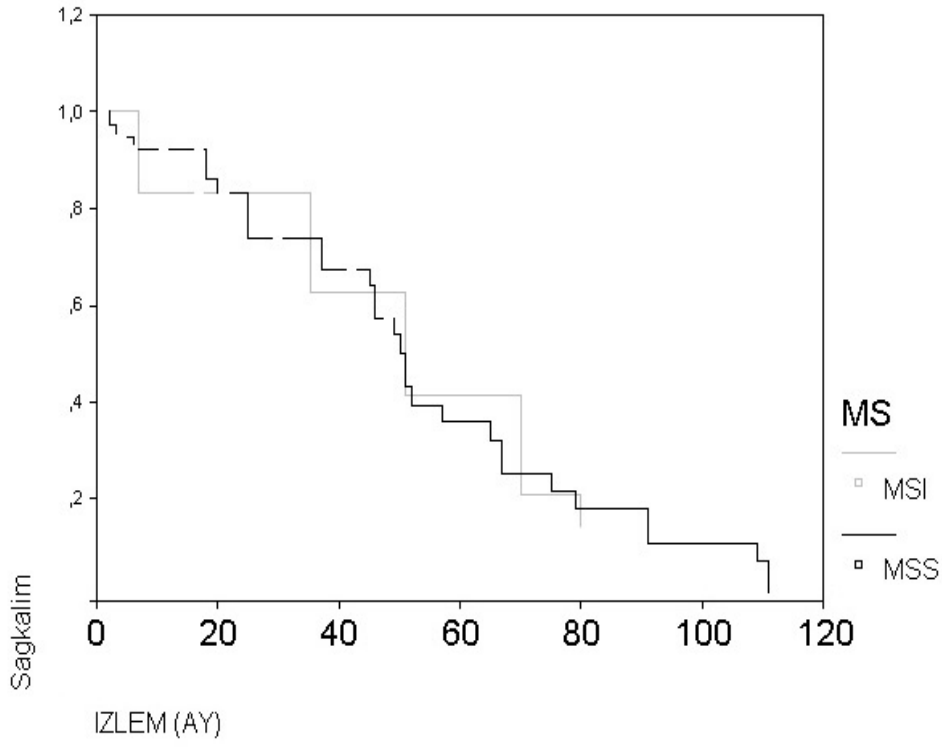
Şekil 13: MS durumu ve sağkalım arasındaki ilişkiyi gösterir grafik ($p=0,708$).



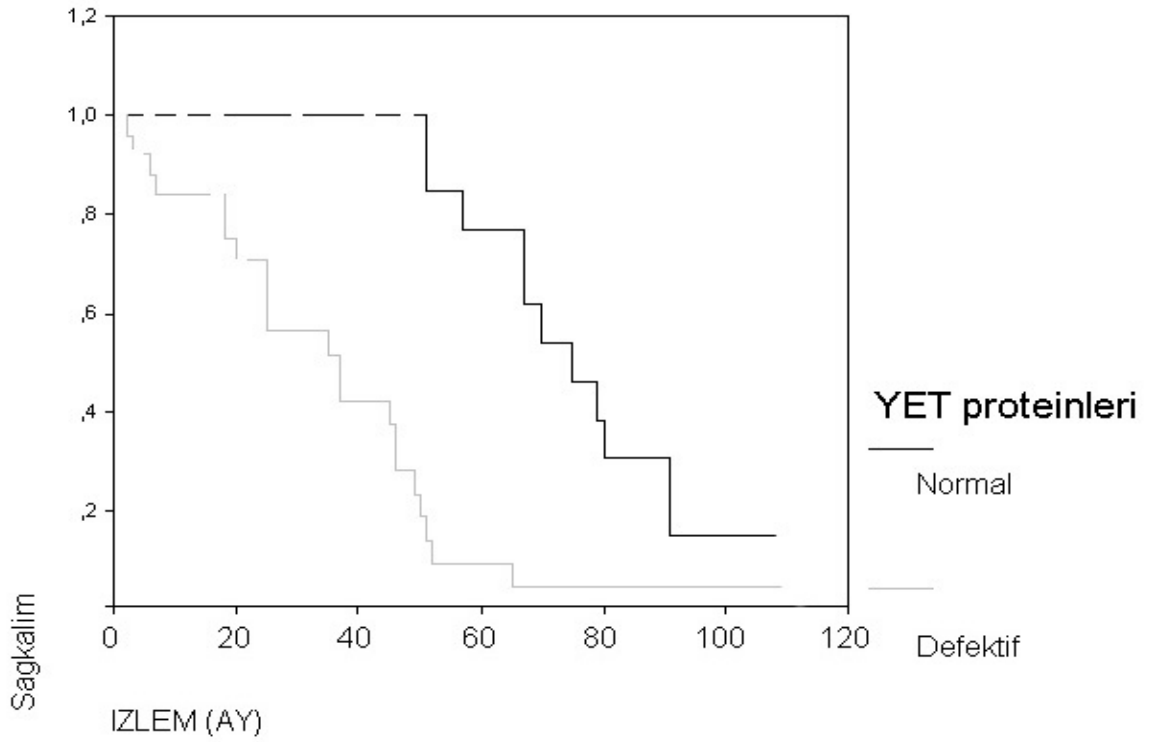
Şekil 14: YET ekspresyonu ve evre arasındaki ilişkiyi gösterir grafik (p=0,017).



Şekil 15: YET ekspresyonu ve sağkalım arasındaki ilişkiyi gösterir grafik (p=0,001).



Şekil 16: Olguların MS durumuna göre sağkalım eğrileri (Log Rank, $p>0,05$).



Şekil 17: Olguların YET protein varlığına göre sağkalım eğrileri (Log Rank, $p<0,01$).

5.TARTIŞMA

WT; transkripsiyon faktörleri, proto-onkogenler ve polipeptid büyüme hormonları tarafından düzenlenen böbrek gelişim mekanizmasındaki bir bozukluk sonucu ortaya çıkan bir tümör olarak ele alınabilir (27). Pluripotent renal prekürsörlerden gelişen bu tümör; andiferansiye stromal doku (stromal komponent), kondanse mezenkim (blastemal komponent) ve renal tubulus ile glomerülleri taklit eden primitif epitelyal yapılara (epitelyal komponent) diferansiasyon gösterir (27,28). Nefrojenik rest olarak adlandırılan embriyonik kalıntıların da sıkça eşlik etmesi, erken renal gelişimdeki aksamaya kanıt olarak kabul edilmektedir (27). Başta mezenkimal epitelyal doku dönüşümlerini düzenleyenler olmak üzere bir grup gen WT patogenezinde rol oynar. Son zamanlarda bu genlerin işleyişlerinin HACE1, GPC3 ve 6 adet WT geni tarafından kontrol edildiğine inanılmaktadır (2,5,9,11). Bu çalışmada bizler WT patogenezinin farklı bir yaklaşım getirmeyi ve MSİ'nin WT gelişiminde rolü olup olmadığını irdelemeyi amaçladık.

Günümüzde DNA onarım genlerinden olan YET genlerindeki defekt ve bunun yansması olan MSİ varlığı LS kapsamındaki tümörlerin tanısında tarama amaçlı kullanılmaktadır (45-48). Oysa MSİ varlığı ve YET genlerinin LS ile ilişkisiz tümörlerin, özellikle de pediatrik malignitelerin gelişimindeki rolü fazlaca araştırılmamıştır (33-38,49,50). Sadece MSİ varlığının araştırılması LS tanısını koymak, tarama yapmak, prognozu kestirmek ve KT yanıtını ön görmek için son derece güvenilir bir belirleyicidir (45). Bu nedenle biz de moleküler genetik çalışmalarda sadece MSİ varlığını araştırdık. Rutin olarak kullanılan 7 MSİ belirleyici geni kullanarak RT-PCR melting peak testinde 6 olguda (%13,3) tek bir gen lokusunda MSİ saptandı (L-MSİ). FCE yöntemiyle yapılan incelemede ise hiçbir olguda MSİ saptanmadı. Bu sonuç MSİ'nin, WT'nde sık gözlenmediğini düşündürmüştür.

Literatürde LS'nda genellikle MSH2 gen bölgesinde lokalize olan Bat 26 sekansında MSİ saptanırken, çalışma grubumuzda c-kit gen bölgesinde lokalize olan Bat25 sekansında ve ZNF2 geninde lokalize mono27 sekansında MSİ gözlemlendi (49). Bu bulgu; MSİ ve YET gen defekti var olsa bile patogenezin farklı işleyebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca MSİ'nin replikasyon sayısı ile paralel olarak arttığı göz önüne alınırsa, özellikle pediatrik tümörlerde YET gen defektlerinde bile MSİ'nin olmayabileceği anlaşılır.

Mikrosatellitler tekrarlayan 3 DNA sekansından ibaret oligonükleotid üniteleri olup; tüm genomda dağılmış halde, yaygın olarak bulunurlar. DNA'daki YET gen defektine bağlı gelişen tümörlerde, MS uzunluk değişiklikleri sık görülür ve uzama ya da kısalma şeklindeki bu farklılaşma zamanla artar. Protein kodlanan bölgede oluşan, kodlanan MSİ olarak adlandırılan ve giderek şiddetlenen MSİ; frameshift mutasyonların oluşmasına ve söz konusu proteinin fonksiyonunu yitirmesine yol açar (18). Bu kodlanan MSİ'lerin yüksek MSİ saptanan tümörlerin patogenezinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Kodlanan MSİ bölgesinde oluşan bu mutasyonların tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. TGFBR2, İGF2R, BAX, hMSH3, hMSH6, BRCA1 ve BRCA2 gibi tümör baskılayıcı veya tümör gelişimiyle ilişkili genler içerisinde kodlanan MSİ bölgelerinin varlığı bilinmektedir (32,38). Bir genomik tarama çalışması yapan Mori ve ark. (32), yüksek MSİ saptanan gastrointestinal sistem maligniteli hastalarda bir dizi olası hedef gen bildirmişlerdir. Bu genlerin mutasyonel spektrumu ve mutasyon sıklıkları çeşitli tümörlere göre büyük farklılıklar göstermektedir.

LS'u kapsamında gelişen kolorektal tümörler, sporadik olanlardan daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadırlar. Ancak yine de erişkin olgularda gözlenen ve pediatrik yaş grubunu kapsamayan bu tümörlerde hemen daima yüksek MSİ'ye yol açan YET gen defektleri gözlenir. YET gen defekti sergileyen genler çoğu kez MLH1 ve MSH2'dir. Ancak pediatrik malignitelerde YET gen defekti olup olmadığı, varsa hangi genleri daha çok etkilediği ve MSİ oluşumuna yol açıp açmadığı konusundaki bilgiler çok sınırlıdır. Pragmatik bir yaklaşımla, MS bölgelerindeki tekrarlanan oligonükleotidlerin her replikasyon sırasında azaldığı ya da arttığı göz önüne alındığında, MSİ'nin pediatrik yaş grubunda nadir bir fenomen olduğu ileri sürülebilir. MSİ ve YET protein defektlerini pediatrik multipl malignitelerde çalışan Poley ve ark. (23) de MSİ'nin pediatrik olgularda sık olmadığını vurgulamışlardır. Yazarların çalışmasında glioblastom ve WT olan bir olgunun her iki tümöründe de MSİ-H, lenfoma ve olidendrogliom bulunan olgunun ise sadece oligodendriomunda MSİ-L saptanmış olup; LS'lularda daha sık gözlenen MSH2 ekspresyon defekti gözlenmemiştir (23).

Çalışmamızda MSİ varlığını, araştırmada kullandığımız yöntemlerden sadece biriyle (RT-PCR melting peak) ve düşük derecede (%13,3) saptadığımız halde; YET protein defektini olguların neredeyse yarısında (%42,2) ve anlamlı düzeyde bulduk. Üstelik MSİ ve YET protein ekspresyon defekti arasında istatistiksel ilişki yoktu

(p=0,198). Bu bulgu, YET gen defekti varlığı durumunda bile, replikasyon sayıları daha az olan çocukta gelişen tümörlerde MSI'nin bulunmayabileceği kuşkusunu doğurmuştur. Ancak çok daha geniş pediatrik olgu serilerinde bu bulgunun doğrulanması şarttır.

MSİ varlığını araştırmakta kullanılan belirleyici 7 gen çok değişik fonksiyonları olan birçok farklı gen taşımaktadırlar (16,18). Aralarında sadece Bat26 olarak adlandırılan gen, YET genlerinden biri olan hMSH2'yi kapsamakta olup; bu nedenle de LS kapsamındaki tümörlerde en fazla MSİ saptanan belirleyicidir. Çalışmamızda ise en az MS durum değişikliği gözlenen belirleyici Bat26 olup, tümör ile normal dokudan ekstrakte edilen DNA zincirinin ayrışması için gereken ısı farkı en fazla bulunan olguda 0,6°C idi. İHK'sal çalışmalarda da benzer şekilde ekspresyon defekti en az MSH2 proteininde (n=7, %15,6) izlendi. Bu bulgu ışığında pediatrik tümörlerin gelişiminde YET gen defektlerinin rolü olsa bile, genetik moleküler çalışmaların MSİ belirleyici genlerinde değil, YET gen lokuslarında yapılmasının daha uygun olacağını düşündük.

Yüksek MSİ saptanan tümörlerde, gerçek hedef genlerin bulunduğu bölgedeki mutasyon karsinogenezde rol oynayan mekanizmalardan biridir ve bu mutasyon tümör gelişimini uyarır. Buna karşılık yüksek oranda MS bulunduran belirleyici genlerde çok sayıda farklı gen bulunur ve bunlar karsinogeneze direkt katkıda bulunmazlar (19). Literatürde LS kapsamı dışındaki tümörlerde MSİ belirleyici gen ve YET gen defektlerini birlikte araştıran çok az sayıda yayın vardır (19,50). Bu eksikliğin en önemli nedenleri, ilk çalışmalarda, YET gen defektinin olmazsa olmazıymış gibi sadece MSİ araştırılmıştır. Son yıllarda ise YET gen defektleri ayrıntılı incelenmekte olup, MSİ fenotipine bakılmamaktadır. Wang ve ark. (33) baş-boyun kanserli olguları inceledikleri çalışmalarında; sık ve yüksek derecede MSİ saptadıkları olgularda MLH1 ve MSH2 gen defekti gözlememişlerdir. Yine bu çalışmada anılan bazı çalışmalarda özellikle MSH6 gen mutasyonu olan LS kapsamındaki tümörlerde MSİ'nin belirgin olmadığından söz edilmektedir (33). Sonuç olarak YET gen defektlerinin bazı MSS tümörlerin gelişiminde de rolü olduğu yadsınamayacağı gibi, MSİ'nin daima YET gen defektleri sonucu oluştuğu da iddia edilemez. Çalışmamızda en fazla ekspresyon defekti gözlenen YET geni MSH6 idi ve olguların 1/3'ünden fazlasında (%35,5) hem tümörde hem de normal böbrekte MSH6 negatif bulundu. Bu bulgu, özellikle çocukluk döneminde gelişen malignitelerin

patogenezinde YET genlerinin rolünün araştırılması amaçlandığında, moleküler incelemelerin MSI belirleyici genlerinde değil, YET genlerinde yapılması gerektiğini göstermektedir.

Klinik çalışmalar, WT'lü olgularda prognozun iyi histolojiyle ilişkili olduğunu ve iyi histolojili olgularda kür oranının %90'lara ulaştığını göstermektedir (51-54). WT'ünde iyi histoloji kriterleri tümörün çok fazlı olması ve diffüz anaplazinin bulunmamasıdır (9,52). Kötü histolojinin kısa sağkalımla ilişkisi bilinmekle birlikte, her zaman histoloji prognozu kestirmeye yeterli değildir. Bazı kromozomal mutasyonlar, iyi histoloji ve lokalize tümörlü olgularda bile prognoz üzerinde olumsuz etkilidir (9). Çalışmamızda 10 olgu kötü histoloji kriteri taşımaktadır. Ancak Ki-kare testinde histoloji ve evre arasında $p=0,314$), Mann Whitney U testinde ise histoloji ve sağkalım arasında ($p=0,581$) ilişki saptanmamıştır. Ek olarak iyi histoloji MSI varlığı ($p=0,732$) ve YET protein ekspresyon defektiyle ($p=0,583$) de ilişkisiz bulunmuştur.

RT-PCR melting peak yöntemiyle tek belirleyici gende MSI pozitif bulduğumuz 6 olguda tümör boyutu belirgin olarak büyüktü. MSS olgularında ortalama tümör çapı 8,92 cm iken, MSI fenotiplilerde ortalama çap 11,67 cm bulundu ($p=0,046$). Bu fark özellikle MSI saptanan belirleyici mono27 olanlarda daha da belirgindi. C-KİT genini içeren BAT25'de MSI saptanan olgularda ortalama tümör çapı 7,5 cm iken, mono27 sekansında MSI bulunanlarda ortalama çap 13,25 cm bulundu. Benzer bulgu böbrek ağırlığı için de geçerliydi. MSS olgularda ortalama böbrek ağırlığı 487 gr, MSI fenotipinde 514 gr bulundu. MSI saptanan gen bölgesine göre fark biraz daha fazlaydı (Bat25'de 426 gr, mono27'de MSI olanlarda 558 gr). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,832$). MSI ile tümör boyutu arasında anlamlı ilişki bulunması; MSI'nin WT'nün büyümesinde katkı sağlayabildiğini ve özellikle tümör boyutunun tedavi şeklini farklılaşmasına yol açtığı 2 yaşından küçük, erken evrede yakalanmış olguların prognozunu öngörmede yardımcı olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık direkt YET genlerinde mutasyon araştırılmamasıdır. Ancak YET gen mutasyonlarının sebep olduğu LS kapsamındaki tümörlerde sadece MSI bakılmasının bile bu mutasyonları öngörmede yeterli olduğunu düşünerek, LS'da kullanılan rutin algoritmayı izledik. Çalışma sonunda YET gen ürünü olan proteinlerin ekspresyonlarındaki defekt ile sağkalım, izlem süresi ve evre benzeri prognostik faktörler arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunması; WT'nde YET genlerinin irdelenmesi gereğini kanıtlamıştır. Özellikle erken evredeki

olguların çoğunda YET protein defektinin bulunmaması, ileri evrede ise yüksek oranda YET varlığı, YET protein defektinin tümör yayılımına ve saldırganlığına katkı sağladığını desteklemektedir. Çalışmamızda YET protein defekti ve izlem süresi arasında ise ters bir ilişki vardır. YET protein defekti olan olgularda sağkalım süresi daha uzun gibi görünmekteydi. Bu sonucu, serimizde erken evredeki bazı olguların WT ile ilişkisiz nedenlerden kaybedilmiş olmasına bağlamaktayız. Nitekim serimizde evre ile izlem süresi arasında da istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Günümüzde LS ile ilişkili yüksek derecede MSI saptanan tümörlerin çoğu özelliği bilinmektedir. Fakat MSI ve YET gen defektlerinin LS kapsamında olmayan tümörlerdeki biyolojik ve klinik önemi açık değildir. YET genlerinin biyolojik önemi ve diğer DNA tamir sistemlerine dair bilgilerimiz arttıkça, kanser gelişim mekanizmaları konusundaki anlayış ve yeni hedef tedavi seçenekleri geliştirebilme şansı da artacaktır. Son yıllarda moleküler hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi ve bu yöntemlerin klinikte kullanılmaya başlaması nedeniyle, WT patogenezinde YET genlerinin rolü olup olmadığını belirlemek çok önemlidir. Çalışmamızda direkt olarak YET gen defektini araştırmasak da, indirekt yansıması olan YET protein ekspresyonlarında yüksek oranda kayıp bulmamız, WT'lü çocuklarda YET gen defekti varlığının araştırılması konusunda cesaret vermektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

WT, çocukluk çağında en sık görülen malign renal tümör olması nedeniyle üzerinde çok çalışılmış ve tedavisinde önemli başarılar elde edilmiş bir tümördür. Günümüze dek Wilms tümörü gelişimiyle ilgili olabilecek çok sayıda gen keşfedilmiştir. Ancak bu genler tüm olguların etiopatogenezine ışık tutmamaktadır. Üstelik olguların %10-15 kadarında yüz güldürücü sonuçlar alınamamıştır. Bu çalışmada WT'nün patogenezine farklı bir yaklaşımda bulunmaya çalışılmıştır. WT'ünde MSI'nin var olup olmadığını belirleyip, patogenezde YET genlerinin rolünü irdelemek ve bu yolla tedavisinde başarı sağlanamayan çocuklarda yeni bir çıkış yolu bulunması hedeflenmiştir.

Bu amaçla, LS'unda kullanılan algoritma izlenmiş ve pediatrik yaş grubunda MSI'nin ender bir fenomen olduğu sonucuna ulaşılmıştır. YET gen fonksiyonunun indirekt araştırılma yöntemi olarak düşünülebilecek YET protein ekspresyon kaybının ise seride yüksek oranda gözlenmesi nedeniyle, WT patogenezinde YET protein defektinin önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür. Üstelik kolon karsinomlarındakinin tersine WT'lü olgularda YET protein ekspresyon kaybının salt tümörde sınırlı olmayıp, normal dokuda da gözlenmesi nedeniyle, bu olgularda germline YET mutasyonu olabileceğinden kuşulanılmıştır.

Sonuç olarak; MSI belirleyici genleri üzerinden indirekt değil, direkt olarak YET gen defektlerinin geniş WT serilerinde araştırılması; WT'nde patogenez, prognoz, metastaz ve tedaviyi içine alan yeni belirteçlerin ve tedavi seçeneklerinin ortaya konmasını sağlayabilecektir.

7. KAYNAKLAR:

1. Husain AN, Pysher TJ, Dehner LP: The kidney and lower urinary tract. In: Stocker JT, Dehner LP (Eds). *Pediatric Pathology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publications; 2001: 834- 903.
2. Argani P, Beckwith JB. Renal Neoplasms of Childhood. In: Sternberg's diagnostic surgical pathology. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2004, p2001- 2033.
3. Diniz AG. Cansel'in Otobiyografisi. Ankara: Başak Matbaası; 2009: 143-144.
4. Perlman EJ. Renal Tumors. In: Gilbert- Barnes E (Ed). *Potter's Pathology of the fetus, infant and child*: Philadelphia: Mosby Elsevier; 2007: 1347- 1375.
5. Scott RH, Walker L, Olsen ØE, Levitt G, Kenney I, Maher E, Owens CM, Pritchard-Jones K, Craft A, Rahman N. Surveillance for Wilms tumour in at-risk children: pragmatic recommendations for best practice. *Arch Dis Child* 2006; 91(12): 995-9.
6. Fernandez C, Geller JI, Ehrlich PF, et al. Renal tumors. In: *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 6th, Pizzo, P, Poplack, D (Eds), Lippincott Williams & Wilkins, St. Louis 2011. p.861.
7. Metzger ML, Dome JS. Current therapy for Wilms' tumor. *Oncologist* 2005;10(10): 815-26.
8. Lanzkowsky P. Renal Tumors. In: *Manuel of Pediatric Hematology and Oncology*. 5th ed. London, Elsevier, 2011, p695-714.
9. Diniz G, Aktas S, Turedi A, Temir G, Ortac R, Vergin C. Telomerase reverse transcriptase catalytic subunit expression and proliferation index in Wilms tumor. *Tumour Biol* 2011; 32(4): 761-7.
10. Scott RH, Stiller CA, Walker L, Rahman N. Syndromes and constitutional chromosomal abnormalities associated with Wilms tumour. *J Med Genet* 2006; 43(9): 705-15.
11. Hohenstein P, Hastie ND. The many facets of the Wilms' tumour gene, WT1. *Hum Mol Genet* 2006; 15 Spec No 2: R196-201. 1.
12. White GR, Kelsey AM, Varley JM, Birch JM. Somatic glypican 3 (GPC3) mutations in Wilms' tumour. *Br J Cancer* 2002; 86(12):1920-2.

13. Rivera MN, Kim WJ, Wells J, Driscoll DR, Brannigan BW, Han M, Kim JC, Feinberg AP, Gerald WL, Vargas SO, Chin L, Iafrate AJ, Bell DW, Haber DA. An X chromosome gene, WTX, is commonly inactivated in Wilms tumor. *Science* 2007; 315(5812):642-5. 1.
14. Richard GF, Kerrest A, Dujon B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008; 72(4): 686-727.
15. Koreth J, O'Leary JJ, O'D McGee J. Microsatellites and PCR genomic analysis. *J Pathol* 1996; 178(3):239-48.
16. Hirst GL, Illand M. Automated fluorescent detection of microsatellite instability. *Mol Biotechnol* 2001; 17(3):239-47.
17. Debeleş B, Kantarcı G. Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Ecz Fak Derg* 2006; 35 (2) 149 – 170.
18. Imai K, Yamamoto H. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis* 2008; 29(4): 673-680.
19. Peltomäki P. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol* 2003;21(6):1174-9.
20. Hawley AT, Pandolfi PP. Etiology of Cancer: Cancer Susceptibility Syndromes. In: DeVita, Hellman and Rosenberg's *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008; 157-168.
21. Silva FC, Valentin MD, Ferreira Fde O, Carraro DM, Rossi BM. Mismatch repair genes in Lynch syndrome: a review. *Sao Paulo Med J* 2009;127(1):46-51.
22. Mason J E, Goodfellow PJ, Grundy PE, Skinner M A. 16q loss of heterozygosity and microsatellite instability in Wilms' tumor. *J Pediatr Surg* 2000; 35 (6): 891- 897.
23. Poley JW, Wagner A, Hoogmans MM, Menko FH, Tops C, Kros JM, Reddingius RE, Meijers-Heijboer H, Kuipers EJ, Dinjens WN. Biallelic germline mutations of mismatch-repair genes: a possible cause for multiple pediatric malignancies. *Cancer* 2007; 109(11):2349-56.

24. Ramburan A, Chetty R, Hadley GP, Naidoo R, Govender D. Microsatellite analysis of the DCC gene in nephroblastomas: pathologic correlations and prognostic implications. *Mod Pathol* 2004;17(1):89-95.
25. 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-Bellani F. Adult Wilms' tumor: A monoinstitutional experience and a review of the literature. *Cancer* 2004; 101(2): 289-93.
26. Maitra A, Kumar V. Diseases of infancy and childhood. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (Eds). *Robins and Cotran Pathologic Basis of Diseases (7.eds)*. Chinae: Elsevier Saunders Publications; 2005: 469-508.
27. Horster MF, Braun GS, Huber SM. Embryonic Renal Epithelia: Induction, Nephrogenesis, and Cell Differentiation *Physiol Rev* 1999; 79: 1157-1191.
28. Quaggin SE, Kreidberg JA. Development of the renal glomerulus: good neighbors and good fences. *Development* 2008; 135 (4): 609-20.
29. Narchi H. Risk of Wilms' tumour with multicystic kidney disease: a systematic review. *Arch Dis Child* 2005; 90(2):147-9.
30. Fischer EG, Carney JA, Anderson SR, Klatt EC, Lager DJ. An immunophenotypic comparison of metanephric metaplasia of Bowman capsular epithelium with metanephric adenoma, Wilms tumor, and renal development: a case report and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 2004; 121(6): 850-6.
31. Akyüz C. Çocukluk çağı böbrek tümörleri. *Klinik Gelişim Dergisi* 2007; 20(2): 74-82.
32. Mori Y, Yin J, Rashid A, Leggett BA, Young J, Simms L, Kuehl PM, Langenberg P, Meltzer SJ, Stine OC. Instabilotyping: comprehensive identification of frameshift mutations caused by coding region microsatellite instability. *Cancer Res.* 2001;61,6046-6049.
33. Wang Y, Irish J, MacMillan C, Brown D, Xuan Y, Boyington C, Gullane P, Kamel-Reid S. High frequency of microsatellite instability in young patients with head-and-neck squamous-cell carcinoma: lack of involvement of the mismatch repair genes hMLH1 AND hMSH2. *Int J Cancer* 2001;93(3):353-60.

34. Viana-Pereira M, Almeida I, Sousa S, Mahler-Araújo B, Seruca R, Pimentel J, Reis RM. Analysis of microsatellite instability in medulloblastoma. *Neuro Oncol* 2009;11(5):458-67.
35. Altavilla G, Fassan M, Busatto G, Orsolan M, Giacomelli L. Microsatellite instability and hMLH1 and hMSH2 expression in renal tumors. *Oncol Rep* 2010;24(4):927-32.
36. Timurağaoğlu A, Demircin S, Dizlek S, Alanoğlu G, Kiriş E. Microsatellite instability is a common finding in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9(5):371-4.
37. Matheson EC, Hall AG. Assessment of mismatch repair function in leukaemic cell lines and blasts from children with acute lymphoblastic leukaemia. *Carcinogenesis* 2003;24(1):31-8.
38. Leite M, Corso G, Sousa S, Milanezi F, Afonso LP, Henrique R, Soares JM, Castedo S, Carneiro F, Roviello F, Oliveira C, Seruca R. MSI phenotype and MMR alterations in familial and sporadic gastric cancer. *Int J Cancer* 2011;128(7):1606-13.
39. Spampinato CP, Gomez RL, Galles C, Lario LD. From bacteria to plants: a compendium of mismatch repair assays. *Mutat Res* 2009;682(2-3):110-28.
40. Papadopoulos N, Nicolaidis NC, Wei YF, Ruben SM, Carter KC, Rosen CA, Haseltine WA, Fleischmann RD, Fraser CM, Adams MD, et al. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994;263(5153):1625-9.
41. Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD, Dubnick M, Polymeropoulos MH, Xiao H, Merrill CR, Wu A, Olde B, Moreno RF, et al. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science* 1991;252(5013):1651-6.
42. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75(5):1027-38.
43. Drummond JT, Li GM, Longley MJ, Modrich P. Isolation of an hMSH2-p160 heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells. *Science* 1995; 268(5219):1909-12.

44. Palombo F, Gallinari P, Iaccarino I, Lettieri T, Hughes M, D'Arrigo A, Truong O, Hsuan JJ, Jiricny J. GTBP, a 160-kilodalton protein essential for mismatch-binding activity in human cells. *Science* 1995;268(5219):1912-4.
45. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(4):261-8.
46. Niessen RC, Berends MJ, Wu Y, Sijmons RH, Hollema H, Ligtenberg MJ, de Walle HE, de Vries EG, Karrenbeld A, Buys CH, van der Zee AG, Hofstra RM, Kleibeuker JH. Identification of mismatch repair gene mutations in young patients with colorectal cancer and in patients with multiple tumours associated with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut* 2006; 55(12):1781-8.
47. Lawes A, Pearson T, Sen Gupta S, Boulos PB. The role of MLH1, MSH2 and MSH6 in the development of multiple colorectal cancers. *British Journal of Cancer* 2005; 93: 472–477.
48. Dietmaier W, Hartman A, Hofstädter F. Analysis of microsatellite instability by melting peak analysis with Bat26 and Bat25 specific fluorescence hybridization probes. In: Dietmaier W, Wittwer C, Sivasubramanian N (eds). *Rapit Cycle Real-time PCR methods and applications in genetics and oncology*. Berlin: Springer; 2002: 139- 146.
49. Grogan L, Kirsch IR. Genetic testing for cancer risk assessment: A Review. *The Oncologist* 1997; 2(4): 208- 22.
50. Borie C, Colas C, Dartigues P, Lazure T, Rince P, Buhard O, et al. The mechanisms underlying MMR deficiency in immunodeficiency-related non-Hodgkin lymphomas are different from those in other sporadic microsatellite instable neoplasms. *Int J Cancer* 2009;125(10):2360-6.
51. Aktaş S, Diniz G, Ortaç R, Vergin C. Role of nm23 expression in nephroblastoma in determining prognosis and metastatic potential. *Turk J Cancer* 2004; 34 (3): 101- 105.

52. Jurić I, Pogorelić Z, Kuzmić-Prusac I, Biocić M, Jakovljević G, Stepan J, Zupancić B, Culić S, Kruslin B. Expression and prognostic value of the Ki-67 in Wilms' tumor: experience with 48 cases. *Pediatr Surg Int* 2010;26(5):487-93. B
53. Berrebi D, Leclerc J, Schleiermacher G, Zaccaria I, Boccon-Gibod L, Fabre M, et al. High cyclin E staining index in blastemal, stromal or epithelial cells is correlated with tumor aggressiveness in patients with nephroblastoma. *PLoS One*. 2008; 3(5):e2216.
54. Wittmann S, Wunder C, Zirn B, Furtwängler R, Wegert J, Graf N, et al. New prognostic markers revealed by evaluation of genes correlated with clinical parameters in Wilms tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 2008; 47(5):386-95.

8. EKLER

8.1. Etik Kurul Raporu



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi

İzmir 4 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

SAYI : B-10-4-ISM-4-35-65-72/Etik Kurul
TARİH : 08.01.2010
KONU : Etik Kurul Başvuruları

Sayın Doç Dr. Gülden DİNİZ,

“Wilms Tümöründe Mikrosatellit İnstabilite Varlığının Ve Dna Onarım Genlerinden Mlh1, Msh2, Msh6, Pms2'deki Doku Ekspresyon Düzeyindeki Değişimlerin Araştırılması” isimli araştırmanız 08.01.2010 tarihinde İzmir 4 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na incelenmiş, ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

Çalışmanızın durumunu yılda bir “Klinik Araştırma İçin Bakanlığa ve Etik Kurula Yapılan Yıllık Bildirim Formu” ile bildirmeniz, fakat çalışmanızın erken bitmesi ya da bir yıl dolmadan bitmesi durumunda araştırmanızın özeti ile beraber “Klinik Araştırmanın Sona Erdiğine İlişkin Bakanlığa ve Etik Kurula Yapılan Bildirim Formu” nu doldurarak İzmir 4 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na bildirmenizi rica ederim.

İzmir 4 No'lu Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı
Uz. Dr. Aysel ÖZTÜRK

ILAN	<input type="checkbox"/>
YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>
SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>
DİĞER	<input type="checkbox"/>

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:	Tarih:08.01.2010
	Doç Dr. Gülden DİNİZ sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik , İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, ve Etik Kurul SOP
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Uz. Dr. Aysel ÖZTÜRK	
ETİK KURUL ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Uz. Dr. Aysel ÖZTÜRK	Çocuk Hast. , Çocuk Nörolojisi	Dr.Behçet Uz Çoc. Hast. ve Cer. E.A.H.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uz. Dr. Aycan ÜNALP	Çocuk Hast. , Çocuk Nörolojisi	Dr.Behçet Uz Çoc. Hast. ve Cer. E.A.H.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Münevver HOŞGÖR	Çocuk Cerrahisi	Dr.Behçet Uz Çoc. Hast. ve Cer. E.A.H.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uz. Dr. Murat SONGU	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları	Dr.Behçet Uz Çoc. Hast. ve Cer. E.A.H.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Safiye AKTAŞ	Patoloji, Temel Onkoloji Doktoru	Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Cenk CAN	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	K X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uz. Dr. Filiz DEMİRİZ	Biyokimya	Dr.Behçet Uz Çoc. Hast. ve Cer. E.A.H.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İbrahim Eren AKÇİÇEK	Deontoloji, İç Hastalıkları, Gastroenteroloji	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mukadder YASA	Eczacılık	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKAY	Biyofizik	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç. Dr. Timur KÖSE	Biyostatistik	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Behiye EKER KAZANCI	Hukukçu	Dokuz Eylül Üniversitesi Hukuk Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Baki OKAN	Avukat	Serbest	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

8.2. Özgeçmiş ve Yayın Listesi

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: **AYŞE GÜLDEN DİNİZ ÜNLÜ**

Doğum Tarihi: 17 Ekim 1962

Öğrenim Durumu:

EĞİTİM	MEZUN OLDUĞU ÜNİVERSİTE	FAKÜLTE	MEZUNİYET TARİHİ	DİPLOMA NO	DİPLOMA TESCİL NO / UZMANLIK BELGESİ TESCİL NO	DİPLOMA TESCİL TARİHİ / UZMANLIK BELGESİ TESCİL TARİHİ	BRANŞI
Yük.Öğr.(6 YIL)	EGE ÜNİVERSİTESİ	TIP FAKÜLTESİ	07.06.1985	4199	38749	24.02.1987	
TIPDA UZMANLIK	İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ		27.03.1991		30328	04.06.1991	ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
TIPDA UZMANLIK	İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ		27.11.1998		47169	18.12.1998	PATOLOJİ
Doçentlik			09.10.2008		25142		

Yüksek Lisans Tez Başlığı (özeti ekte) ve **Tez Danışmanı** : Kuşadası'nda 1980-1985 yılları arasında morbidite araştırması, EÜTF Halk Sağlığı ABD başkanı, Prof.Dr.Mehmet Tokgöz.

Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı (özeti ekte) ve **Tez Danışmanı** : Üriner sistem enfeksiyonlarında izole edilen "Escherichia coli" bakterisinin lateks aglütinasyon yöntemiyle p-fimbria taşıma oranının ve antibakteriyel duyarlılığının araştırılması. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Enfeksiyon hastalıkları Klinik Şefi: **Dr.Nejat Ali Coşkun** :

Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı (özeti ekte) ve **Tez Danışmanı**: Kemik dekalsifikasyonunda kullanılan demineralizan maddelerin dokunun morfolojisi ve immünoreaktivitesine etkilerinin karşılaştırılması. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Enfeksiyon hastalıkları Klinik Şefi: **Dr.Turan Genç**

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Doktor	Karadeniz Ereğlisi Devlet hastanesi Acil polikliniği	1985-1987
Doktor	Zonguldak Devlet Hastanesi, RİA uygulama ve kürtaj kursu	1986
Dr.Ar.Gör.	İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji bölümü.	1987-1991
Uzman doktor	Şırnak Uludere'de kurulan Irak'lı mültecilere yardım kampında geçici görev	1991
Uzman doktor	TC. Ziraat Bankası Merkez polikliniği ve laboratuvarı	1991-1994
Dr.Ar.Gör.	İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı	1994-1998
Uzman/Doçent doktor	İzmir Dr.Behçet Uz çocuk hastalıkları ve cerrahisi eğitim ve araştırma hastanesi, patoloji laboratuvarı.	1999-halen
Gönüllü araştırmacı	Londra Dubowitz Nöromuskuler hastalıklar merkezi patoloji Laboratuvarı	2010
Doçent doktor	İzmir Karşıyaka Halk Sağlığı Laboratuvarında geçici görev	2011

Eğitim Çalışmaları:

- Dr.Atike Kemer'in Üreter darlık ve defektlerinde fetal tavşan üreterinin allogeneik transplantasyonu" isimli deneysel tezinin patoloji bölümünün hazırlanması.
- Dr.Ebru Aker'in demir birikiminin fare beyni üzerindeki toksik etkisini araştırdığı tezinin patolojik incelemesi.
- VII.Pediyatrik ve Perinatal patoloji Kursunda (12- 14 Eylül 2008, İstanbul) "**çocukluk çağı kas hastalıkları**" başlıklı konuşma.
- Dr.Özkan Okur'un özefagus yanıklarının tedavisinde Glutaminin etkisinin araştırılması konulu tezinin patolojik incelemesi (deneysel çalışma).
- DEÜTF Deney Hayvanları AnaBilim Dalı tarafında düzenlenen 5-6. Deney Hayvanı Kullanımı Sertifikası Kursu (21- 29 Mart 2011).

İdari Görevler Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

- 2004- 2008 yılları arasında 2 dönem "Ege Patoloji Derneği" Yönetim Kurulu üyeliği ve genel sekreterliği.
- Aegean Pathology Journal ko-editörlüğü (2004- 2007)
- 2007- 2009 arası Türk Pediyatrik ve Perinatal Patoloji Derneği genel sekreterliği ve 2009 – 2010 arası genel başkanlığı.
- Mayıs 2006'da 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu düzenleme komitesi üyeliği.
- 2006'da 6.Perinatal ve Pediyatrik Patoloji Kursu Sosyal Komite üyeliği.
- 12- 14 eylül 2008'de düzenlenen 7.Perinatal ve Pediyatrik Patoloji kursu düzenleme kurulu üyeliği ve Kurs kitapçığı (CD) hazırlanması.
- 2005 ve 2010 yılı "Journal of Clinical pathology" dergi hakemliği.
- 2009 yılı başından itibaren "Türkiye Klinikleri Dergisi" danışma kurulunda görev.
- Van Yüzüncüyıl Üniversitesinin çıkarttığı "Eastern Journal of Medicine" dergisi hakem kurulu üyeliği.
- **Mayıs-Haziran 2010'da Londra Dubowitz Nöromuskuler hastalıklar merkezinde kas- sinir biyopsi eğitimi.**
- 2011 yılı İzmir Dr.Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi yardımcı editörlüğü.

Ödüller :

- 1) **Poster Birincilik Ödülü:** Aktaş, S, **G. Diniz**, R. Ortaç, A. Erbay, S. Geylani ve C. Vergin, "Pediatrik Hodgkin Lenfomalarda NK hücrelerinin prognostik önemi (38 Olgu retrospektif çalışma)", XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi, İstanbul, 22-25 Mayıs 2002 (**E17**).
- 2) **Sözlü Bildiri Birincilik Ödülü:** Ortaç, R, S. Aktaş, **G. Diniz**, M. Ergin, A. Erbay ve C. Vergin, "Askin tümöründe prognostik faktörler", XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Denizli, 15-19 Ekim 2002 (**E21**).
- 3) **Poster Birincilik Ödülü:** Aktaş, S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin "Pediatrik Hodgkin Lenfomalarda apoptoz ilişkili faktörlerin Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." XIV.Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi, İstanbul, 18-20 Mayıs 2006 (**E53**).
- 4) **En iyi poster ödülü.** Aktaş S, **Diniz G**, Yaman Y, Özek G, Türedi A, Ortaç R, Vergin C. Germ hücreli tümörlerde telomeraz aktivitesi. XVI. TPOG Kongresi. 18- 22 Mayıs 2010 Samsun.

Eserlerine aldığı atflar:

1. Lee YJ, Cho A, Cho BC, Yun M, Kim SK, Chang J, Moon JW, Park IK, Choi HJ, Kim JH. High tumor metabolic activity as measured by fluorodeoxyglucose positron emission tomography is associated with poor prognosis in limited and extensive stage small-cell lung cancer. Clin Cancer Res 2009; 15(7):2426-32 (**A15 için**).
2. Amato G, Sciacchitano T, Bell SG, Romano G, Cocchiara G, Lo Monte AI, Romano M. Sphincter-like motion following mechanical dilation of the internal inguinal ring during indirect inguinal hernia procedure. Hernia 2009;13(1):67-72 (**A9 için**).
3. Miyanaga K, Yoshioka T, Nakagawa H, Kitahara T, To H, Ichikawa N, Nakashima M, Nishida K, Nakamura J, Sasaki H. Influence of murine hepatitis induced by D-(+)-galactosamine hydrochloride and lipopolysaccharide on gene expression of polyethylenimine/plasmid DNA polyplex. Biol Pharm Bull 2008; 31(8):1585-9. (**A5 için**).
4. Aydin O, Yildiz L, Kefeli M, et al. CD117 expression of normal, neoplastic, inflammatory and reactive lesions of the thyroid. Pathol Res Prac 2008; 204(6): 359- 365 (**A17 için**).
5. Davicioni E, Wai DH, Anderson MJ. Diagnostic and prognostic sarcoma signatures. Mol Diagn Ther. 2008;12(6):359-74 (**A7 için**).
6. Armistead PM, Salganick J, Roh JS, et al. Expression of receptor tyrosine kinases and apoptotic molecules in rhabdomyosarcoma - Correlation with overall survival in 105 patients. CANCER 2007; 110 (10): 2293-2303 (**A17 için**).
7. Oguzkurt P, Kayaselcuk F, Tuncer I, et al. Evaluation of extracellular matrix protein composition in sacs associated with undescended testis, hydrocele inguinal hernia and peritoneum. UROLOGY 2007; 70(2): 346-350 (**A9 için**).
8. Diniz G, Aktas S, Ortac R, et al. Kit expression in spindle cell rhabdomyosarcoma can possibly create a different approach for its tumorigenesis and therapy. PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE 2006; 202 (9): 671-677 (**A7 için**).
9. Ishida T, Ishii T, Inagaki A, et al. Specific recruitment of CC chemokine receptor 4-positive regulatory T cells in Hodgkin lymphoma fosters immune privilege CANCER RESEARCH 2006; 66 (11): 5716-5722 (**A1 için**).
10. Staeger MS, Banning-Eichenseer U, Weissflog G, Volkmer I, Burdach S, Richter G, Mauz-Körholz C, Föll J, Körholz D. Gene expression profiles of Hodgkin's lymphoma cell lines with different sensitivity to cytotoxic drugs. Exp Hematol 2008; 36(7):886-96 (**A25 için**).
11. Han van Krieken J. New developments in the pathology of malignant lymphoma: a review of the literature published from August to December 2008. J Hematop 2009; 2(1):50-61 (**A25 için**).
12. Jayanthan A, Howard SC, Trippett T, Horton T, Whitlock JA, Daisley L, Lewis V, Narendran A. Targeting the Bcl-2 family of proteins in Hodgkin lymphoma: in vitro cytotoxicity, target modulation and drug combination studies of the Bcl-2 homology 3 mimetic ABT-737. Leuk Lymphoma 2009; 50(7):1174-82 (**A25 için**).
13. Klautke G, Sauer R, Fietkau R. Combined treatment modality in small cell lung cancer : the impact of radiotherapy on survival. Strahlenther Onkol 2008; 184(2):61-6 (**A15 için**).
14. Safiye Aktas, Zekiye Altun, Zubeyde Erbayraktar, Nevim Ayyun, Nur Olgun. Effect of Cytotoxic Agents and Retinoic Acid on Myc-N Protein Expression in Neuroblastoma. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology Feb 2010, Vol 18 (1): 86-89 (**A28 için**)

15. Eyden B. Pleomorphic rhabdomyosarcoma showing smooth-muscle and fibrohistiocytic differentiation: a single case report. *Ultrastruct Pathol* 2010; 34(1):42-7 (**A17 için**).
16. Chen SS, Liu SI, Mok KT, Wang BW, Yeh MH, Chen YC, Chen IS. Mesenteric inflammatory myofibroblastic tumors in an elder patient with early recurrence: a case report. *World J Gastroenterol* 2007; 3(26):3645-8 (**D12 için**).
17. Mitrović Z, Ilić I, Aurer I, Kinda SB, Radman I, Dotlić S, Ajduković R, Labar B. Prognostic Significance of Survivin and Caspase-3 Immunohistochemical Expression in Patients with Diffuse Large B-cell Lymphoma Treated with Rituximab and CHOP. *Pathol Oncol Res.* 2010 Sep 18. (**A28 için**).

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

- A1. Ortac R, S Aktas, G **Diniz**, A Erbay, C Vergin. "Prognostic role of natural killer cells in pediatric mixed cellularity and nodular sclerosing Hodgkin's disease." *Anal Quant Cytol Histol*, 24(5):249-53, (2002).
- A2. Aktaş S, H Apa, G. **Diniz**, A. Erbay, R. Ortac, C. Vergin, İ. Karaca, N. Elmas ve Y. Yüzer. "Androgen-related hepatocellular tumor of the liver associated with Fanconi's anemia". *Turk J Cancer*; 33(1): 51- 54 (2003).
- A3. Aktaş S, R.Ortaç, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Prognostic role of natural killer cells in pediatric non-Hodgkin's lymphomas". *Turk J Cancer*; 33(2): 91- 95 (2003).
- A4. Aktas EO, Aktas S, Ortac R, **Diniz G**. "Role of vascularization in determining the time of hypoxic-ischemic encephalopathy in the neonate". *Anal Quant Cytol Histol*;25(3):177-80 (2003).
- A5. Aktas S, **G.Diniz** ve R.Ortac. Quantitative analysis of ductus proliferation, proliferative activity, Kupffer cell proliferation and angiogenesis in differential diagnosis of biliary atresia and neonatal hepatitis. *Hepatogastroenterology*;50(54):1811-3 (2003).
- A6. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac, I.Unlu ve C.Vergin. "A comparative immunohistochemical study of HBsAg, HBcAg and CD57 chronic hepatitis B pediatric patients with and without malignant disorders". *Turk J Gastroenterol*;14(4):234-238 (2003).
- A7. Aktas S, **G.Diniz**, R.Ortaç, A.Erbay ve C.Vergin. Role of nm23 expression in neuroblastoma determining prognosis and metastatic potential. *APJ* 1, 9-13, <http://www.epd.org.tr> (2004).
- A8. Aktas S, **G.Diniz**, R.Ortaç, EÖ.Aktaş. "Pulmonary hypertension grading in the neonate: Pediatric autopsy series compared with etiology of lung disease". *APJ* 1, 76-80, <http://www.epd.org.tr> (2004).
- A9. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac ve S.Yegane. "A comparative histopathological evaluation of sacs from boys and girls with inguinal hernia". *Pathol Res Pract*; 200(7-8):531-6 (2004).
- A10. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac, A.Erbay, C.Vergin ve M Ergin. "Alternative prognostic factors in pediatric embryonal rhabdomyosarcoma: Nm23 expression, proliferative activity and angiogenesis". *Turk J Pediatr*;46(3): 239-44 (2004).
- A11. Aktas S, **G.Diniz**, R.Ortaç ve C.Vergin. "Role of nm23 expression in nephroblastoma determining prognosis and metastatic potential". *Turk J Cancer*; 34(3): 101- 105 (2004).
- A12. Aktas S, **G.Diniz**, R.Ortaç ve K.Yörükoğlu. "Alternative factors in differential diagnosis of infantile fibrosarcom". *Turk J Cancer* 34(4): 150- 155. 2004;
- A13. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortaç, A.Kayhan, E.Serdaroğlu, M.Ergin ve M.Bak. "A regional panorama of non-tumoral nephrectomy reasons in childhood". *APJ* 2, 71-76, <http://www.epd.org.tr>. (2005).
- A14. Unlu I, **G Diniz**, B Komurcuoglu, M Gayaf, T Gokce, I Karadogan, C Akcay. Comparison of curative and palliative radiotherapy efficacy in unresectable advanced non-small cell lung cancer patients with or without metastasis. *Saudi Med J* 2006 Jun;27(6):849-53.
- A15. **Diniz G**, I.Unlu, T.Gokce, S.Kilciksiz, M.Gayaf, B.Komurcuoglu, I.Karadogan, S.Aktas ve C.Akcay. "Evaluation of curative and palliative radiotherapy efficacy in extensive stage small cell lung cancer". *Saudi Med J* Jul;27(7):992-6 (2006).
- A16. Aktas S, S.Yigit, **G.Diniz**, FS.Pehlivan ve R.Ortac. Comparison of underlying lesions in pediatric and adult ovarian torsion. *Saudi Med J* 0 Aug;27(8): 1183-6 (2006).

- A17. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac, M.Tunakan, I.Unlu ve C.Vergin. "Kit expression in spindle cell rhabdomyosarcoma can possibly create a different approach for its tumorigenesis and therapy". *Pathol Res Pract*;202(9):671-7. Epub 2006 Jul 24 (2006).
- A18. Tos T, **G.Diniz**, S.Ceylaner, S.Aktaş, Ş.Altinyurt ve G.Erbay. "Neu-Laxova syndrome: A terrible phenotypic appearance caused by an undefined genetic alteration. *APJ* 3, 5-9, <http://www.epd.org.tr> (2006).
- A19. Aktas S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay, C.Vergin. Prognostik significance of cell proliferation and apoptosis-Regulating proteins in Epstein-Barr Virus positive and negative ediatric Hodgkin lymphoma. *Lymphat Res Biol.* 2007;5(3):175-82.
- A20. Aktas S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay, C.Vergin. Prognostic Significance Of Cyclooxygenase-2 Expression In Pediatric Hodgkin And Non-Hodgkin Lymphomas With Or Without Epstein-Barr Virus Latent Infection. *Comperative Clinical Pathology.* 10.1007/s00580-007-0710-2 (2008).
- A21. Afsar FS, Ortac R, **Diniz G**. Unilateral nevoid telangiectasia with no estrogen and progesterone receptors in a pediatric patient. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2008;74(2):163-4.
- A22. Afsar FS, Afsar I, **Diniz G**, Asilsoy S, Sorguc Y. Lupus vulgaris in a pediatric patient: a clinicohistopathological diagnosis. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(2):152-4. 19.
- A23. Kamer E, Unalp H, Tarcan E, **Diniz G**, Atahan K, Ortac R, Onal M. Effect of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose adhesion barrier on wound healing: an experimental study. *Wounds.* Issue: 10 oct 2008.
- A24. G. Diniz, M. Barutcuoglu, A. Unalp, S. Aktas, N. Uranc, H. Apa, R. Ortac, S. Gulle, A. Aydoğan. Evaluation of the relationship between urogenital abnormalities and neuromuscular disorders. *Eastern Journal of Medicine* 2008; 13: 19- 24.
- A25. Aktaş S, Kargı A, Olgun N, Diniz G, Erbay A, Vergin C. Prognostic significance of cell proliferation and apoptosis-regulating proteins in Epstein-Barr Virus positive and negative pediatric non-Hodgkin's lymphoma. *Pathol Oncol Res* 2009; 15 (3):345-50.
- A26. Bekem Soylu O, Targan S, **Diniz G**, Ortac R. Nutritional status of children with chronic hepatitis B in a population with low socioeconomic status. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(11):1252-5.
- A27. Derici H, Kamer E, Unalp HR, **Diniz G**, Bozdog AD, Tansug T, Ortac R, Erbil Y. Effect of sildenafil on wound healing: an experimental study. *Langenbecks Arch Surg* 2010;395(6):713-8.
- A28. Aktas S, Celebiler AC, Zadeoğluları Z, **Diniz G**, Kargı A, Olgun N. Expression and Methylation Pattern of p16 in Neuroblastoma Tumorigenesis. *Pathol Oncol Res* 2010;16(1):1-6.
- A29. Ayfer Colak, Isil Coker, **Gulden Diniz**, Ismail Karademirci, Hakan Turkon, Faruk Ergonen, Tuba Hanci, Umit Bozkurt. Interleukin 6 and Tumor Necrosis Factor-alpha Levels in Women with and without Glucose Metabolism Disorders. *Turk J Biochem* 2010; 35(3): 190- 194.
- A30. Fatma Şule Afşar, Malik Ergin, **Gülden Diniz**, Ragıp Ortaç. Asitretin ile Başarılı Şekilde Tedavi Edilen İnfantil Püstüler Psoriasis Olgusu. *Turkderm* 2010; 44(1): 32- 34.
- A31. Kamer E, Unalp HR, Gundogan O, **Diniz G**, Ortac R, Olukman M, Derici H, Onal MA. Effect of a sorbic acid on incisional wound healing in streptozocin induced diabetic rats. *Wounds* 2010; 22(2):27-31.
- A32. Sule Afsar F, Aktas S, **Diniz G**. Tenascin-C expression in papulosquamous disorders other than psoriasis in pediatric patients: an epiphenomenon? *J Cutan Med Surg.* 2011;15(1):1-7.
- A33. Sozer S, **Diniz G**, Lermioglu F. Effects of celecoxib in young rats: Histopathological changes in tissues and alterations of oxidative stress/ antioxidant defense system. *Arch Pharm Res* 2011;34(2):253-9.
- A34. **Diniz G**, Aktas S, Turedi A, Temir G, Ortac R, Vergin C. Telomerase reverse transcriptase catalytic subunit expression and proliferation index in Wilms tumor. *Tumor Biology* 2011; 32(4):761-7.
- A35. Ortaç R, Tavlı V, **Diniz G**, Yılmaz MM, Demirpençe S. Naxos-Carvajal disease: a rare cause of cardiomyopathy with woolly hair and palmoplantar hyperkeratosis. *Anadolu Kardiyol Derg* 2011;11(4):E17-8. doi: 10.5152/akd.2011.100.
- A36. **G.Diniz**, H.Derice, E.Kamer, HR Unalp, Ragip Ortac, T.Tansug, Y.Erbil. Effect of Sildenafil on the skeletal muscle regeneration: an experimental study. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2011; 31(4):809-15.
- A37. Afsar FS, Aktas S, **Diniz G**, Ortac R. The role of Biopsy in Pediatric Pathology. *Turkderm* 2011; 45: 137- 39.

- A38. **Diniz G**, Aktas S, Ortac R. Evaluation of the diagnostic enigma in Hirschsprung disease. *Minerva Pediatr* 2011;63(6):449-57.
- A39. **Diniz G**, Temir G, Ortac R. Anjiomiksom: Her zaman miksoid, bazen agresif. *Türk Patoloji Dergisi* (kabul yazısı, 28 eylül 2010)
- A40. **Diniz G**, Genel F, Yücel N, Türedi A, Vergin C. B lenfosit belirleyicisi CD20 pozitif mediastinal rabdomyosarkom olgusu. *Türk Patoloji Dergisi* (kabul yazısı (25 kasım 2010).
- A41. Songu M, Adibelli H, **Diniz G**. White Sponge nevus: clinical suspicion and diagnosis. *Pediatric Dermatology* (kabul yazısı, 30 aralık 2010).

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

- B1. **Diniz. G**, I.Unlu ve M.Tunakan. Mystery of pathological diagnosis: "In the memory of a case where ezrail was more dexterous than us". 1st Balkan Oncology congress, Turkey,1998. Official journal of the Balkan Union of Oncology, V:3(supp A): 384(poster no:P232), Zerbini medical publication, Athens, (1998).
- B2. Aktaş, S., R. Ortaç, **G. Diniz**, A. Erbay, C. Vergin. "Prognostic role of natural killer cells in pediatric classical Hodgkin's lymphomas", International Society of Pediatric Oncology, SIOP XXXIV. Meeting. Portekiz, 2002. *Medical and Pediatric Oncology* V:39(4): 384(poster no:P432), Wiley-Liss, (2002).
- B3. R. Ortaç, Aktaş, S, **G. Diniz**, M.Ergin, A. Erbay, H.Gulen, C. Vergin. Prognostic factors in Askin Tumors, International Society of Pediatric Oncology, SIOP XXXV. Meeting. Egypt, 2003. *Medical and Pediatric Oncology* V:41(4): 368(poster no:P006), Wiley-Liss, 2003.
- B4. Aktas S., A.Kargi, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Prognostic significance of apoptosis regulating proteins in pediatric non-hodgkin lymphoma with or without Epstein Barr virus latent infection. International Society of Pediatric Oncology, SIOP XXXVIII. Meeting. Switzerland, *Medical and Pediatric Oncology* V:47(4): 472(poster no:P006), Wiley-Liss, 2006.
- B5. Afsar FS, I.Afsar, **G.Diniz**, S.Asilsoy, Y.Sorguc. Lupus Vulgaris in a pediatric patients; A clinicohistopathologic diagnosis. 28. Annual Congress of the ESM (European Society of Mycobacteriology). Athens, Greece, 1-4 july 2007.
- B6. Aktas S, **G.Diniz**, Aktuğ H. Value of electron microscopy epon block banking in pediatric pathology. 21.European Congress of Pathology, Istanbul, september 2007. *VIRCHOWS ARCHIV* 2007; 451 (2): 253- 253
- B7. Afsar, FS; S.Aktas, **G.Diniz**. Tenascin expression in papulosquamous disorders other than psoriasis in pediatric patients: A pathogenic feature? 21.European Congress of Pathology, Istanbul, september 2007. *VIRCHOWS ARCHIV* 2007; 451 (2): 253-253.
- B8. Aktas S, **G.Diniz**, E.Serdaroglu, R.Ortac, B. Ucan, I.Karaca I, M. Bak, M.Ergin. Multicystic renal dysplasia: A missing specimen for pathologist. 21.European Congress of Pathology, Istanbul, september 2007. *VIRCHOWS ARCHIV* 2007; 451 (2): 254-254.
- B9. **Diniz, G**; M.Barutcuoglu, S.Aktas, N.Uran, H.Apa, R.Ortac, S.Gulle, A.Aydogan. Evaluation of the relationship between undescended testes and neuromuscular disorders. 21.European Congress of Pathology, Istanbul, september 2007. *VIRCHOWS ARCHIV* 2007; 451 (2): 238-238.
- B10. Kamer E, HR.Unalp, E.Tarcan, **G.Diniz**, K.Atahan, R.Ortaç, MA.Önal. Effect of Hyaluronic acid carboxymethylcellulose adhesion barrier on wound healing: An experimental study. 1.Central Congress of Surgery, Prag 2008.
- B11. **Diniz G**, Sarıtas T, Aktas S, Tavli V, Uran N, Ortac R, Unal A, Okuducu AF, Saylan B, Mese T. Kearns Sayre Syndrome: The importance of cytochrome oxidase staining for the diagnosis of the childhood mitochondrial diseases. 54. PPS annual meeting, Helsinki 4-6 september 2008 (**PPS davetiyle katıldım**).
- B12. Aktas S, Cavusoglu Celebiler A, Kargi A, Zagdeoglulari Z, **Diniz G**, Erbay A, Olgun N. The methylation pattern of p16 in neuroblastoma tumorigenesis. International Society of Pediatric Oncology, SIOP XXXX. Meeting. Berlin, Germany, 2-6 October 2008.
- B13. S.Aktas, A.Celebiler,Z.Zadeogullari, P.Ercetin, **G.Diniz**. Methylation profile of the promoter CpG islands of death associated protein- kinase in neuroblastoma. Joint 4th EORTC Pathobiology Group Annual Meeting & 1 st International Multidisciplinary Cancer Research Congress 21-24 mayıs, Antalya, 2009.

- B14. S.Aktas, **G.Diniz**, A.Türedi, R.Ortac, C.Vergin. Telomerase activity is correlated with N-myc expression in neuroblastoma. The 5. APOCP General Assembly Conference. Istanbul, 3- 7 April 2010.
- B15. S.Aktas, **G.Diniz**, R.Ortac, C.Vergin. Intestinal cancer in children: most likely not arose in the context of Lynch Syndrome. The 5. APOCP General Assembly Conference. Istanbul, 3- 7 April 2010.
- B16. **G.Diniz**, S.Aktas, A.Türedi, R.Ortac, C.Vergin. Telomerase activity in Wilms Tumor. SIOP XXXI. Meeting. Boston. 2010. Medical and Pediatric Oncology V:55(5): 368(poster no:P014), Wiley-Liss, 2010.
- B17. O.Olukman, S.Calkavur, N.Yilmaz, **G.Diniz**, F.Atlihan. Nemaline myopathy in a newborn baby. 2.International Congress of UENPS, November 15- 17 2010, Istanbul.
- B18. Ebru Akar, Aycan Unalp, **Gülden Diniz**, Ragıp Ortaç, Banu Şentürk, Osman Yılmaz, Müge Kiray, Merve Tepetam, Canan Çoker, Şükrü Çangar. A histochemical study to detect the relationship between the iron's neurotoxic effect and brain maturation in newborn rats performed hemolysis model. 9th congress of the European Pediatric Neurology Society. Cavtat, Croatia, May 11-14, 2011.

C. Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler :

Diniz G. Is the Curative Thoracic Radiotherapy Benefit and Cost-Effective in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer? In: Small Cell Carcinomas: Causes, Diagnosis and Treatment. Eds: Maldonado JG, Cervantes MK. Nova Publishers; New York: 2009.

Ç. Yazılan ulusal kitaplar veya kitaplarda bölümler :

Diniz G. Cansel'in Otobiyografisi. Başak Matbaacılık, Ankara: 2009.

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

- D1. **G Diniz**, E.Arı, H.Arı. "Waldenstrom makroglobülinemisi (olgu sunumu ve literatür taraması)" İzmir Devlet Hastanesi Tıp Dergisi; 28(4): 475- 478 (1990).
- D2. Vardar İ, G.Şenocak, N.Kurultay, H.Er, **G.Diniz** ve A.Kıpıcı. "Gebe kadınlarda B grubu streptokok taşıyıcılık insidansı". İzmir Devlet Hastanesi Tıp Dergisi; 29 (2): 194-195 (1991).
- D3. Baran.N, M.Türker, **G.Diniz**, A.Kıpıcı. "Endoservikal örneklerde ELİSA yöntemiyle Chlamydia Trachomatis antijeninin aranması". İzmir Devlet Hastanesi Tıp Dergisi; 28(4): 15-18 (1994).
- D4. Üstün MÖ, **G.Diniz**, G.Güvenç, G.Çengel ve İ.Akkol. "Supratentoriyal astrositomlarda mikro(küçük) damar yoğunluğu. Türk Patoloji Dergisi; 15(3-4): 61-63 (1999).
- D5. **Diniz G**, MÖ.Üstün, N.Ekinci, G.Çengel. "Pankreasın solid ve papiller epitelyal neoplazmı". Türk Onkoloji Dergisi; 15(3): 132-134 (2000).
- D6. Ortaç, R., N. Munis, **A.G. Diniz**, S. Aktaş, ve İ. Karaca, "İzmir yöresinde çocuklarda Meckel Divertikülü görülme sıklığı ve histopatolojik özellikleri", *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*, 6(3-4), 167-170 (2000).
- D7. **Diniz G**, M.Üstün, G.Çengel, M.Tunakan. "Nörojenik hiperplazi appendiks obliterasyonu nedeni midir? 1397 olgunun retrospektif incelemesi". ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi; 2(2): 15-18 (2001).
- D8. Aktaş, S., Ortaç, R., **Diniz, G.**, Erbay, A., Karaca, İ., Kızılay, N., ve Vergin, C. "Nöroblastoma olgularımızın modifiye Shimada yöntemiyle histolojik sınıflandırılması (35 Olgu retrospektif çalışma)", *Türk Patoloji Dergisi*, 17(1-2), 7-10 (2001)."
- D9. **Diniz, G**, R.Ortaç, S.Aktaş. "Pediatrik bir olgu çerçevesinden malign böbrek tümörlerinin panoraması", *Türk Patoloji Dergisi*, 17(1-2), 54- 56 (2001).
- D10.**Diniz, G** ve B.Önal. "Bir fetal kolloid kist olgusu: Kolloid kist teratojen kökenli olabilir mi?" *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*; 8(1-2): 35-38 (2002).
- D11.**Diniz, G.**, R. Ortaç, M. Hoşgör, A. Erbay, ve S. Aktaş, "Calcifying Fibrous Pseudotumour (case report)", *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 41(1), 41-42 (2002).
- D12.Apa, H., **G. Diniz**, T. Sarıtaş, S. Aktaş, R. Ortaç, İ. Karaca, ve C. Vergin, "Abdominal inflammatory myofibroblastic tumor: Review of the literature by means of a case report", *Turkish Journal of Cancer*, 32, 28-32 (2002).

- D13.Ortaç, R., S. Aktaş, A. Özçağiran, ve **G. Diniz**, "Glutasyon S-Transferaz pi'nin uterin serviks skuamöz hücre neoplazilerindeki belirleyiciliği", İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi, 40(1), 35-39 (2002).
- D14.**Diniz, G.**, N.Ekinci, M.Tunakan Öztıp ve İ.Ünlü. "Kemik dekalsifikasyonunda kullanılan maddelerin dokunun morfolojisi ve immünoreaktivitesine etkileri". İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi, 41(1), 55-60 (2003).
- D15.Ortaç, R., S. Aktaş, **G. Diniz**, M. Ergin, A. Erbay, ve C. Vergin, "Askin tümöründe prognostik faktörler", Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi; 9(1-3): 42- 44 (2003)
- D16.**Diniz, G.**, S. Aktaş, R. Ortaç, A. Erbay, ve C. Vergin, "Nöroblastomlarda küçük damar sayısı ve tip III kollojen yoğunluğunun evre, sağkalım ve tedavi yanıtıyla ilişkisinin araştırılması", Mersin Tıp Fakültesi Dergisi, 4, 99-104 (2003).
- D17.Kalkan S, A.Erbay, A.Yiğit, T.Meşe, H.Yener, **G.Diniz**, İ.Karaca, C.Vergin, C.Dizdärer. "Parotis bezin çocukluk çağı pleomorfik adenomları." SSK İzmir Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi; 10(2): 91-93 (2004).
- D18.Aktaş S, **G.Diniz**, R.Ortaç. "Pediatrik diffüz non-hodgkin lenfomalarda çoklu küçük doku inceleme (tissue microarray) yönteminin immühistokimyasal uygulama güvenilirliği". *Türk Patoloji Dergisi*, 20(3-4), 54- 56 (2004).
- D19.**Diniz, G.**, E.Kayserili, R.Ortaç, S.Aktaş ve M.Hızarcıoğlu. "Osteopetrozis: Olgu sunumu ve yeni gelişmeler." Türkiye Ekopatoloji Dergisi; 10(3-4): 137-140 (2004).
- D20.Aktaş S, **G.Diniz**, R.Ortaç, A.Erbay ve C.Vergin. "Dezmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör (olgu sunumu)". Türkiye Ekopatoloji Dergisi; 10(3-4): 133-136 (2004).
- D21.**Diniz, G.**, İ.Ünlü, M.Tunakan Öztıp. "Patolojik tanının esrarı: Azrail'in bizden atak davrandığı bir olgu anısına". Klinik gelişim; 17(3-4): 56-60 (2004).
- D22.**Diniz,G.** R.Ortaç, S.Aktaş, G.Temir, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Göğüs duvarı hamartomu: Olgu sunumu." Ege Tıp Dergisi; 44(1): 55-58 (2005).
- D23.Aktaş S, **G.Diniz**, R.Ortaç. "Pediatrik ve perinatal otopsilerin yeterlilik ve kalite açısından irdelenmesi". Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi; 30: 1-5 (2005).
- D24.Aktaş S, **G.Diniz**, R.Ortaç. "Pediatrik ovaryum torsiyonlarında retiküler çatının değerlendirilmesinin ayırıcı tanıdaki önemi". Türkiye Ekopatoloji Dergisi; 11(1): 21-25 (2005).
- D25.**Diniz, G.**, H.Vuruşkaner, İ.Çelebiler, R.Ortaç, S.Aktaş, V.Özener. "Onüç yaşında bir kız çocukta, uyluk yumuşak dokusunda lokalize granüler hücreli tümör olgusu". Türkiye Ekopatoloji Dergisi; 11(1): 33-36 (2005).
- D26.Gülle S, E.Serdaroğlu, D.Can, F.Tüzün, M.Bak ve **G.Diniz**. "Tip V glikojen depo hastalığı (McArdle) saptanan bir olgu." Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci; 1 (10): 76-78 (2005).
- D27.Gülle S, E.Serdaroğlu, D.Can, M.Bak ve **G.Diniz**. "Niemann Pick Hastalığı TipC: Olgu sunumu." Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci; 1 (10): 87-90 (2005).
- D28.Gülle S, E.Serdaroğlu, D.Can, M.Bak ve **G.Diniz**. "Gaucher hastalığı TipI". Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci; 1(10): 84-86 (2005).
- D29.Gülle S, M.Bak, E.Serdaroğlu, D.Can, ve **G.Diniz**. "Wilson Hastalığı ve inflamatuvar myopati. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci; 1(10): 91-94 (2005).
- D30.Kayserili E, H.Apa, P.Gülez, M.Hızarcıoğlu, Ö.Yılmaz, **AG.Diniz**, S.Aktaş. "Hodgkin Lenfoma tanısı alan Griscelli sendromlu bir olgu." Pediatride Yönelişler; 11(5):(2005).
- D31.Apa H, E.Kayserili, M.Hızarcıoğlu, P.Gülez, Ö.Umaç ve **AG.Diniz**. "Çocukluk çağı yabancı cisim aspirasyonları" ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 6(3): 17-21 (2005).
- D32.Sarıtaş T, H.Apa, C.Vergin, S.Aktaş, **G.Diniz** ve R.Ortaç. "Hodgkin hastalığı ve akut lenfoblastik lösemili iki olguda gelişen sekonder non-hodgkin lenfoma." Ege Pediatri Bülteni; 13(2): 105-111 (2006).
- D33.**Diniz G.**, M.Barutçuoğlu, S.Aktaş, T.Hızlı ve A.Aydoğan. "İnmemiş testis olgusunda saptanan sentro-nükleer myopati: Olgu sunumu." Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi 2007; 16: 122- 125.
- D34.**Diniz G.**, R.Ortaç, S.Aktaş, G.Erbay. "Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı: Olgu sunumu ve literatür taraması." Ege Tıp Dergisi 2007; 46(1): 49- 52.
- D35.**Diniz G.**, M.Barutçuoğlu, H.Apa, N.Uran ve S.Aktaş. "Myofibriler myopati: Olgu sunumu ve literatür taraması." Ege Pediatri Bülteni 2007; 14(1): 29- 32.
- D36.Apa H, M.Hızarcıoğlu, E.Kayserili, H.Ağın, S.Asilsoy, P.Gülez, S.Çalışkan, **AG.Diniz**. Toksik Epidermal Nekrozisli bir olgu: Olgu sunumu. Bakırköy Tıp Dergisi 2007; 3: 33- 36.
- D37.Uçan B, Yayla D,Ortaç R, Temir G, **Diniz G.** Karkiner A, Hoşgör M, Karaca İ. Üreterovezikal darlık olgularında bozulmuş pacemaker aktivitesi ve fibrotik değişiklikler. Çocuk Cerrahisi Dergisi 2007; 21(1): 53- 58.

- D38. Apa H, Kayserili E, Hızarcıoğlu M, Gülez P, Özsu E, Uran N, **Diniz AG**. Farklı başvuru nedenleriyle gelen ve rastlantısal transaminaz yüksekliği saptanan muskuler distrofi olgularımız. İzmir Tepecik Eğitim Hastanesi Dergisi 2007; 17(1): 45- 49 (2008 sonunda basıldı).
- D39. **Diniz G**, Akgüner M, Ortaç R. İhmal edilebilir bir tanı: Rabdomiyomatöz mezenkimal hamartom. Türk Patoloji Dergisi 2008; 24(3): 190- 193.
- D40. **Diniz G**, Sarıtaş T, Aktaş V, Tavlı V, Uran N, Ortac R, Unalp A, Okuducu AF, Saylan B, Meşe T. Bir Kearns Sayre Sendromu Olgusu: Çocukluk çağında gelişen mitokondriyal hastalıkların tanısında enzim boyalarının önemi. Türk Patoloji Dergisi 2009; 25 (2): 53- 56.
- D41. Aktaş S, **Diniz G**, Ortaç R, Ergin M, Erbay A. Yedi aylık kız çocukta puberte prekoks ile seyreden overin sklerozan stromal tümörü. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obs 2009; 19(2): 98-101.
- D42. Asilsoy S, Aşın H, Kayserili E, Bak M, **Diniz AG**, Can D. Pulmoner alveolar proteinozisli bir olgu. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi 2010; 19(3): 244- 8.
- D43. Afsar FS, Ortac R, **Diniz G**. Asitretin tedavisi sonrası hafif alevlenmeler ile seyreden bir juvenil subkorneal dermatoz olgusu. Turk J Dermatol 2010; 4: 84- 87.
- D44. Gaye Eryaşar, Yaprak Seçil, Yeşim Beckmann, Ayşen İnceoğlu Kendir, **A. GülDen Diniz**, Mustafa Başoğlu. İki olgu nedeniyle disferlinopati. Türk Nörol Derg 2011; 17(1): 45-50.
- D45. Safiye Aktaş, **GülDen Diniz**. Pediatrik Tümörlerde C-Kit Ekspresyonu: Buzdağının Altında Saklı Olan Ne? Behçet Uz Çocuk Hast Derg 2011; 1(1): 26-32.
- D46. Malik Ergin, Önder Yavaşcan, Erkin Serdaroğlu, Işıl Ergin, **A. GülDen Diniz**, Ragıp Ortaç. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Patoloji Laboratuvarında 2009-2010 yıllarında incelenen böbrek biyopsilerinin klinik ve histopatolojik profili. Behçet Uz Çocuk Hast Derg 2011; 1(2): 51-57.
- D47. **GülDen Diniz**, Safiye Aktaş, Ragıp Ortaç, Adil Kayhan, Malik Ergin, Erkin Serdaroğlu, Mustafa Bak. Pediatrik olgularda infeksiyonla ilişkili nefrektomilerin irdelenmesi ve ksantogranüloematöz pyelonefrit prevalansı. Behçet Uz Çocuk Hast Derg 2011; 1(2): 75- 78.
- D48. Gülcihan Özek, Başak Uçan, Saniye Girit, Münevver Hoşgör, Özgür Cartı, Demet Can, **GülDen Diniz**. Plevral efüzyonun ender nedenleri: İki olgu sunumu. Behçet Uz Çocuk Hast Derg 2011; 1(2): 84-87.

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

- E1. Uçar MO, **G Diniz**, T Gökmen. "Larinks yerleşimli mukoepidermoid karsinom (olgu sunumu)." XII. Ulusal Patoloji Kongresi, Ankara, 12-15 ekim 1996.
- E2. **Diniz G.**, M.Tunakan, İ.Ünlü, Ü.Boz. "kemiğin dev hücreli tümörünün kondroblastik diferansiyasyon gösteren yumuşak doku nüksü." XIII. Ulusal Patoloji Kongresi, İstanbul, 4-8 eylül 1997.
- E3. **Diniz G.**, M.Tunakan, İ.Ünlü. "Patolojik tanının esrarı: Azrail'in bizden atak davrandığı bir olgu anısına". XIII. Ulusal Patoloji Kongresi, İstanbul, 4-8 eylül 1997.
- E4. **Diniz G.**, N.Ekinci, Y.Peker. "Pankreasın papiller kistik neoplazmi ve safra kesesinde onkositik metaplazi gösteren kolesterolozis polibi. 3.Hepatopancreatobilier Cerrahi Günleri, İzmir 1-4 kasım 1997.
- E5. **Diniz, G** ve B.Önal. "Bir fütal kolloid kist olgusu: Kolloid kist teratojen kökenli olabilir mi?" 4.İzmir Güncel Tıp Günleri, İzmir, 30mart- 1nisan 1998.
- E6. Ortaç, R., S. Aktaş, A. Özçağırın, ve **G. Diniz**, "Glutasyon S-Transferaz pi'nin uterin serviks skuamöz hücre neoplazilerindeki belirleyiciliği", XIV. Ulusal Patoloji Kongresi, Kuşadası, 11-17 nisan 1999.
- E7. Munis N, R.Ortaç, , İ.Karaca, ve **G. Diniz** ve S. Aktaş. "Histopatolojik özellikleriyle çocuklarda meckel divertikülü", XIV. Ulusal Patoloji Kongresi, Kuşadası, 11-17 nisan 1999.
- E8. Üstün MÖ, **G.Diniz**, G.Güvenç, G.Çengel ve İ.Akkol. "Supratentorial astrositomlarda mikro(küçük) damar yoğunluğu. XIV. Ulusal Patoloji Kongresi, Kuşadası, 11-17 nisan 1999.
- E9. **Diniz G**, MÖ.Üstün, N.Ekinci, G.Çengel. "Pankreasın solid ve papiller epitelyal neoplazmi: 3 olgu sunumu". XIV. Ulusal Patoloji Kongresi, Kuşadası, 11-17 nisan 1999.
- E10. Erbay A, Kazancı E, Erbay G, **G. Diniz** ve Karasoy İ, Elmas N, C. Vergin "Multipl karaciğer lezyonlarıyla başvuran maligniteli olgularımız", XIV. *Türk Pediatrik Onkoloji Grubu Kongresi*, Kuşadası, 26-29 Nisan 2000.

- E11. Özalp, M., B. Öztükel, R. Ortaç, S. Aktaş, İ. Karaca, **G. Diniz**, Ş. Çalkavur, E. Serdaroğlu, C.Vergin, ve F. Atlıhan, “Çocukluk çağı non-Hodgkin lenfomalı olgularımız”, XI. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi, İstanbul, 18-20 Mayıs 2006.
- E12. Sarıtaş, T., H. Apa, S. Aktaş, **G. Diniz**, R. Ortaç, İ. Karaca, ve C. Vergin, “Abdominal inflamatuvar myofibroblastik tümör”, 44. Milli Pediatri Kongresi, Bursa, 4-8 Eylül 2000.
- E13. Hoşgör M, İ.Karaca, B.Uçan, **G.Diniz**, R.Ortaç, S.Aktaş, O.Feşçekoğlu, A.Süzen, E.Türk ve M.Utku. Çocukluk çağı kasık bölgesi patolojilerinde TipIII kollojen dağılımı. Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Pediatrik Cerrahi Dergisi, Kongre Özel Sayısı; 15; ek sayı (2001).
- E14. Aktas, E.Ö., S. Aktaş, **G. Diniz**, ve R. Ortaç, “Yenidoğan otopsilerinde santral sinir sistemi bulguları”, Yıllık Adli Tıp Toplantıları, *Adli Tıp Kongresi*, İstanbul, Mayıs 2002.
- E15. Erbay, A., H. Gülen, H. Apa, İ. Karaca, S. Aktaş, **G. Diniz**, Y.,Anacak, ve C. Vergin, “Hepatobilier rabdomyosarkomlu bir olgu”, *XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi*, İstanbul, 22-25 Mayıs 2002.
- E16. Aktaş, S., **G. Diniz**, R. Ortaç, A. Erbay, ve C. Vergin, “Nöroblastoma olgularımızın modifiye Shimada yöntemiyle histolojik sınıflandırılması (35 Olgu retrospektif çalışma)”, *XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi*, İstanbul, 22-25 Mayıs 2002.
- E17. Aktaş S, **G. Diniz**, R. Ortaç, A. Erbay, S. Geylani, ve C. Vergin, “Pediatrik Hodgkin Lenfomalarda NK hücrelerinin prognostik önemi (38 Olgu retrospektif çalışma), *XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi* İstanbul, 22-25 Mayıs 2002 (**POSTER BİRİNCİLİK ÖDÜLÜ**).
- E18. Erbay, A., H. Gülen, H. Apa, S. Aktaş, **G. Diniz**, R. Ortaç, C. Dizdärer, ve C. Vergin, “Desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör”, *XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi*, İstanbul, 22-25 Mayıs 2002.
- E19. **Diniz, G.**, S. Aktaş, R. Ortaç, A. Erbay, ve C. Vergin, “Nöroblastomlarda küçük damar sayısı ve tip III kollojen yoğunluğunun evre, sağkalım ve tedavi yanıtıyla ilişkisinin araştırılması”, *XII. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Kongresi*, İstanbul, 22-25 Mayıs 2002.
- E20. **Diniz, G.**, N.Ekinci, M.Tunakan Öztop ve İ.Ünlü. “Kemik dekalsifikasyonunda kullanılan maddelerin dokunun morfolojisi ve immünoreaktivitesine etkileri”. XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Denizli, 15-19 Ekim 2002.
- E21. Ortaç, R., S. Aktaş, **G. Diniz**, M. Ergin, A. Erbay, ve C. Vergin, “Askin tümöründe prognostik faktörler”, *XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu*, Denizli, 15-19 Ekim 2002. (**SÖZLÜ BİLDİRİ BİRİNCİLİK ÖDÜLÜ**).
- E22. **Diniz G**, R.Ortaç, M.Hoşgör, A.Erbay, S.Aktaş. Kalsifiye fibröz psödötümör: Olgu sunumu. XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Denizli, 15-19 Ekim 2002.
- E23. **Diniz, G.**, S. Aktaş, R. Ortaç, A. Erbay, C. Vergin, ve M. Ergin, “Pediatrik embryonal RMS’da alternatif prognostik faktörler: Nm23 ekspresyonu, proliferatif aktivite ve anjiogenez”, *XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu*, Denizli, 15-19 Ekim 2002.
- E24. Aktaş, S., R. Ortaç, **G. Diniz**, K. Yörükoğlu, A. Erbay, ve C. Vergin, “İnfanfil Fibrosarkom tanısında yeni arayışlar”, *XVI. Ulusal Patoloji Sempozyumu*, Denizli, 15-19 Ekim 2002.
- E25. **Diniz, A.G.**, S. Aktaş, R. Ortaç, İ. Ünlü, ve C. Vergin, “Malign hastalığı olan ve olmayan çocuklarda kronik hepatit B seyirindeki farkların histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak karşılaştırılması”, *XV. Ulusal Kanser Kongresi*, Kemer, Antalya, 23-27 Nisan 2003.
- E26. Aktaş, S., **A.G. Diniz**, R. Ortaç, İ. Ünlü, A. Erbay, ve C. Vergin, “Nöroblastomlarda nm23 ekspresyonunun prognoz ve metastaz belirlemedeki rolü”, *XV. Ulusal Kanser Kongresi*, Kemer, Antalya, 23-27 Nisan 2003.
- E27. **Diniz G.**,S.Aktaş, R.Ortaç, A.Kayhan. Pediatrik olgularda non-tümöral nefrektomi nedenlerinin bölgesel panoraması. XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 1-6 ekim 2004.
- E28. Aktaş S., **Diniz G.**, R.Ortaç, “Pediatrik ve perinatal otopsilerin yeterlilik ve kalite açısından irdelenmesi”. XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 1-6 ekim 2004.
- E29. R.Ortaç, M.Ergin, S.Aktaş, **Diniz G.**, G.Temir, A.Erbay. Küçük yaş gastrointestinal stromal tümör için prognostik bir önem taşır mı? XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 1-6 ekim 2004.
- E30. Aktaş S, **G.Diniz**, R.Ortaç. “Pediatrik ovaryum torsiyonlarında retiküler çatının değerlendirilmesinin ayırıcı tanıdaki önemi”. XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 1-6 ekim 2004.

- E31. **Diniz G.**, S.Aktaş, R.Ortaç, M.Ergin, E.Serdaroğlu, A.Kayhan ve M.Bak. Pediatrik olgularda enfeksiyonla ilişkili nefrektomilerin irdelenmesi ve ksantogranülomatöz pyelonefrit insidansı. XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 1-6 ekim 2004.
- E32. Aktaş S., **Diniz G.**, R.Ortaç, "Pediatrik diffüz non-hodgkin lenfomalarda çoklu küçük doku inceleme (tissue microarray) yönteminin immühistokimyasal uygulama güvenilirliği". XVII. Ulusal Patoloji Sempozyumu, Gaziantep, 2004.
- E33. Tos T, S.Ceylaner, **G.Diniz Ünlü**, G.Erbay, Ş.Altınyurt. "Neu Laxova sendromu: Bir olgu sunumu." Fetal Tıp; Perinatal Tanı;, Antalya, 30nisan- 2 mayıs 2005.
- E34. Gülle S, E.Serdaroğlu, D.Can, F.Tüzün, M.Bak ve **G.Diniz**. "TıpV glikojen depo hastalığı (McArdle) saptanan bir olgu." VIII.Uluslararası katılımlı beslenme ve metabolik hastalıklar kongresi, Ankara, 27-30 nisan 2005.
- E35. Erbay A, M.Hoşgör, G.Temir, M.Ergin, **G.Diniz**, E.Kazancı ve C.Vergin. "Çocukluk çağında gastrointestinal stromal tümör olgusu." XVI.Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 20-24 nisan 2005.
- E36. Erbay A, E.Kazancı, ME.Çakmaklı, İ.Karaca, **G.Diniz**, M.Bak, ve C.Vergin. "Nörofibromatozis tanılı hastada rabdomyosarkom tedavisi sonrası gelişen fankoni sendromu." XVI.Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 20-24 nisan 2005.
- E37. Görgü M, C.Demirdöver, **G.Diniz**, E. Ülger Durmuş, M.Kılıç, M.Ataseven ve Y.Öztan. "Çok delikli yada deliksiz olmasına göre kıkırdak greftlerin fiksasyon yeteneklerinin araştırılması: Tavşanlarda deneysel araştırma." 27.Türk Plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi ulusal kongresi, Konya, 14-17 eylül 2005.
- E38. Temir G, A.Karkiner, A.Kandıracı, B.Uçan, A.Erbay, **G.Diniz**, M.Ergin, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Sakrokoksigeal teratomu taklit eden nöroblastom olgusu." Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Pediatrik Cerrahi Dergisi, Kongre Özel Sayısı; 19; ek sayı (2005).
- E39. Temir G, A.Karkiner, A.Kemer, B.Uçan, E.Türk, **G.Diniz**, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Nadir bir karın ağrısı nedeni: Müllerian kanal anomalisi" Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Pediatrik Cerrahi Dergisi, Kongre Özel Sayısı; 19; ek sayı (2005).
- E40. Ortaç R, **G.Diniz**, S.Aktaş, M,Ergin ve A.Erbay. "Myeloproliferatif hastalık zemininde gelişmiş fenotipik diferansiasyon göstermeyen blastik transformasyon", 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E41. **Diniz G.**, S.Aktaş, Ortaç R, , M.Tunakan Öztop, İ.Ünlü ve C.Vergin. "İğsi hücreli rabdomyosarkomda KİT ekspresyonunun varlığı etyopatogenez ve tedavide farklı bir yaklaşım yaratabilir mi?", 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E42. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik Hodgkin lenfomalarda hücre proliferasyonunun Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E43. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik non-Hodgkin lenfomalarda c-myc ekspresyonunun Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E44. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik non-Hodgkin lenfomalarda proliferasyon aktivitesinin Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E45. Aktaş S, **G.Diniz** ve R.Ortaç. "Pediatrik tümörlerde c-KİT ekspresyonu: Buzdağının altında ne var?." 18.Ulusal Patoloji Sempozyumu, Çeşme, 7-11 mayıs 2006.
- E46. **Diniz G**, E.Kayserili, R.Ortaç, S.Aktaş ve M.Hızarcıoğlu. "Osteopetrozis: Olgu sunumu eşliğinde yüzyıllık hastalığıdaki yeni gelişmeler." 6.Pediatrik ve perinatal patoloji kursu, İzmir, 11-13 mayıs 2006.
- E47. **Diniz G**, R.Ortaç, S.Aktaş G.Erbay ve T.Tos. "Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı: olgu sunumu ve literatür taraması." 6.Pediatrik ve perinatal patoloji kursu, İzmir, 11-13 mayıs 2006.
- E48. **Diniz G**, M.Barutçuoğlu, S.Aktaş, T.Hızlı ve A.Aydoğan. "İnmemiş testis olgusunda saptanan sentro-nükleer myopati:Olgu sunumu". 6.Pediatrik ve perinatal patoloji kursu, İzmir, 11-13 mayıs 2006.
- E49. **Diniz. G**, H.Vuruşkaner, I.Çelebiler, R.Ortaç, S.Aktaş, V.Özener. "Onüç yaşında bir kız çocukta, uyluk yumuşak dokusunda lokalize granüler hücreli tümör olgusu". 6.Pediatrik ve perinatal patoloji kursu, İzmir, 11-13 mayıs 2006.
- E50. **Diniz.G**, R.Ortaç, S.Aktaş, G.Temir, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Göğüs duvarı hamartomu: Olgu sunumu."6.Pediatrik ve perinatal patoloji kursu, İzmir, 11-13 mayıs 2006.

- E51. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik non-Hodgkin lenfomalarda Ebstein Barr virüsünün prognoz ile ilişkisi." XIV. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, İstanbul 18-20 Mayıs 2006.
- E52. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik Hodgkin lenfomalarda c-myc ekspresyonunun Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." XIV. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, İstanbul 18-20 Mayıs 2006.
- E53. Aktaş S, A.Kargı, N.Olgun, **G.Diniz**, A.Erbay ve C.Vergin. "Pediatrik Hodgkin lenfomalarda apoptoz ilişkili faktörlerin Ebstein Barr virüs ve prognoz ile ilişkisi." XIV. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, İstanbul 18-20 Mayıs 2006 (**Poster ödülü**).
- E54. Erbay A, E.Kazancı, H.Gülen, E.Kutay, **G.Diniz**, Y.Anacak ve C.Vergin. "Adölesan lösemili olgularımız." XIV. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, İstanbul 18-20 Mayıs 2006.
- E55. Temir G, A.Karkiner, E.Uçuk, **G.Diniz**, D.Yayla, A.Kemer, B.Uçan, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Pelvik kalsifikasyonun nadir bir nedeni olan tubaovarian otoampütasyon olgusu." Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Pediatrik Cerrahi Dergisi, Kongre Özel Sayısı; 20; ek sayı (2006).
- E56. B.Uçan, D.Yayla, R.Ortaç, G.Temir, **G.Diniz**, A.Karkiner, M.Hoşgör ve İ.Karaca. "Üreterovezikal darlık olgularında bozulmuş pacemaker aktivitesi ve fibrotik değişiklikler." Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Pediatrik Cerrahi Dergisi, Kongre Özel Sayısı; 20; ek sayı (2006).
- E57. **Diniz G**, M.Barutcuoğlu, H.Apa, N.Uran, S.Aktaş. Myofibrillar Myopathy: Case report and review of literature. 17.Ulusal Patoloji Kongresi, İstanbul, Eylül 2007.
- E58. Aktaş S, **G.Diniz**, A.Erbay, C.Vergin, R.Ortaç, M.Dağ, M. Sürücü, B.Topçu, A.Çavuşoğlu. Pediatrik Tümör Biyobankası Deneyimimiz, Ön Rapor. 2.Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu 24-27 şubat 2008, Uludağ BURSA.
- E59. Aktaş S, Z. Zadeoğulları, A.Çavuşoğlu, **G.Diniz**, A.Erbay, C.Vergin, N.Olgun. Nöroblastom Oluşumunda Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü P16'nın Rolü. II Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu 24-27 şubat 2008, Uludağ BURSA (SÖZLÜ BİLDİRİ).
- E60. Bekem Soylu Ö, Targan Ş, Diniz G, **Ortaç R**. Kronik hepatit B hastalarının nutrisyonel durumlarının değerlendirilmesi. 8. Ulusal Pediatrik Gastroenteroloji Hepatoloji ve Beslenme Kongresi. 7- 10 Mayıs, Kayseri, 2008.
- E61. **Diniz G**, Akgüner M, Ortaç R. İhmal edilebilir bir tanı: Rabdomiyomatöz mezenkimal hamartom. VII.Pediatrik ve Perinatal patoloji Kursu. 12- 14 Eylül 2008, İstanbul
- E62. Aktaş S, **Diniz G**, Ortaç R, Ergin M, Erbay A. Puberte prekoks ile seyreden over sklerozan stromal tümörü. VII.Pediatrik ve Perinatal patoloji Kursu. 12- 14 Eylül 2008, İstanbul.
- E63. Ortaç R, **Diniz G**, Aktas S, Gülez P, Vergin C. Chediak Higashi: Periferik yayma ve saç teli incelemesiyle tanınabilen bir hastalık. VII.Pediatrik ve Perinatal patoloji Kursu. 12- 14 Eylül 2008, İstanbul
- E64. Ortaç R, Gülez P, **Diniz G**, Aktas S, Apa H. Kikuchi Hastalığı: Olgu sunumu aracılığıyla literatüre bakış. VII.Pediatrik ve Perinatal patoloji Kursu. 12- 14 Eylül 2008, İstanbul.
- E65. Eryaşar G, Öztürk Küçükşahin N, Seçil Y, Beckmann Y, **Diniz AG**, Güngör N, Başoğlu M. Disferlinopati: Bir olgu sunumu. 44.Ulusal Nöroloji Kongresi, Ankara 2008.
- E66. Afşar Ş, Ergin M, **Diniz G**, Ortaç R. Asitretin ile başarılı şekilde tedavi edilen bir infantil püstüler psoriasis olgusu. XIX. Prof.Dr.A. Lütfü Tat Sempozyumu. 11-15 Kasım Ankara, 2009.
- E67. Colak A, Coker I, **Diniz G**, Karademirci İ, Turkon H, Ergonen F, Hanci T, Bozkurt U. Glukoz metabolizma bozukluğu olan ve olmayan vakalarda interlökin-1β, interlökin-6, tümör nekroz faktör-α düzeylerinin karşılaştırılması. 21. Ulusal biyokimya kongresi, İSTANBUL, 28 Ekim-31 Ekim 2009.
- E68. Coker I, Karademirci İ, Colak A, **Diniz G**, Turkon H, T.Ucerler. Glukoz toleransı olan ve olmayan vakalarda interlökin8 ve high sensitive CRP düzeyleri. 21. Ulusal biyokimya kongresi, İSTANBUL, 28 Ekim-31 Ekim 2009.
- E69. **Diniz G**, Aktaş S, Türedi A, Ortaç R, Vergin C. Wilms Tümöründe Telomeraz Aktivitesi. III.Multidisipliner kanser araştırma sempozyumu. 14- 17 mart 2010, Bursa.
- E70. Aktaş S, **Diniz G**, Yaman Y, Özek G, Türedi A, Ortaç R, Vergin C. "Germ Hücreli Tümörlerde telomeraz aktivitesi". XVI. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, Samsun, 18-22 Mayıs 2010. (**En iyi poster ödülü**).
- E71. Oymak Y, Türedi A, Yaman Y, Özek G, Cartı Ö, Temir G, **Diniz Ünlü G**, Karaca I, Alper H, Vergin C. "Non-Hodgkin Lenfomalı Olgularımız". XVI. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, Samsun, 18-22 Mayıs 2010.

- E72. Oymak Y, Türedi A, Yaman Y, Özek G, Cartı Ö, Temir G, **Diniz Ünlü G**, Altungöz O, Karaca I, Alper H, Vergin C. "Horner Sendromuyla başvuran nöroblastom vakası". XVI. TPOG Ulusal Pediatrik kanser kongresi, Samsun, 18-22 mayıs 2010.
- E73. **Diniz G**, Temir G, Ortac R. Anjiomiksom: Her zaman miksoid, bazen agresif. 20. Ulusal Patoloji Kongresi. 28 eylül- 3 ekim 2010, Eskişehir.
- E74. **Diniz G**, Genel F, Yücel N, Türedi A, Vergin C. B lenfosit belirleyicisi CD20 pozitif mediastinal rabdomyosarkom olgusu. 20. Ulusal Patoloji Kongresi. 28 eylül- 3 ekim 2010, Eskişehir.
- E75. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac, N.Olgun. Wilms tümöründe DNA onarım genlerinden MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6'nın doku ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin araştırılması. 20. Ulusal Patoloji Kongresi. 28 eylül- 3 ekim 2010, Eskişehir.
- E76. GZ Temir, A.Karkıner, A.Dursun, N.Aksoy, C.Öztürk, M.Yıldız, Ö.Okur, H.Evciler, **G.Diniz**, A Türedi, İ.Karaca. Benign karaciğer kitlelerine yaklaşım. Çocuk Cerrahisi Dergisi, Kongre özel sayısı, 2010.
- E77. GZ Temir, A.Karkıner, A.Dursun, N.Aksoy, C.Öztürk, M.Yıldız, Ö.Okur, H.Evciler, **G.Diniz**, Y.Yaman, İ.Karaca. Nöroblastomda acil torakotomi. Çocuk Cerrahisi Dergisi, Kongre özel sayısı, 2010.
- E78. Ebru Akar, Aycan Unalp, **GülDen Diniz**, Ragıp Ortaç, Banu Şentürk, Osman Yılmaz, Müge Kıray, Merve Tepetam, Canan Çoker, Şükrü Çangar. Hemoliz modeli oluşturulan yenidoğan ratlarda demirin nörotoksik etkisinin ve beyin matürasyonu arasındaki ilişkinin araştırılması. 7.Uludağ Pediatrik Kış Kongresi. 6- 9 Mart 2011, Bursa.
- E79. **GülDen Diniz**, Safiye Aktaş, Cankut, Çubuk, Ragıp Ortaç, Nur Olgun, Canan Vergin. Wilms Tümöründe mikrosatellit İnstabilite. 19. Ulusal Kanser Kongresi. 20- 24 Nisan 2011, Antalya.
- E80. Ayfer Çolak, **GülDen Diniz**, Burcu Gölcük, Işıl Çoker, A.Kadri Çırak, İsmet Ünlü. İleri evre Küçük Hücreli dışı akciğer kanserli erkeklerde tedavi öncesi serum İnsülin benzeri gelişme faktörü 1 (IGF-1) ve İnsülin benzeri gelişme faktörünü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3) düzeyi. 19. Ulusal Kanser Kongresi. 20- 24 Nisan 2011, Antalya.
- E81. Çalkavur Ş, Olukman Ö, Ayanoğlu M, **Diniz G**, Kaya Kılıç F, Gökaslan F, Okur D, Atlıhan F, Altay C, Hipopituitarizmin eşlik ettiği osteopetrozis konjenita tanılı bir yenidoğan olgusu. Türk Pediatri Arşivi 2011; 46: özel sayı. 47. Türk Pediatri Kongresi, 10-14 mayıs 2011. KKTC.
- E82. Karkıner A, Akgüner M, Temir G, **Diniz G**, Aksoy N, Dursun A, Okur Ö, Öztürk C, Yıldız M, Şencan A, Evciler H, Uçan B, Arslan O, Karaca İ. 2005- 2010 yılları arasında yanık ünitesinde izlenen hastalarımız: Demografik veriler. Çocuk Cerrahisi Dergisi, Kongre özel sayısı, 2011.
- E83. Yaman İ, Derici H, Kara C, Kamer E, **Diniz G**, Ortaç R, Sayın O. Ratlarda oluşturulan insizyonel yara iyileşmesinde resveratrolün etkisi. 8.Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Kongresi. 14-18 eylül 2011, Antalya.

MEZUNİYET TEZİ

KUŞADASI'NDA MORBİDİTE ARAŞTIRMASI

Aydın ili Kuşadası ilçesi Merkez Sağlık Ocağı hasta kayıt defterleri taranarak; 1 yıllık sürede başvuran hasta sayısı, hastalıklar ve sonuçlar kategorize edildi.

UZMANLIK TEZİ (Enfeksiyon Hastalıkları)

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDA İZOLE EDİLEN "ESCHERİCHİA COLİ" BAKTERİSİNİN (LATEKS AGLÜTİNASYON YÖNTEMİYLE) P-FİMBRİA TAŞIMA ORANININ VE ANTİBAKTERİYEL DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

İdrar yolları enfeksiyonlarının % 90 etkeni barsak flora bakterilerinden olan Escherichia coli'dir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda P-fimbria organelinin Escherichia coli bakterisine üropatojenite kazandırdığı ve fimbriyalı E.coli'lerin oluşturduğu üriner sistem enfeksiyonlarında pyelonefrit gelişme riskinin daha yüksek olduğu iddia edilmektedir. Çalışmamızda İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi

Mikrobiyoloji laboratuvarında idrar örneklerinden izole edilen E.coli bakterisinde P-fimbria taşıma oranını araştırdık.

1989 yılı eylül-kasım aylarında hastanemiz laboratuvarına kültür için gönderilen idrarlardan E.coli üreyen 80 tanesi çalışmaya alındı ve izole edilen bakterilerde lateks aglütinasyon yöntemiyle p-fimbria varlığı araştırıldı.

Üç aylık sürede laboratuvarımıza 328 idrar yollandı. 212 örnekte etken üretilmedi. Üreme olanların %68.9'unda E.coli, %7.75'inde Pseudomonas aeruginosa, %4.1'inde Proteus türleri, yaklaşık %18'inde ise stafilokok, enterokok ve candida benzeri deri florası üyeleri izole edilmiştir. İzole edilen 80 Escherichia coli bakterisinin 10'unda (%12.5) p-fimbria varlığı saptanmıştır.

Çalışmamızda üriner enfeksiyonlarda izole edilen E.coli bakterilerindeki p-fimbria oranını literatürde bildirilenin çok altında bulduk. Bunun nedenini ağırlıklı olarak hasta popülasyonumuzun komplike olmayan üriner enfeksiyonlu poliklinik hastalarından seçilmiş olmasına bağladık. Ülkemizde E.coli'lerdeki P-fimbria oranına ilişkin çalışma olmadığını ve geniş serilerde araştırılması gerektiğini belirttik.

UZMANLIK TEZİ (Patoloji)

KEMİK DEKALSİFİKASYONUNDA KULLANILAN DEMİNERALİZAN MADDELERİN DOKUNUN MORFOLOJİSİ VE İMMÜNOREAKTİVİTESİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI.

Kemik doku, mikroskopik olarak incelenebilir hale gelinceye kadar uzun ve yapısını bozan dekalsifikasyon işlemlerinin uygulanmasını gerektirmektedir. Çalışmamızda farklı dekalsifikasyon yöntemleri uyguladığımız dokuların histopatolojik görünüm ve immünoreaktivite özelliklerinin değişimini sınımayı amaçladık.

Mezbahada kesimden hemen sonra 10 danadan iliak kemik, dalak ve aurikula parçası ayrıldı. Tesbit sonrası güçlü asitlerden nitrik asit, zayıf asitlerden formik asit, şelatlayıcılardan EDTA demineralizasyon için kullanıldı. Ayrıca bazların da dekalsifikasyon yapabileceği kimyasal olarak formülize edildiği için; NaOH, KOH yanı sıra asetil salisilik asit demineralizan etkisi açısından sınıandı. Tüm bu maddeler değişik dilüsyonda ve mikrodalga kullanılarak da denendi. İmmünohistokimyasal olarak dokular S-100 protein, sitokeratin ve LCA ile boyanarak immünoreaktiviteye etkiler araştırıldı.

Düşük ısıda kullanılan asit çözeltilerin dokunun morfolojisine immünoreaktivitesinden daha çok zarar verdiği; yüksek ısıda ise dokuda denatürasyona yol açtıkları görüldü. Bazik maddeler ise daima dokunun denatürasyonuna yol açıyorlardı. Çalışma sonrası dekalsifikasyon aşamasında en önemli adımın materyalin inceltilmesi olduğu ve bu sayede dekalsifikasyon süresinin kısaltılabileceği görüldü.

8.3. Tezden yapılan yayınlar:

- E1. **Diniz G**, S.Aktas, R.Ortac, N.Olgun. Wilms tümöründe DNA onarım genlerinden MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6'nın doku ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin araştırılması. 20. Ulusal Patoloji Kongresi. 28 eylül- 3 ekim 2010, Eskişehir.
- E2. **GülDen Diniz**, Safiye Aktaş, Cankut, Çubuk, Ragıp Ortaç, Nur Olgun, Canan Vergin. Wilms Tümöründe mikrosatellit İnstabilite. 19. Ulusal Kanser Kongresi. 20- 24 Nisan 2011, Antalya
- E3. GülDen Diniz, Safiye Aktaş, Cankut, Çubuk, Ragıp Ortaç, Nur Olgun, Canan Vergin. Tissue expressions of mlh1, pms2, msh2, msh6 proteins and prognostic value of microsatellite instability in Wilms Tumor: experience with 45 cases. "Pathology Research and Practice" dergisine gönderildi (15.09.2011).