

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEPATOBLASTOMDA MikroRNA-17,
MikroRNA-19b, MikroRNA-146a ve
MikroRNA-302d EKSPRESYONLARI VE
KLİNİK ÖNEMİ**

DR. ÇİĞDEM ÖMÜR ECEVİT

TEMEL ONKOLOJİ
DOKTORA TEZİ
İZMİR, 2017

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2013970186

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEPATOBLASTOMDA MikroRNA-17,
MikroRNA-19b, MikroRNA-146a ve
MikroRNA-302d EKSPRESYONLARI VE
KLİNİK ÖNEMİ**

TEMEL ONKOLOJİ
DOKTORA TEZİ

DR. ÇİĞDEM ÖMÜR ECEVİT

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Hatice Nur Olgun

(Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından
2015.KB.SAG.4 sayı ile desteklenmiştir.)

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2013970186

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onkoloji Anabilim Dalı, Temel Onkoloji Doktora programı öğrencisi Çiğdem Ömür Ecevit “**HEPATOBLASTOMDA MikroRNA-17, MikroRNA-19b, MikroRNA-146a ve MikroRNA-302d EKSPRESYONLARI ve KLİNİK ÖNEMİ**” konulu Doktora tezini 26.07.2017 tarihinde başarı ile tamamlamıştır.


Prof. Dr. Hatice Nur OLGUN
BAŞKAN
Dokuz Eylül Üniversitesi
Temel Onkoloji Anabilim Dalı


Prof. Dr. Safiye AKTAŞ
ÜYE
Dokuz Eylül Üniversitesi
Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı


Prof. Dr. Erdener ÖZER
ÜYE
Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Kemal ERGİN
ÜYE
Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı


Doç. Dr. Gülşen DİNİZ
ÜYE
Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi
Patoloji Kliniği

Prof. Dr. Zekiye ALTUN
YEDEK ÜYE
Dokuz Eylül Üniversitesi
Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı


Prof. Dr. Mehmet KANTAR
YEDEK ÜYE
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLOLAR DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR.....	vi
TEŞEKKÜR	viii
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ ve AMAÇ	4
1.1 Problemin Tanımı ve Önemi	4
1.2. Araştırmanın Amacı	5
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Normal Karaciğer	6
2.2. Hepatoblastom.....	6
2.2.1. Tanım.....	6
2.2.2. Epidemiyoloji.....	7
2.2.3. Etiyoloji.....	7
2.2.4. Klinik ve Laboratuvar Bulgular	8
2.2.5. Histopatoloji	9
2.2.6. Genetik ve Moleküler Değişiklikler	11
2.2.7. Görüntüleme Yöntemleri	12
2.2.8. Uluslararası Hepatoblastom Çalışma Grupları ve Evreleme.....	14
2.2.8.1. SIOPEL.....	14
2.2.8.2. SIOPEL-1.....	14
2.2.8.3. PRETEXT Evrelemesi.....	14
2.2.8.4. SIOPEL-2.....	17
2.2.8.5. SIOPEL-3.....	18
2.2.8.6. SIOPEL-4.....	18
2.2.8.7. Diğer Çalışma Grupları	18
2.2.9. Tedavi Algoritmi	19
2.2.10. Prognoz.....	20

2.2.10.1. Genetik Prognostik Faktörler.....	20
2.2.10.2. Klinik Prognostik Faktörler	20
2.3. MikroRNA.....	22
2.3.1. Tarihçe ve MikroRNA Kavramı.....	22
2.3.2. MikroRNA Biyogenezi	23
2.3.3. MikroRNA ve Kanser	24
2.3.4. MikroRNA ve Hepatoblastom.....	25
2.3.5. MikroRNA Belirleme Yöntemleri.....	27
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	29
3.1. Araştırmanın Tipi.....	29
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	29
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi	29
3.4. Çalışma Materyali	29
3.5. Araştırmanın Değişkenleri.....	30
3.6. Veri Toplama Araçları	30
3.6.1. Kullanılan Cihazlar	30
3.6.2. Veri (Dokuları) Toplama	30
3.6.3 MikroRNA Analizi	30
3.6.3.1. Makrodiseksiyon	30
3.6.3.2. RNA İzolasyonu	31
3.6.3.3. Real Time PCR ile Analiz.....	31
3.6.3.4. Klinik veriler ile miRNA Karşılaştırması	33
3.7. Araştırma Planı	34
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi	35
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları	35
3.10. Etik Kurul Onayı	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Tanımlayıcı Bulgular	36
4.2. Analitik Bulgular	41
4.2.1. Hepatoblastom ve normal doku örneklerinin Karşılaştırmaları.....	41
4.2.2. MikroRNA ekspresyonlarının tanılayıcı ve prognostik değerleri	43
4.2.3. Sağkalım değerlendirmeleri	45

5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
7. KAYNAKLAR	56
8. EKLER.....	66
8.1. Kurum İzin Belgesi	66
8.2. Etik Kurul Onayı	67
8.3. Özgeçmiş	69
8.4. Hepatoblastom ile İlgili Yayın.....	75



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Hepatoblastomun histopatolojik alt tiplerinin sınıflandırılması	10
Tablo 2. PRETEXT evrelemesi.....	15
Tablo 3. SIOPEL'e göre hepatoblastomda risk sınıflaması	17
Tablo 4. Hepatoblastomda potansiyel prognostik faktörler	21
Tablo 5. Hepatoblastom olgularının demografik özellikleri	37
Tablo 6. HB ve çevreleyen normal karaciğer dokusunun mikroRNA ekspresyonlarının ölçüm değerleri	38
Tablo 7. Hepatoblastom ve çevreleyen normal karaciğer dokusunun mikroRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması	41
Tablo 8. Hepatoblastom histopatolojik alt tiplerin mikroRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1a-b. Hepatoblastom olgusunun MRG incelemesi	13
Şekil 2a-b. Hepatoblastom olgusunun MRG incelemesi	13
Şekil 3. PRETEXT evreleme sistemi	16
Şekil 4. MiRNA sentezinde yer alan enzim ve yollar.....	24
Şekil 5. Hepatoblastom dokusunda belirlenen miR-17, mir-19b, mir-146a ve mir-302d ekspresyonlarının grafiği	39
Şekil 6. Mikst epitelyal ve mezenkimal patern gösteren osteoid komponentin eşlik ettiği fütal tipte hepatoblastoma	40
Şekil 7. Fütal tipte hepatoblastoma ve ekstramedüller hematopoez.....	40
Şekil 8. MiR-17,miR-302d, miR-19b ve miR146a ekspresyonlarının, hepatoblastom ve çevreleyen normal karaciğer doku ayırıcı tanısı için ROC eğrileri	43
Şekil 9. MiR-17 ekspresyonunun prognozu tahminleyici ROC eğrisi.....	44
Şekil 10. miR-19 ekspresyonunun HB alt tiplerini ayırt edici ROC eğrisi	45
Şekil 11. Embriyonel tip HB ve fetal tip HB olgularında toplam sağkalım grafiği	46
Şekil 12. Hepatoblastom olgularında düşük ve yüksek miR-17 ekspresyonlarının olaysız sağkalım grafiği	47
Şekil 13. Hepatoblastom olgularında düşük ve yüksek miR-17 ekspresyonlarının genel sağkalım grafiği	47

KISALTMALAR

HB: Hepatoblastom

BWS: Beckwith-Wiedemann Sendromu

AAP: Ailevi Adenomatoz Polipozis

APC: Adenomatoz Polipozis Coli

AFP: α -fetoprotein

RNA: Ribonükleik Asit

DNA: Deoksiribonükleik Asit

SIOPEL: Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörleri Strateji Grubu

GPOH: Alman Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Topluluğu

COG: Çocuk Onkoloji Grubu

JPLT: Japon Pediatrik Karaciğer Tümörleri Çalışma Grubu

PRETEXT: Pretreatment Extent of Disease

CHIC: Uluslararası Çocukluk Çağı Hepatik Tümör İşbirliği

PLK1: Polo Benzeri Kinaz 1

HGF: Hepatosit Büyüme Faktörü

TERT: İnsan Telomeraz Revers Transkriptaz

HCC: Hepatosellüler Karsinom

3'UTR: 3' translasyona uğramayan bölge

MikroRNA: MiRNA

MikroRNA-17: miR-17

MikroRNA-19b: miR-19b

MikroRNA-146a: miR-146a

MikroRNA-302d: miR-302d

ORF: Open Reading Frame

RNA Pol II: RNA Polimeraz II

TRBG: RNA Bağlayıcı Protein

DGCR8: Di George Sendromu Kritik Bölge 8

RISC: RNA ile Tetiklenmiş Susturma Kompleksi

MAPK: Mitojen Aktive Eden Protein Kinaz

PTEN: Fosfotaz ve Tensin Homolog:

FFPE: Formalin Fikse Parafin Gömülmüş

RT-PCR: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TRAF-6: TNF Reseptör İlintili Faktör 6

IRAK1: IL-1 Reseptör İlintili Kinaz 1

TGF- β : Transforme Eden Büyüme Faktörü- β

AUC: Eğri altında kalan alan



TEŞEKKÜR

Temel Onkoloji Anabilim Dalı'nda doktora yapabilme şansını sunan, eğitimim süresinde her konuda desteğini gördüğüm, daima engin bilgi ve deneyimlerini paylaşarak doktora eğitimimi en iyi şekilde almamı sağlayan, üzerimde çok büyük hakkı olan, her zaman sonsuz saygı ve şükranla anacağım Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Hatice Nur OLGUN' a,

Eğitime başladığım ilk günden son güne kadar yetişmemde büyük katkıları olan, her konuyu rahatlıkla paylaşabildiğim Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. Safiye AKTAŞ' a,

Engin istatistik bilgisi ile tezime anlam katan işinin duayeni Sayın Hocam Prof. Dr. Pembe Keskinoglu' na,

Tez izleme komitesi üyesi saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Erdener ÖZER'e, Temel Onkoloji Anabilim Dalı'nda, bilgi ve tecrübesiyle bana yol göstermiş saygıdeğer tüm hocalarıma, tez projesini destekleyen DEÜ BAP komisyonuna, Onkoloji Enstitüsü idari personeline, Sağlık Bilimleri Enstitüsü İdari Personeline, Temel Onkoloji Yüksek Lisans ve Doktora programındaki tüm çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çiğdem Ömür Ecevit

ÖZET

HEPATOBLASTOMDA MikroRNA-17, MikroRNA-19b, MikroRNA-146a, MikroRNA-302d EKSPRESYONLARI VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Çiğdem Ömür Ecevit

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi SUAM

Yazışma Adresi: Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Alsancak/İZMİR

Amaç: Hepatoblastomlar, seyrek görülen karaciğer malin tümörüdür. Histopatolojik olarak saf fetal olanlar çok iyi gidişli, küçük hücreli andiferansiye histolojide olanlar kötü klinik gidişlidir. Bu çalışmada, hepatoblastomda miRNA ekspresyon paternini göstermek, farklı histopatolojik tiplerde öne çıkan miRNA'yı saptamaya çalışmak ve bunun prognostik bir belirteç olup olmayacağını saptamak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Yirmi iki adet parafin gömülü arşiv hepatoblastom doku örnekleri elde edildi. Bunlardan elde edilen RNA'lar, cDNA'sına çevrildi. Literatürde tümör patogenezinde adı geçen miR17, miR146a, miR302d ve miR19b kantitatif gerçek zamanlı PCR ile çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan relatif kantitasyon yapılabilmek için Δ/Δ Ct metodu kullanıldı. Bu metod ile miRNA ct değerleri Snord48 house keeping geni ile normalize edildi. Eşik değeri geçen siklusa ait kat değişimleri için de karşılaştırmalı $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanıldı.

Bulgular: Hastaların tanı yaşı ortalama 38,14 ay (3-204 ay), %54,5'u (n=10) kız, %54,5'u (n=12) erkek idi. Olgularda tümör dokusunda normal dokuya göre sadece miRNA-17 azalmış olarak belirlendi (p=0,028). Tanı koyma açısından miR-17 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı idi (AUC=0,875, p=0.044). Ekspresyonlar histopatolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde miRNA19b embriyonel alt tipte anlamlı olarak yüksek saptandı (p=0.008).

Sağkalım oranları irdelendiğinde olaysız ve genel sağkalım oranları ile miR-17 arasında ilişkili saptanmadı (p>0,05) Epitelyal komponenti, embriyonel ve fetal olarak karşılaştırıldığında her iki tip arasında olaysız ve genel sağ kalım arasında fark saptanmadı (p>0.05).

Sonuç: Ekspresyonu azalmış olarak bulunan miRNA'ların, farklı klinik davranış gösteren hepatoblastomlarda, klinik gidişi öngörmede önemli veriler sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Hepatoblastom, miRNA, prognoz



MicroRNA-17, MicroRNA-19b, MicroRNA-146a, MicroRNA-302d EXPRESSIONS IN HEPATOBLASTOMA and CLINICAL IMPORTANCE

ABSTRACT

Introduction: Hepatoblastoma (HB) is the most common primary liver malignancy in children, usually occurring in the first 3 years of life. The pure fetal-type hepatoblastoma has the best prognosis, whereas the small cell histology has been associated with unfavorable outcome. In the present study, we aimed to characterize the expression level of selected miRNAs in HB subtypes, and to consider the association with the prognosis.

Materials and Methods: A total of 22 Formalin fixed paraffin embedded (FFPE) HB tumor samples were evaluated in this study. Total RNA was isolated from frozen tissue sections and areas of tumor. Expressions of miR-17, miR-146a, miR-302d, and miR-19b were analyzed in 22 HB cases by RT-PCR. To make the relative quantitation of the results, Δ / Δ Ct method was used. miRNA Ct values were normalized by Snord 48 housekeeping gene with this method. Comparative $2^{-\Delta\Delta Ct}$ methods were used for the cycles above threshold values.

Results: The patient group included 22 children (mean age months, 38,14 range 3-204) diagnosed with HB. Lower miRNA-17 expression levels were detected in tumor samples in comparison with normal tissue samples ($p=0,028$). Lower miRNA-17 expression was significant for distinguish HB tissue from surrounding liver tissue ($AUC=0,875$, $p=0.044$). A higher-level of miR19b was found in embryonal samples ($p=0.008$). Overall and event free survival were not found correlated with miRNA's expressions ($p>0,05$). Mixed subtypes showed better survival than pure epithelial subtypes. Both epithelial and fetal subtype was not found correlated with better event-free and overall survival ($p>0.05$).

Conclusion: In conclusion, lower expression of miRNA's in hepatoblastoma, can provide important data for predicting clinical outcome in HB.

Key Words: Hepatoblastoma, miRNA, prognosis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Hepatoblastomlar seyrek olmakla birlikte, çocukluk çağıının karaciğerde görülen en sık malign tümörüdür. On beş yaşından küçük çocuklarda hepatoblastoma insidansının milyonda 0,5-1,5 olduğu bildirilmekle birlikte infantlarda insidans milyonda 11,2'dir. Çocukluk çağıında malign karaciğer tümörlerinin %79'unu hepatoblastom oluşturmaktadır.

Histopatolojik olarak epitelyal (fetal, embriyonal, küçük hücreli); mezenkimal ve mikst olmak üzere tiplendirilmektedir. Saf fetal olanlar çok iyi gidişli olmakla birlikte, küçük hücreli andiferansiye histolojide olanlar kötü klinik gidiş göstermektedir. Mikst türlerin klinik gidişi öngörülememektedir. Hepatoblastom, infantlarda karaciğerin en sık rastlanan malign tümörüdür. Hepatoblastom tedavisinde sıklıkla doksorubisin ve sisplatin kullanılır.

Saf fetal tip iyi diferansiye, düşük mitotik aktiviteli tip hepatoblastomların % 5 ini oluşturur. Opere edilebilir Evre 1 iseler kemoterapi gerektirmezler. Diğer hepatoblastom tipleri cerrahi yanı sıra doksorubisin/sisplatin temelli tedavi gerektirirler.

Hepatoblastomlarda miRNA ekspresyonları ile ilişkili çalışma az sayıdadır. Nadir tümörler olmaları ve taze donmuş örneklerin zor elde edilebilir olması nedenleri ile parafin bloklardan yapılacak miRNA çalışmaları hepatoblastomda oldukça değerlidir. Guyogus ve arkadaşları, 2013 yılında 20 hepatoblastom olgusunda TaqMan MicroRNA assay ile miR-17-5p, miR-18a, miR-21, miR-34a, miR-96, miR-122, miR-181a, miR-195, miR-210, miR-214, miR-221, miR-222, miR-223 ve miR-224 ekspresyonlarını çalışmışlardır. Tümörsüz karaciğer dokusunu kontrol olarak kullanarak tüm hepatoblastomlarla, hepatoblastomların histolojik alt tipleri ile karşılaştırma yapmışlardır. Embriyonel tipde miR-18'i ve fetal tipde miR-221'i artmış saptamışlardır. Ayrıca hepatoblastom sağkalımında alt tipden bağımsız olarak miR-21, miR-222 ve miR-224 ekspresyonlarını artmış olarak bulmuşlardır. Magrelli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, 9 HB olgusunda miR-214, miR-199a, miR-150 ve miR-125a ekspresyonlarını artmış olarak bulmuşlar ve

bu microRNA'ların hepatoblastom sınıflamasında değerli bir veri olabileceğini savunmuşlardır.

Bu çalışmamızda, tümör patogeneğinde yer aldığı bilinen; miR-17, miR-146a, miR-302d ve miR-19b çalışılacak miRNA'lardır. Elde edilen miRNA ekspresyonları; klinik takip verileri, histopatoloji ve diğer özellikler ile karşılaştırılacak, tanısal ve prognostik değeri açısından tartışılacaktır.

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, hepatoblastomda miRNA ekspresyon paternini göstermek, farklı histopatolojik tiplerde öne çıkan miRNA'yı saptamaya çalışmak ve bunun prognostik bir belirteç olup olmayacağı konusunda bilgi edinmektir.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

1. Hepatoblastomlarda belirli miRNA ekspresyonları farklı klinik davranış gösteren hepatoblastomlarda farklı ekspresyonları, klinik gidişi öngörmeye önemli veriler sağlayabilir.

2. Ekspresyon gösteren miRNA varlığına göre tedavi modelleri değiştirilebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Normal Karaciğer

Karaciğer, karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasında önemli görevi olan yaşamsal bir organdır. Karaciğer organ metabolizmasında önemli bir rol oynar. Vücutta ortalama 500 civarında fonksiyonu üstlendiği tahmin edilmektedir. Glikojen depolanması, hematopoez, albümin, hormon, koagülasyon faktörleri sentezi ve detoksifikasyon olmak üzere birçok önemli işlevi yürütür (1). Ayrıca fetal karaciğer ilk trimesterde eritrosit yapımını da üstlenmektedir. Bipotansiyel öncül hücreden gelişen başlıca hepatosit ve kolanjiosit olmak üzere 2 tip hücreden oluşur. Karaciğer yetmezliğinin uzun dönem kompanse edecek herhangi bir tedavi modalitesi yoktur. Bugün için tek tedavi yöntemi karaciğer naklidir (2).

2.2. Hepatoblastom

2.2.1. Tanım

Hepatoblastom (HB), çocukluk çağında en sık görülen kötü huylu karaciğer tümörüdür (3). Çocukluk çağı tümörlerinin %1'ini ve malign karaciğer tümörlerinin %75' ini oluşturur. Hayatın ilk beş yılında sık görülen hastalığın insidansı yaş ile azalmaktadır. Son 40 yılda, cerrahi tam rezeksiyonun gerçekleştirilebilmesi konusundaki ilerlemeler ve kemoterapi alanındaki gelişmeler sonucunda genel olarak hayatta kalım oranları %30 düzeyinden %80'lere ulaşmıştır (4). Çoğunlukla karında kitle ile başvururlar ancak sıklıkla asemptomatiklerdir. Klinik evreleme ve histolojik sınıflandırma kompleks olmasına rağmen bugün için risk belirlemede, tümör evresi ve karaciğer tutulumunun yaygınlığı gibi klinik özellikler ön plana çıkmaktadır.

2.2.2. Epidemiyoloji

Hepatoblastom (HB), çocukluk çağı kanserleri arasında nadir görülmekle birlikte karaciğer tümörleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Çoğunlukla bu olgular ilk 3 yaşta tanı alırlar (5). Ortalama tanı yaşı 19 ay olarak bildirilmekte ve çoğu çocukluk çağı kanserleri gibi erkek çocuklarda 1-3 kat daha fazla görülmektedir. Beyaz ırkta siyalara göre sıklığı daha fazladır. Hastalık sporadik olarak görülebildiği gibi Beckwith-Wiedemann sendromu, ailevi adenomatöz polipozis sendromları ile birliktelik gösterebilir (6). Son yıllarda gerek Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanser Enstitüsünün Sürveyans (SEER) verilerine gerek de Japonya ve Avrupa raporlarına göre son 30 yılda yıllık insidansının arttığı görülmektedir (7). Erken doğum ve çok düşük doğum ağırlığı ile doğan bebeklerle hepatoblastom arasında ilişki saptanması ve bu olguların sayılarının artması nedeni ile hepatoblastom görülme sıklığının da buna paralel olarak arttığı düşünülmektedir (8).

2.2.3. Etiyoloji

Hepatoblastom, embriyonel kaynaklı bir karaciğer tümörü olup karaciğer kök hücrelerinden geliştiği düşünülmektedir. Beckwith-Wiedemann Sendromu (BWS), hemihipertrofi, Trizomi 18 (Edward's sendromu) ve ailevi adenomatöz polipozis (AAP) olgularında hepatoblastom sıklığının arttığı bilinmektedir (6). BWS'u aşırı büyüme ve artmış kanser riski ile birliktelik gösteren bir sendromdur ve bu sendromda HB riski 500 kat artmıştır. BWS' da 11p15 kromozom bölgesinde disregülasyon tanımlanmaktadır (9). Ailevi adenomatöz polipozis kalıtsal bir hastalık olup çoğunlukla kanserleşen bağırsaklardaki çok sayıda poliplerle karakterize bir hastalıktır. Sporadik olgularda ve ailevi AAP olgularında beşinci kromozomda bulunan APC tümör baskılayıcı gende mutasyon saptanmıştır. Bu mutasyon sonucunda Wnt sinyal yolağı ve bu yolağın proteini olan β -kateninin artmış aktivasyonu söz konusudur (10, 11). AAP olgularında normal popülasyona göre HB gelişme riski ise yaklaşık 800 kat daha fazla olarak rapor edilmektedir.

Mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte etiyolojide erken doğum ve çok düşük doğum ağırlığı, yenidoğan döneminde oksijen tedavisi, frusemid gibi bazı ilaçlar, total parenteral nütisyon, radyasyon ve bazı metallerin oluşumunda rol aldığı üzerinde durulmaktadır (8). Özellikle düşük doğum ağırlığı ve çok düşük doğum ağırlığı olan bebeklerin HB gelişimi için risk altında oldukları ve HB saptanan olguların %40'ında düşük doğum ağırlığı olduğu bildirilmektedir (12). Bu çocuklarda büyümeyi yakalamak için hepatosit büyüme faktörü gibi artmış büyüme faktörü salınımının, tümör büyümesine neden olabileceğine dair hipotezler bulunmaktadır (13).

2.2.4. Klinik ve Laboratuvar Bulgular

Çoğu hepatoblastom olgusunun ilk başvuru yakınması aile veya hekim tarafından fark edilen asemptomatik karın kitlesidir. Bununla birlikte bir kısım hasta nadir de olsa bulantı-kusma, iştahsızlık, kilo kaybı ve karın ağrısı gibi spesifik olmayan bulgularla başvurabilir ancak bu bulgular çoğunlukla ileri evre tümörlerde görülür (14). Kitlenin safra yollarına basısı sonucu bazı hastalar sarılık ile başvurabilir. Bazı hastalarda ise salınan hormonlara örneğin; Beta-insan koryonik gonodotropin (β -HCG) yüksekliğine bağlı erken puberte veya renin salınımına bağlı hipertansiyon kliniği görülebilmektedir. Çok büyük tümör kitlesi varlığında tümör yırtılması sonucu akut karın, masif kanama ve şok tablosu ile başvuru da söz konusudur ancak oldukça nadir olarak ortaya çıkmaktadır (15).

Hepatoblastom olgularının %90'ında α -fetoprotein (AFP) yüksekliği belirgin artış göstermektedir. Bu belirteç aynı zamanda hastalık ciddiyeti ile de koreledir. Ancak AFP değerleri özellikle infantil dönemde hepatositlerden bu proteininin fizyolojik olarak sentezlenmesine bağlı olarak yüksek seviyelerde saptanır. Bu nedenle yaşa göre AFP düzeylerinin bilinmesi önemlidir (16). Postnatal dönemde 100 000 ng/ml olan değerler ilk 6 ayda hızla düşerek 1 yaş civarında erişkin seviyelerine (3-20 ng/ml) ulaşır. Hepatoblastomda AFP düzeyleri 100 ng/ml' nin üzerindedir. Bu belirteç aynı zamanda hastalık ciddiyeti ile de koreledir. Bu değer altındaki ve 1000000 ng/ml üzerinde AFP varlığı kötü prognoz ve kemoterapiye direnç ile ilintilidir (17). Aynı zamanda

tedaviye yanıtı ve hastalık tekrarını belirlemede kullanılan bu belirteçte, tümörün tam rezeksiyonundan sonra uygun düşme gözlenmemesi, kalıntı hastalığın varlığı olarak değerlendirilmektedir (18). Diğer laboratuvar bulguları değerlendirildiğinde hastaların yaklaşık %60'ında trombosit sayısında artış gözlenirken, bazı olgularda karaciğer enzim yüksekliği ve anemi tabloya eşlik edebilmektedir.

2.2.5. Histopatoloji

Hepatoblastomlar, genellikle tek bir kitle olarak karşımıza çıkarlar. İyi sınırlı solid tümör kitlesi bazen tüm karaciğeri kaplayacak düzeyde büyük olabilir (19). Tümör kapsüllü veya psödokapsüllü, nodüler veya düzgün yüzeyle olabilir. Makroskobik olarak kanama, nekroz ve kemikleşme alanları görülebilir.

Hepatoblastom, hepatosit öncül hücresi olan hepatoblastlardan köken alan embriyonel bir tümördür (20). Histopatolojik inceleme hem kesin tanı, hem de karaciğerin diğer tümörlerinden ayırım için gereklidir. Histopatolojik olarak, epitelial (%56) ve mikst epitelial-mezenşimal (%44) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Epitelial kökenli olanlar ayrıca; fetal (%31), embriyonel (%19), andiferansiye küçük hücreli (%3) ve makrotrabeküler (%3) olmak üzere 4 gruba ayrılır (Tablo 1). Klinik araştırmalar tümörün klinik evresine ilave olarak bazı histolojik alt tiplerin prognoz ile ilintili olduğunu göstermiştir (21). Bir çalışmada, iyi diferansiye fetal tip ve düşük mitotik aktiviteli HB varlığında spesmeninin tam çıkarılması ile total kür sağlanabileceği ve kemoterapi gerekli olmadığı bildirilmektedir (22). Ancak birçok HB oldukça heterojen histopatolojiye sahiptir ve nadiren tek histolojik tip özelliği gösterir. İyi diferansiye fetal tipte olanlar, prognozu en iyi olan grubu oluşturur. Bununla birlikte küçük hücreli andiferansiye histolojiye sahip hepatoblastomlar kötü seyirli olmaktadır. Bu histolojik patern çoğunlukla düşük alfa- fetoprotein (AFP) seviyesine sahiptir ve kemoterapi yanıtı kötüdür. Bir çalışmada küçük hücreli HB olgularının tümünün tanı sonrasında 24 ay içinde kaybedildiği gösterilmiştir (23). Bir diğer çalışmada ise, küçük hücreli HB tanısı alan 11 olgunun 6'sında immünohistokimyasal olarak *IN1* nükleer negatif hücreler olduğu ve bunlarında 3'ünün rabdoid tümörlerde görülen sitogenetik ve

moleküler değişikliklere sahip oldukları gösterilmiştir (24). Mikst tipde ise mezenşimal elemanların varlığı arttıkça prognoz daha iyi olmaktadır. En sık rastlanan mezenşimal elemanlar kıkırdak ve osteoid dokular olarak bildirilmektedir (25).

HB nadir görülen aynı zamanda kemoterapi öncesi materyal temini yetersizliği nedenleri ile biyolojik çalışmalar yapmak güçtür. Bu nedenle HB konusundaki çalışmalarda uluslararası işbirliği ve çok merkezli klinik çalışmaların planlanmasına ihtiyaç vardır.

Tablo 1. Hepatoblastom histopatolojik alt tiplerinin sınıflandırması

Epitelyal Tip	Alt Tip/Tanımlama	Miks Tip	Alt Tip/Tanımlama
Fetal	İyi farklılaşmış, üniform(çap=10-20 µm) minimal mitotik aktivite ile yuvarlak çekirdek, kord, EMH	Stromal komponentler	Spindle hücreler, osteoid, iskelet kası, kıkırdak
	Kalabalık veya aktif mitoz, belirgin çekirdekçik	Teratoid	Miks, primitif endoderm; nöral komponent, melanin, yassı ve glandüler elemanlar
	Pleomorfik, zayıf farklılaşmış, orta düzeyde anizonükleozis, artmış N/S oranı, çekirdekçik		
	Anaplastik, nükleer genişleme ve pleomorfizm, hiperkromi, anormal mitoz		
Embriyonel	çap=10-15 µm, artmış N/S oranı, angular-primitif tübül, EMH		
Makrotrabeküller	Epitelyal HB (fetal veya embriyonel), sinüzoidler arasında >5 hücre grupları halinde büyüme		
Küçük Hücreli Andiferansiye	çap=5-10 µm, yapısal patern yok, minimal pale amfofilik sitoplazma, ince kromatinli yuvarlak-oval çekirdek, belirgin olmayan çekirdekçik, +/- mitoz,		

EMH: Ekstramedüller hematopoez, **HB:** Hepatoblastom

2.2.6. Genetik ve Moleküler Değişiklikler

Hepatoblastomlarda gen ekspresyon profil çalışmaları ilk kez 2003 yılında gerçekleştirilmiştir (26). Bu çalışmada, tümör ve komşu normal karaciğer dokusu arasında farklı eksprese olan tümör hücre gelişimini ve hücre bölünmesini regüle eden 26 prediktör gen bulunmuştur. Bir diğer çalışmada *PLK1* onkogeninin artmış ekspresyonu tanımlanmıştır (27). Hepatoblastomda, en sık görülen genetik değişiklikler, *Wnt* sinyal yolağında yer alan genlerdedir (28). Son yıllarda, telomeraz aktivasyonu ve genetik ekspresyon profilleri hepatoblastomda prognostik faktör olarak tanımlanmaya başlanmıştır (29). Japon Pediatrik Karaciğer Tümörleri Çalışma Grubu-2 (JPLT-2) 212 HB olgusunda yaptıkları çalışmada, *CTNNB1*'de geniş delesyon ve *CTNNB1* ekzon 3'de mutasyon saptamışlardır (30). Bu olguların %80'inden fazlasında *APC* ve *Axin* genlerinde mutasyon saptanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak *Wnt* sinyal yolağının aktivasyonu sonucu tümör hücrelerinde β -katenin birikimi varlığı gösterilmiştir (31). Aynı zamanda *Wnt* sinyal yolağı hedef genleri olan *siklin D1*, *surviving* ve *MYC* genlerinin ekspresyonlarının da arttığı gösterilmiştir. *Wnt* sinyal yolağının up-regülasyonu hepatoblastomun tüm histopatolojik alt tiplerinde gösterilmekle birlikte, özellikle agresif tip hepatoblastomlarda bu çok daha belirgin olarak saptanmıştır (32). Ayrıca küçük hücre komponentli agresif epitelyal hepatoblastomlarda *MAPK* sinyal yolağı ve antiapoptotik sinyalizasyon up-regüle olarak bulunmuştur.

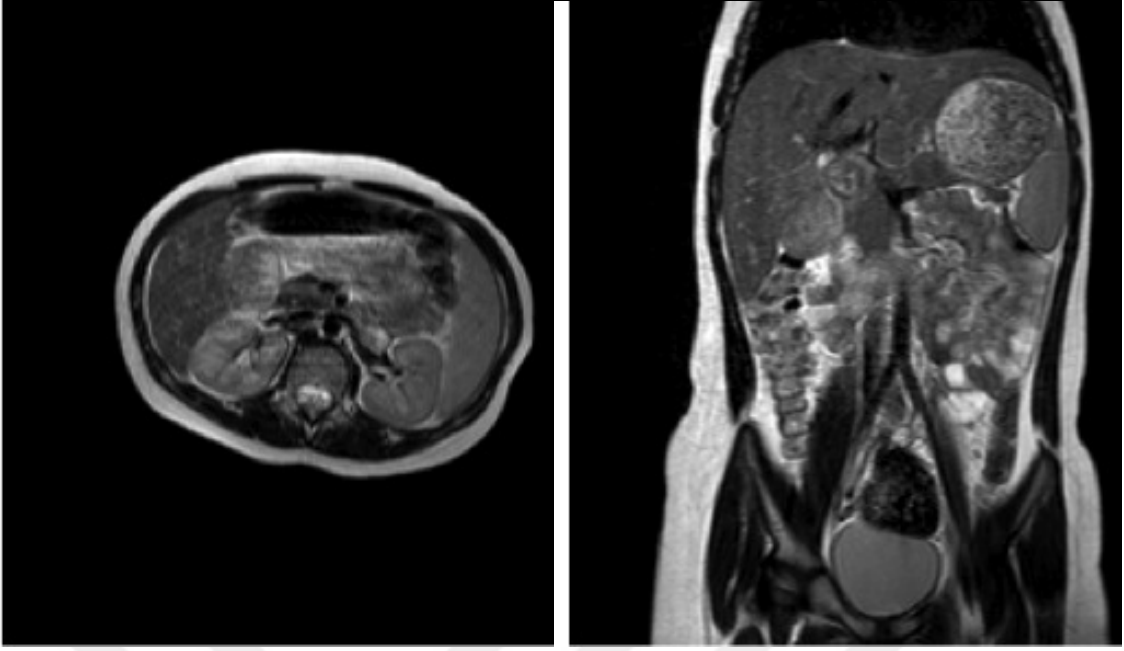
Hepatoblastom gelişimindeki diğer bir yolak Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)/c-Met yolağıdır. Özellikle tam olarak çıkarılamayan hepatoblastom olgularında rekürenslerin yüksek görüldüğü durumlarda c-Met düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir (33). Kalan karaciğer dokusunun rejenerasyonunu sağlamak üzere artan *HGF* aktivitesinin, rezidüel tümörün büyümesine sebep olduğu düşünülmüştür. Aynı zamanda *HGF* aktivitesinde artışın *Wnt* sinyal yolağından bağımsız olarak β -katenin birikimine sebep olduğu gösterilmiştir (34). Bir diğer çalışmada, hepatoblastom olgularında Met ve β -katenin ekspresyonunun arttığı ve kemoterapi sonrası ise Met düzeyinin belirgin düştüğü gösterilmiştir (35).

2.2.7. Görüntüleme Yöntemleri

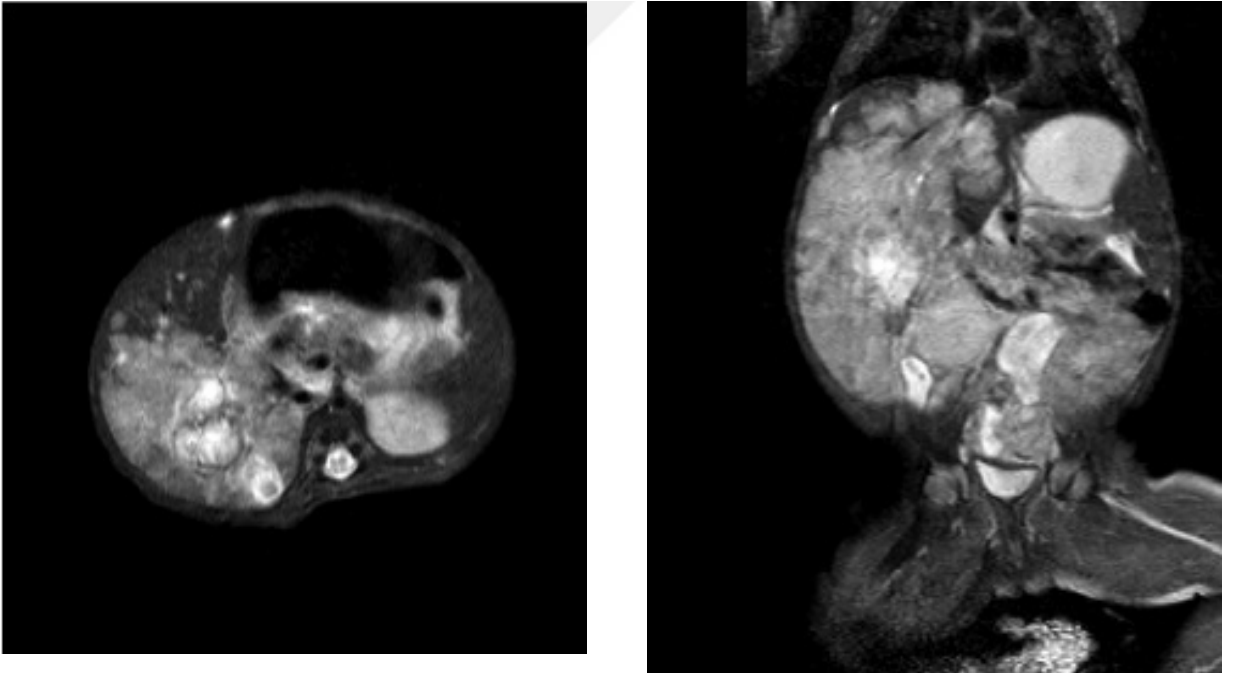
Hepatoblastomda görüntüleme yöntemleri; tanı koymak, tümörün yaygınlığı saptamak, cerrahi olarak çıkarılabilirliğini ve damarlanmasını değerlendirmek ve de sağaltım planını oluşturmak için gereklidir. Tanıda ilk başvurulacak görüntüleme yöntemi karın ultrasonografisidir. Ultrasonografi ile kitlenin solid ya da kistik özelliği, yaygınlığı ve yerleşimi belirlenirken, doppler ultrasonografi ile damarlanması ve ana damarlara yayılımı incelenebilmektedir (36).

İleri görüntüleme yöntemi olarak, bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılmaktadır. Yan etki nedeni ile tomografinin yerini MRG almakla birlikte seçim radyoloğa bırakılmalıdır. Manyetik rezonans görüntülemede; T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens, T2 ağırlıklı kesitlerde hiperintens homojen kitle görünümü saptanmaktadır (Şekil 1a-b, 2a-b). Kontrastlı MR anjiyografi ile tümörün damarsal özelliği ve diğer damarlarla ilişkisi rahatlıkla gösterilebilmektedir (37).

Tanıda hastaların yaklaşık %10-20'si metastatik hastalıkla başvurmaktadır. En sık metastaz yaptığı yer olan akciğerlerin değerlendirilmesi için direk akciğer grafisi ve toraks bilgisayarlı tomografisi önerilmektedir. Kemik ve beyin metastazı çok nadir görülmesi ve akciğer metastazı olmaksızın bu bölgelere metastazın çok az sayıda hepatoblastomlu olguda bildirilmiş olması nedenleri ile kemik sintigrafisi ve beyin görüntülemesi rutin olarak önerilmemektedir.



Şekil 1a-1b. 1. Pretext Evre I hepatoblastom tanılı 7 yaş erkek olgunun aksiyal ve koronal T2 ağırlıklı Manyetik Rezonans Görüntülemesi



Şekil 2a-2b. Pretext Evre IV hepatoblastom tanılı 45 günlük, kız hastanın aksiyal ve koronal T2 ağırlıklı Manyetik Rezonanas Görüntülemesi

2.2.8. Uluslararası Hepatoblastom Çalışma Grupları ve Evreleme

Hepatoblastom olgularının nadir olması nedeni ile hastalığın evrelemesi ve tedavi stratejileri belirlemek amaçlı çok merkezli yürütülen çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla oluşturulan başlıca çalışma grupları; Avrupa, Almanya, Japonya ve Kuzey Amerikada'dır.

2.2.8.1. SIOPEL

Avrupa orijinli Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörleri Strateji Grubu (SIOPEL) 1987 yılında kurulmuştur. Amaçları arasında; çocukluk çağı HB ve hepatosellüler karsinom (HCC) alanında kapsamlı klinik araştırma programları oluşturmak, temel ve translasyonel çalışmalar için nadir olan tümör dokusunu sağlamak ve nadir tümörlerde yürütülebilir çalışma modelleri sayılabilir.

2.2.8.2. SIOPEL-1

İlk SIOPEL çalışmasında HB veya HCC'li olgulara cerrahi öncesi 4-6 hafta süre ile Doksorubisin ve Sisplatin içeren (PLADO) kemoterapi uygulanmıştır. SIOPEL aynı zamanda radyolojik görüntüleri baz alarak preoperatif evreleme sistemi geliştirmiştir. Burada cerrahiden önce kemoterapi ile tümörü öncelikle küçültmek amaçlanmıştır (38). SIOPEL-1'e göre akciğer metastazı ve PRETEXT (*pretreatment extent of the disease*) evrelemesi 3 yıllık sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

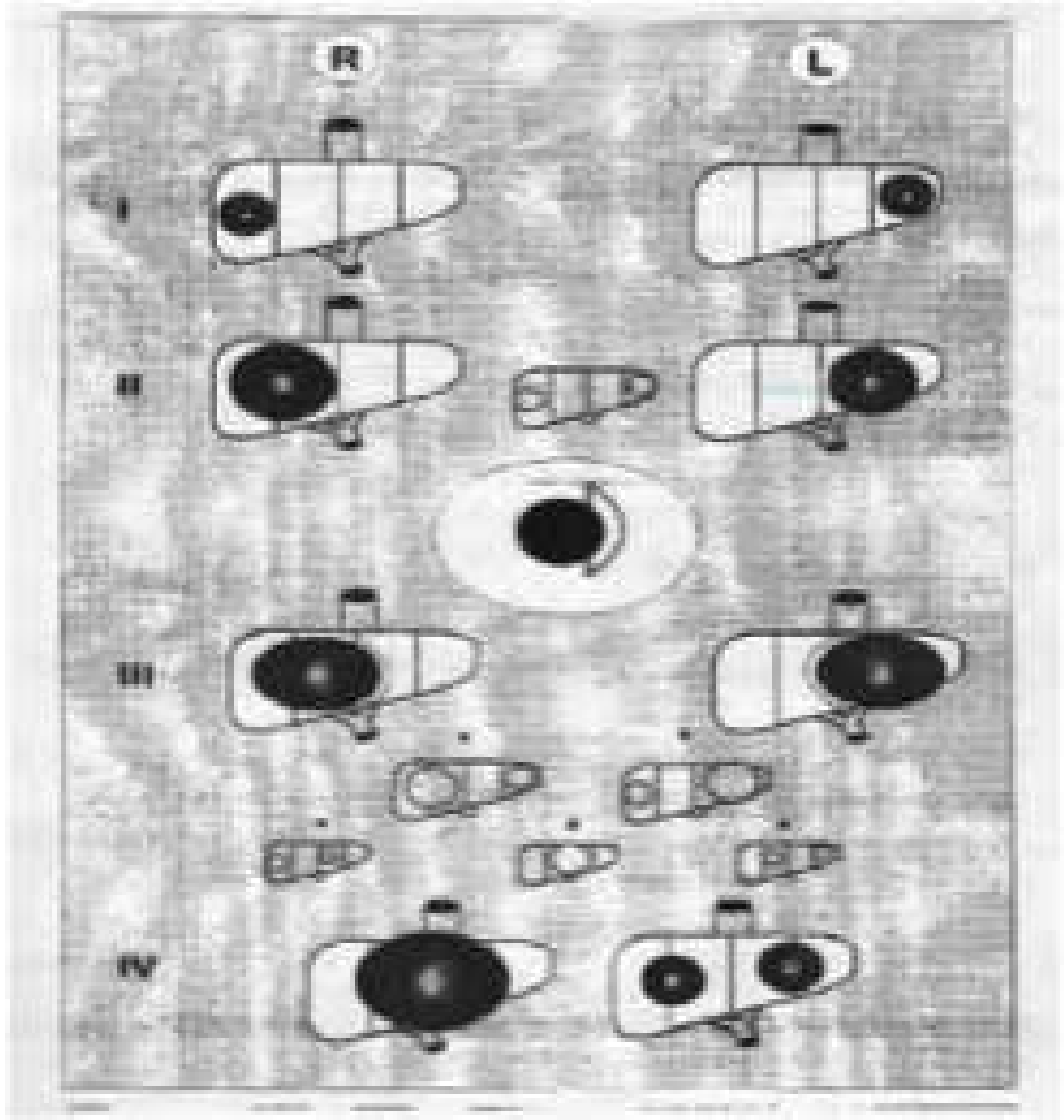
2.2.8.3. PRETEXT Evrelemesi

SIOPEL grubu tümör evresini tanı anında belirlemeye yönelik PRETEXT olarak bilinen bir sistem geliştirmişlerdir (39). Bugün için yaygın olarak SIOPEL grubunun geliştirdiği bu evreleme sistemi kullanılmaktadır (Şekil 3). Bu evreleme sistemi karaciğerin damarsal yapısını göz önüne alır ve karaciğeri her iki ana lobda ikiye ayırarak 4 segmente ayırır. Buna

göre karaciğer sol lob iç, sol lob dış, sağ lob ön ve sağ lob arka olmak üzere 4 segmente ayrılmaktadır. Yan yana tümörden arınmış 3 segment olduğunda PRETEXT I, yan yana tümörden arınmış 2 segment olduğunda PRETEXT II, sadece 1 segment sağlam ya da yan yana olmayan 2 segment sağlam olduğunda PRETEXT III ve tüm segmentlerin tutulumunda PRETEXT IV olarak kabul edilmektedir (Tablo 2). 2005 yılında PRETEXT evresine tümörün karaciğer dışına uzanımını tanımlayan bazı parametreler eklenmiştir. Buna göre; kaudat lob tutulumu C, ekstrahepatik abdominal hastalık varlığı E1, peritoneal nodüllerin varlığı E2, multifokal tümör varlığı F, tümör yırtılması ya da intraperitoneal kanama H, uzak metastaz varlığı M, abdominal lenf nodu metastazı N1, diğer lenf nodu metastazları N2, portal ven dallarının tutulumu P1, ana portal ven tutulumu P2 ve vena kava ile hepatik ven tutulumu V olarak belirtilmelidir (39). Ancak tüm bu uzanımlar risk sınıflandırmasında çok fazla değişiklik yaratmamaktadır (Tablo 3).

Tablo 2. Hepatoblastomda PRETEXT evrelemesi

PRETEXT Numarası	Tanım
I	Tutulan 1 segment, temiz 3 segment
II	Tutulan 1 veya 2 segment, temiz 2 segment
III	Tutulan 2 veya 3 segment, temiz 2 segment yok
IV	Tüm 4 segmentte tutulum



Şekil 3. PRETEXT Evreleme Sistemi; PRTEXT I, PRETEXT II, PRTEXT III, PRETEXT IV, R: Sağ, L: Sol (Bu resim International SIOPEL çalışmaları hepatoblastom protokolünden alınmıştır.)

Tablo 3. SIOPEL Çalışmalarına Göre Hepatoblastomda Risk Sınıflaması

Yüksek Risk		Standart Risk
Yandaki bulguların herhangi birine sahip hasta	Serum alfa-fetoprotein < 100 µg/l PRETEXT IV İlave PRETEXT kriteri; *E1, **E1a, E2, **E2a *H1 *M1 *N1, N2 *P2, ***P2a *V3, ***V3a	Tüm diğer hastalar

* Ekstrahepatik abdominal hastalık varlığı; E1, peritoneal nodüllerin varlığı; E2, intraperitoneal kanama; H1, metastaz varlığı; M1, abdominal lenf nodu metastazı N1, diğer lenf nodu metastazları N2, ana Portal Ven tutulumu; P2 ve 3 Hepatik Ven ve/veya İnferior Vena Cava tutulumu; V3

Asit eşlik etmesi, *İntravasküler tümör eşlik etmesi

2.2.8.4. SIOPEL-2

SIOPEL-2’de olguların tedavileri PRETEXT evrelemesi baz alınarak planlanmıştır. Standart risk (SR) HB hastaları, ki bu tümörün en fazla 3 segmenti etkilemesi ve karaciğer dışına yayılmaması durumu olarak tanımlanabilir, sadece sisplatin ile tedavi edilmiştir (39). Yüksek risk (HR) olgularda, ki bu durumda karaciğer dışı yayılım ve tüm karaciğerin tümörle tutulumu söz konusudur, 3 ilacın birlikte kullanımı söz konusudur. SIOPEL-2 ile SR olan olgularda sisplatinin tek başına PLADO tedavisine üstün olabileceği öngörülmüştür.

2.2.8.5. SIOPEL-3

SIOPEL-3, üçüncü çalışma olup, tek başına sisplatin tedavisinin SR HB'lu olgularda sisplatin, doksorubisin kombinasyonuna göre daha az toksik ve etkili bir tedavi modalitesi olduğunu göstermeyi amaçlamıştır. HR olgularda ise karboplatin, doksorubisin ve sisplatin (SüperPLADO) kombine tedavisinin SIOPEL-1 de uygulanan sispaltin-doksorubisin tedavisi ile karşılaştırmayı amaçlamıştır. Bu çalışma 2008 yılında sonlandırılmış ve sisplatin tedavisinin tek başına etkinliği kanıtlanmıştır (40). HR olgularda cerrahi öncesi uygulanan alterne tedavinin survivalı iyileştirdiği göstermiştir.

2.2.8.6. SIOPEL-4

Bu çalışma, HR HB olgularda, karboplatin ve doksorubisinin sisplatin ile alterne olarak daha yoğun olarak kullanımının kemoterapi yanıtı ve takip eden cerrahi oranını belirlemeyi amaçlamıştır. Uygulanan yoğun kemoterapinin daha etkin olduğunu göstermişlerdir (41).

2.2.8.7. Diğer Çalışma Grupları

Dünyanın farklı ülkelerinde farklı evreleme sistemleri kullanılmıştır. Çocuk Onkoloji Grubu (COG), Kuzey Amerika klinik araştırmalarında yer almış ve evrelemede metastaz varlığı olan hastalar dışında cerrahi sonrası hastalık genişliğini kriter olarak almıştır. Bu grubun önerileri, kemoterapi öncesi rezeksiyon yapılması, tam olarak çıkarılamaması durumunda ise kemoterapi başlanarak tümörün küçültülmesi şeklindedir (42).

Başlangıçta Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Alman Topluluğu (GPOH) da COG ile benzer evreleme sistemi kullanmakta iken bugün için bu grup tarafından yapılan çalışmalarda daha çok preoperatif kemoterapi yaklaşımı benimsenmektedir (43).

2.2.9. Tedavi Algoritmi

Tedavide amaç, cerrahi sınır alan temiz oluncaya kadar çıkarmaktır. 1980'li yıllardan itibaren sisplatinin özellikle tam rezeke edilemeyen HB tedavisinde kullanılmaya başlanması ile birlikte hastalık sağkalım oranlarının yükseldiği görülmüştür (44). Tedavi tümörün evresine göre planlanmaktadır. Tedavide COG ve SIOPEL gruplarının tedavi yaklaşımları farklılık göstermektedir. Amerika orijinli COG, tek lob ile sınırlı veya standart lobektomi ile çıkarılabilecek tümörlerde, kemoterapi uygulamadan doğrudan cerrahi rezeksiyon uygulamakta ve böylelikle kemoterapinin yan etkisinden kaçınmaktadır (37). Avrupa orijinli SIOPEL ise tüm hastalara en azından 2 kürden oluşan kemoterapi protokolünü uyguladıktan sonra cerrahi tedavi uygulamaktadır. Kemoterapatik ajan olarak standart risk grubunda (PRETEXT I-III) tek başına sisplatin veya doksorubisin ile kombinasyonu, yüksek risk grubunda (PRETEXT IV ve/veya akciğer metastazı, intraabdominal yayılım, başvuruda tümör rüptürü ya da AFP<100 ng/ml) ise sisplatin, doksorubisin ve karboplatin kombinasyonunu önermektedirler (43, 45). İki kür sonrası hastalar cerrahi açıdan tekrar değerlendirilerek mümkün ise kür sayısının dörde tamamlanması istenmektedir (41). Postoperatif dönemde kemoterapi ise, cerrahi öncesi alınan kür sayısına göre değişiklik göstermektedir.

Cerrahide amaç, tam anatomik rezeksiyon ile tüm tümör dokusunun ortadan kaldırılmasıdır. Cerrahi tedavi olarak, hemihepatektomi veya sınırları genişletilmiş hemihepatektomi ya da tek segmentin sağlam olduğu durumlarda trisegmentektomi yöntemleri kullanılmaktadır (46). Ameliyat sırasında rezeksiyon sınırında kalmış mikroskopik kalıntı dokular için hastada kalan karaciğer kenarından frozın inceleme yapılarak sonuca göre gerekirse rezeksiyon hattının biraz daha ileri taşınması önerilmektedir.

Karaciğer transplantasyon tekniğindeki ilerlemelerle birlikte, hepatoblastom olgularında “rezekte edilemez” deyimini aslında tarih olmaya başlamıştır. Karaciğer nakli; çoklu odaklı veya tek odaklı PRETEXT IV hastalık ve ana damarlara yakınlık nedeni ile tam eksizyon uygunluğu tartışmalı PRETEXT III hastalık varlığında önerilmektedir. Ayrıca vena kava ve/veya tüm hepatik venlerde tümör varlığı, ana portal ven veya sağ-sol ana dallarında tümör varlığı da karaciğer nakli endikasyonları arasındadır (47).

Diğer nakil endikasyonları ise başlangıçta PRETEXT I ile IV arasında evrelendirilmiş herhangi bir tümörün, kısmi hepatektomiden sonra tekrarlaması ya da tümörün tam olarak çıkarılamadığı durumdur (kurtarma nakil) (48). Tanı anında uzak organ metastazı varlığı karaciğer nakli açısından kontrendikasyon değildir ancak bu odakların nakil öncesi kemoterapi veya cerrahi rezeksiyon ile tedavi edilmesi gerekmektedir. Karaciğer nakli için tek kontrendikasyon, uzak organ metastazının kemoterapi yada cerrahi ile tedavi edilememesi durumudur.

2.2.10. Prognoz

2.2.10.1 Genetik Prognostik Faktörler

Hepatoblastom ile ilişkili birçok prognostik belirteç ve genetik sendromlar tanımlanmıştır. HB ile ilintili olduğu bildirilen genetik sendromlar arasında Trizomi 18, BWS ve AAP bildirilmektedir. Bunlar arasında yer alan BWS' da embriyonel tümörlerin gelişme riski yüksek olup HB ve Willm's tümörleri %7,5-13,5 oranında görülür.

HB olgularında en sık görülen genetik bozukluklar %70-90 oranında *Wnt* sinyal yolağındaki genlerde gözlenir (49, 50). Son yıllarda telomeraz aktivasyonu ve genetik ekspresyon profilleri prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır (51). Telomeraz, *TERT* (insan telomeraz revers transkriptaz) ekspresyonu tarafından regüle edilir ve *TERT* ekspresyonu *Wnt* sinyal aktivasyonunda major rol oynamaktadır (52). Aynı zamanda *MYC* geninin de *TERT* ekspresyonunu arttırdığı üzerinde durulmaktadır. Sonuç olarak, *TERT* ve *MYC* sinyalizasyonunun artmasının özellikle agresif fenotiplerde önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

2.2.10.2 Klinik Prognostik Faktörler

Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörleri Strateji Grubu (SIOPEL), Alman Pediatrik Onkoloji Topluluğu (GPOG), Çocuk Onkoloji Grubu (COG) ve Japon Pediatrik Karaciğer Tümörleri Çalışma Grubu (JPLT) çeşitli risk sınıflandırmaları yapmış olsalar da, bugün için artan oranda

PRETEXT gruplamasını kullanmaya başlamışlardır. SIOPEL' e göre tanı anında düşük PRETEXT (PRETEXT I, II ve III), COG'a göre tanı anında rezekte edilen tümörün Evre 1 ve saf fetal histolojide olması iyi prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır (22, 53). Diğer taraftan PRETEXT IV, metastatik hastalık, <100 AFP değeri ve andiferansiye küçük hücreli tümörler kötü prognostik faktörler olarak tanımlanmaktadır (43). Tanı öncesi tümör rüptürü, multifokal tümör, makrovasküler tümör invazyonu, ekstrahepatik tümör yayılımı, tanı yaşı, çok yüksek (>1.2 milyon) veya sınırda düşük (100-1000) AFP değerleri kötü prognostik faktörler olarak düşünülmeyle birlikte, anlamlı olup olmadıklarını tanımlamak olgu sayılarının az olması nedeni ile güçtür (54). Bu nedenle tüm bu çalışma gruplarının verilerini değerlendirmek amaçlı Uluslararası Çocukluk Çağı Hepatik Tümör İşbirliği (CHIC) oluşturulmuş ve anlamlı prognostik faktörler belirlenmeye çalışılmıştır (55) (Tablo 4).

Tablo 4. Hepatoblastomda Potansiyel Prognostik Faktörler

Tedavi Öncesi	Tedaviye Yanıt
PRETEXT (I ^a , II ^a , III, IV ^d)	Kemoterapiye yanıtı
Tanı anında metastaz ^b	Pozitif cerrahi sınır
Rezeke edilemeyen damar tutulumu (+V, +P) ^b	Cerrahi çıkarılabilirlik
Ekstrahepatik tümör uzanımı (+E) ^b	Tümör relapsı
Lenf nodları	
Multifokal tümör ^b	
Tanıda tümör rüptürü ^b	
AFP düzeyi (<100 ^b ; 100-1000 ^b ; >1 milyon)	
Patolojik alt tip (saf fetal ^c , küçük hücreli andiferansiye ^d)	
Yaş (<1 yaş ^a ; >6 yaş ^b)	
Doğum ağırlığı	
Trombosit sayısı	
Komorbidite	

^a İyi prognostik faktör, ^b Kötü prognostik faktör, ^c İyi prognostik faktör,

^d Kötü prognostik faktör

2.3. MikroRNA

2.3.1. Tarihçe ve MikroRNA Kavramı

MikroRNA'lar (miRNA), küçük, endojen kodlama yapmayan RNA molekülleridir. Genellikle 21-24 nükleotid uzunluğunda olup ilk olarak bir nematod içinde tanımlanmıştır (56). Daha sonra çeşitli özellikte binlerce miRNA tanımlanmıştır. Bugüne kadar 700 adeti insanlardan izole edilen yaklaşık >13000 miRNA, miRBASE veri tabanında kayıtlıdır. MikroRNA'lar için hedef gen tahminin yapıldığı veri tabanlarında bazıları, TarBase, Target Scan, PicTar, DianaTools ve MiRanda'dır. MikroRNA ekspresyon paternleri en sık kullanılan veritabanları microRNA.org ve GEO'dur. Yeni nesil sekanslama verilerinin analizinde kullanılan veritabanları miRNAkey, ProMiR, miReduce, miRanalyzer ve miRDeep'dir. Keşfedilen miRNA sayısının hızla artması nedeni ile karışıklığa sebep olmamak için bir kodlama sistemi getirilmiştir; örneğin hsa-miR-92'de; hsa homo sapiens , miR mikroRNA ve sayı da keşfedilme sırasını ifade etmektedir (57).

Tüm protein kodlayan genler genomun yaklaşık %2'sini oluşturur. miRNA'lar genomun protein kodlamayan bölümünde yer alırlar ve hücre döngüsünün hemen hemen her bölümünde yer almaktadırlar. MikroRNA, gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde baz çifti ile gerçekleştirir. DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevirisi yapılamayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mesajcı RNA (mRNA)'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifadesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir (58).

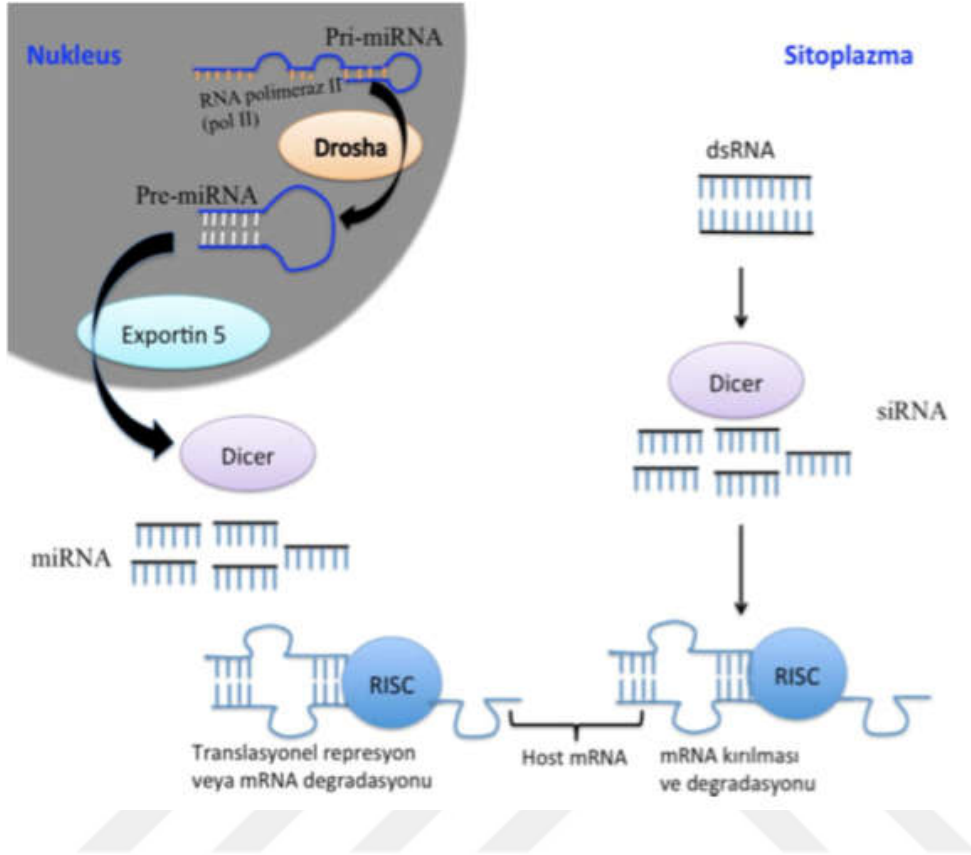
MikroRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgesi (untranslated region-UTR) ya da hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanır. 3'UTR bölgesine bağlanma kusurlu ve komplementerliği eksik ise translasyonun inhibisyonu, komplementerliği tam ve bağlanma kusursuz ise mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır (59). MikroRNA'ların herbiri birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebilir iken mRNA'ların her biri de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebilir (60).

MikroRNA'lar gen ekspresyonları çok çeşitli yollarla regüle ederler. Yukarıda bahsedilen transkripsiyonel baskılama veya direk mRNA yıkımı yanında DNA interaksyonu da mekanizmalarından biridir (61). Hemen hemen tüm biyolojik yollarda görev alırlar. Farklı miRNA grupları spesifik hücrelerde yer alırlar ve hücrenin kimliğini şekillendirirler (62, 63). Ek olarak miRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör genleri düzenleyerek hücre siklusu, apoptoz, hücre migrasyonu ve angiogenezisde rol alırlar. Tüm bunlar bir araya getirildiğinde miRNA'ların normal hücre fonksiyonlarını sağlamadaki önemi açıktır. MikroRNA ekspresyonundaki değişiklikler hücre gelişimi, farklılaşması ve büyümesinin kontrolünü etkileyerek kanser gibi birçok hastalığın gelişimi ile sonuçlanabilir.

2.3.2. MikroRNA Biyogenez

MikroRNA'ların oluşumu 3 basamaklı işlem sonrasında gerçekleşir. İlk olarak miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA) transkripsiyonu gerçekleşir (64, 65). Bu aşamada nükleusda bulunan RNA polimeraz II (RNA pol II) görev alır. Pri-miRNA (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahiptir ve sap-ilmik yapısındadır. Çekirdekte pri-miRNA, RNAz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan DROSHA ve kofaktörü PASHA (veya DGCR8) tarafından yaklaşık 70 nukleotid uzunluğunda olan pre-miRNA'ya dönüştürülür (66). Bu aşamaya kadar olan süreçler çekirdekte gerçekleşir. Bundan sonra pre-miRNA eksportin 5 proteini ve nükleer bir protein olan Ran-GTP aracılığı ile nükleus porlarından geçer ve stoplazmaya ulaşır. Burada pre-miRNA'lar, RNAz enzim ailesinden DICER kesici enzimi ve TRGB bağlanma protein aracılığı ile ilmik şekli bozularak tek zincirli hale gelir ve olgun miRNA'ya dönüşüp fonksiyonel hale geçer (67). DICER aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RISC) oluşumunu başlatır.

Tek zincirli hale gelmiş miRNA'lar, RNA ile indüklenen susturma kompleksine (RISC) katılırlar. Bundan sonraki aşamada hedef gen mRNA'sına tutunup, mRNA'yı sustururlar veya baskırlar. RISC'e bağlı miRNA'lar, birçok geni (mRNA) susturabilir yada her mRNA'ya çok sayıda farklı miRNA bağlanabilir (68-70) (Şekil 4).



Şekil 4. miRNA sentezinde yer alan enzim ve yolaklar

2.3.3. MikroRNA ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. MikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller olduğu bugün artık açık bir şekilde bilinmektedir. Kanser ve miRNA arasındaki ilişki ilk kez Calin ve arkadaşları tarafından kronik lenfoblastik lösemi hastalarında gösterilmiştir (71). Daha sonraki yıllarda miRNA'ların tümör oluşumundaki rolleri birçok kanser grubunda çalışılmıştır. MikroRNA'ların birçoğunun tümör baskılayıcı özellikleri olduğu ve daha az farklılaşmış tümörlerde down-regüle oldukları gösterilmiştir (72). Ancak bazı miRNA'lar ise tümörde up-regüle olarak gösterilmiş ve onkogenik özellikleri nedeni ile onkomir olarak adlandırılmışlardır (73). Bu grup içinde let-7 ailesi en

erken tanımlanan etkili miRNA'lardır. Let-7 ailesi iyi araştırılmış, *RAS* onkogeninin ekspresyonunu regüle ettiği gösterilmiştir. *RAS* onkogeninin mutasyonları insan tümörlerinin %25-30'unda bildirilmiştir. Invitro çalışmalarda, let-7 miRNA'ların *RAS* üzerinden hücre proliferasyonunu inhibe ettiği dolayısı ile tümör süpresör olarak görev yapabileceği gösterilmiştir (74). Bu çalışma sonucunda, let-7 miRNA grubunun *RAS* proteininin ekspresyonunu regüle ettiği ve MAPK sinyal yollağı üzerinden hücre proliferasyonunu etkilediği noktasına varılmıştır.

Daha sonra yapılan birçok çalışma ile let-7, miR-34 ve miR-15 ailesinin tümör süpresör ve miR-21 ile miR-17-92 ailesinin ise onkomir olarak görev gördükleri gösterilmiştir (75). Varsayılan miRNA hedefleri, BCL2, MYC, p53 ve PTEN gibi kanser yolaklarında yer alan moleküllerin, miRNA tarafından regüle edildiğini yada miRNA'yı regüle ettiğini göstermiştir (76).

MikroRNA genlerinin mutasyonu ve delesyonu yanında, anormal metilasyonun epigenetik inaktivasyonu takip eden transkripsiyonel süpresyona sebep olduğu düşünülmektedir. Primer meme kanseri tanısı alan olgularda yapılan bir çalışmada, mir-9-1, mir-124a, mir-148, mir-152 ve mir-663 hipermetilasyonu olguların %86'sında gösterilmiş (77). Global veya lokal anormal miRNA genlerindeki metilasyonlar, miRNA profilinde değişiklik sonrasında genetik regülasyonun kaybı dolayısı ile kanser gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Bu epigenetik değişiklik yanında metilasyonun miRNA ekspresyonunu da etkilediği düşünülmektedir. Örneğin gastrik kanserlerde, DNA ve histon metilasyonu ile Let-7 ailesinin down-regüle olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde miR-34a'nın komşu CpG hipermetilasyonu da birçok kanserde belirlenmiştir (78).

2.3.4. MikroRNA ve Hepatoblastom

Hepatoblastom, çocukluk çağının nadir tümörleri olması nedeni ile çalışmalarda daha çok formalin fikse parafin gömülü (FFPE) örnekler kullanılmaktadır. Ancak degradasyon nedeni ile total RNA çıkarılmasının önünde engel oluşturmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar

miRNA ekspresyonunun göreceli daha stabil olduğunu ve parafin bloklarda iyi korunabildiğini göstermiştir (79, 80). Çalışmalar, farklı insan dokusuna özgü miRNA profillerini tanımlamıştır (81). MikroRNA-122, karaciğere özgül olarak belirlenmişken, miR-1, miR-16, miR-143 ve let-7 ailesi de erişkin karaciğerinde fazlaca bulunmaktadır (82). Ancak ilginç olarak fetal karaciğerde erişkinden farklı olarak miR-21, miR-199a, ve miR-92a daha fazladır (83). Bu da karaciğerin embriyolojik gelişimi sırasında miRNA'ların rolü olduğunu düşündürmektedir.

Önceki çalışmalarda, metastatik HB için biyobelirteç olan miR-492 gibi, HB ile ilintili az sayıda prognostik miRNA tanımlanmıştı (84). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada ise, histolojik alt tiplerin prognoz ve sağkalım ile korele olmadığını ancak bazı miRNA'ların toplam sağkalımı belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir (85). Yüksek miR-21 ile düşük miR-222 ile miR-224 artmış sağkalım ile ilgili bulunmuştur. Tümörü çevreleyen karaciğer dokusu ile karşılaştırıldığında hem fetal hem de embriyonel alt tiplerde benzersiz ekspresyon düzeyleri gösteren miRNA'lar vardır. Fetal alt tiplerde miR-17-5p, miR-195, miR-210 ve miR-214 düşük ekspresyon gösterirken, miR-221 yüksek ekspresyon göstermektedir. Embriyonel alt tipde ise miR-122-5p düşük ekspresyon göstermektedir (86). MiR-122-5p, hepatosit farklılaşma belirteci olarak düşünülmektedir. Embriyonel alt tipde düşük ekspresyon göstermesi, erken embriyonel gelişimde düşük düzeyde farklılaşma anlamına gelmektedir.

Otuzüç farklı çocukluk çağı tümörlerinin incelendiği bir çalışmada, 4 HB olgusunun serum ve tümör miRNA profilleri çalışılmıştır (87). Bu çalışmada miR-483-3p, miR-205-5p ve miR-122-5p yüksek oranda eksprese olarak bulunmuştur. Dikkati çeken durum, daha önceki çalışmada belirlenen düşük miR-122-5p ekspresyonunun bu çalışmada yüksek bulunmasıdır. Ancak yüksek serum miR-122-5p seviyelerine rağmen karaciğer dokusundaki ekspresyonu düşük bulunmuştur. Bunun da diğer tümörlerde olduğu gibi tümör hücresinden seruma drenaj ile ilintili olduğu ve karaciğer hasarlanmasının non-spesifik bir göstergesi olduğu sonucuna varılmıştır.

2.3.5. MikroRNA Belirleme Yöntemleri

MikroRNA'lar Real time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR), Northern Blot, Mikroarray, İn situ hibridizasyon ve yeni nesil sekanslama yöntemleri kullanarak belirlenebilir. MikroRNA'ların saptanmasında iki önemli teknik zorluktan birincisi ve en önemlisi; boyutlarının küçük olması ve ikincisi de guanin-sitozin içeriğinin değişken olmasıdır. Total RNA izolasyonu veya doğrudan miRNA izolasyonu ile mikroRNA'lar elde edilebilir. Kullanılacak kitler, çalışılacak materyalin özelliğine göre değişmektedir. Diğer bir deyişle hücre, sıvı veya dokuya (taze veya parafine gömülü doku) göre farklı izolasyon kitleri bulunmaktadır. Yukarıda adı geçen yöntemlerden Northern Blot, insitu hibridizasyon ve RT-PCR daha çok spesifik miRNA'ların ekspresyonu belirlemek amacıyla kullanılır. Mikroarray'ler daha çok sayıda miRNA'yı içeren geniş sayıdaki çalışmalar için kullanılır. Güncel miRNA problemlerini kapsayan çiplerle miRNA profilleri belirlenebilmektedir. Diğer yöntemlere göre en az nicel olan bu yöntem olmakla birlikte yüzlerce hedefi ucuz olarak belirleyebilmesi en önemli avantajıdır. Yeni nesil sekanslama yöntemi ise yüksek verimliliğe sahip bir yöntem olmakla birlikte oldukça pahalıdır. En önemli özelliği sadece veri bankalarında olan miRNA'ları değil aynı zamanda yeni miRNA'ları da belirleyebilme özelliğine sahiptir. Tüm bunlara rağmen RT-PCR yöntemi kadar duyarlı bulunmamaktadır.

Günümüzde en sık tercih edilen miRNA belirleme yöntemleri mikroarray ve RT-PCR'dır. RT-PCR, miRNA validasyonu ve miktar tayini için en popüler yöntemlerden biridir. Bu yöntemle, birçok hücre, doku ve sıvıda spesifik miRNA'ları saptanabilmektedir. RT-PCR ucuzdur ve küçük çaplı çalışmalar için veya mikroarray ekspresyon analizlerinden sonra valide etmek amaçlı kullanılmaktadır. Teknik, örneklerden miRNA izolasyonu ve ardından cDNA'ya çevrilmesi ile başlar. miRNA'lardan cDNA'ya çevirim zorlukları içerir. Bu aşamada amplifikasyon zor olduğundan çözüm molekülü uzatmakla sağlanmıştır. Bu moleküllere Poli A (AAA) kuyruğu veya kök-lup yapısı eklenmektedir. Böylelikle cDNA'ya çevirim ve RT-PCR ile çoğaltma işlemi gerçekleştirilmektedir. Amplifiye edilmiş molekülü belirlemek için Taqman®

probları veya SYBR[®] Green probları kullanılmaktadır. RT-PCR cihazı ile tüm örneklerin ışıma miktarına ait amplifikasyon eğrileri çizilmektedir. Cihaz bir eşik değeri saptamakta ve siklusa ait bu eşik değere Ct (threshold of cycle) değeri denilmektedir. Bu değerlerin normalizasyonu için genellikle kontrol housekeeping gen miRNA kullanılmaktadır. MikroRNA ekspresyon çalışmalarında en sık kullanılan genler; SNORD 48 veya U6 housekeeping genleridir. Örnekler arası karşılaştırma yapıldığında, öncelikle kat değişimleri temel alınmakta ve bu amaçla karşılaştırmalı $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri kullanılmaktadır.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu araştırma, ilaç dışı girişimsel olmayan bir klinik araştırmadır. Araştırma kesitsel tiptedir.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu araştırma, 28.09.2013 tarihinde literatür taraması ile başlamış, 26 Temmuz 2017 tarihinde tez savunması ile sonlandırılmıştır. Çalışmanın materyal/örnek toplama bölümleri Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim-Araştırma Hastanesi'nde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen parafin bloklardan yapılacak moleküler incelemeler gerekli biyogüvenlik düzeylerine ve uygun donanımına sahip Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.3. Araştırmanın Örneklemi

Araştırmada çalışma örneklerini, Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı arşivinde bulunan HB olgularının parafin blokları oluşturmıştır. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda 2000-2013 tarihleri arasında arşivlenmiş toplam 22 HB olgusunun parafin bloklarının tümü ve arşivde kayıtlı dosya bilgileri çalışmaya dahil edilmiştir.

3.4. Araştırma Materyali

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'ndan alınmış parafine gömülmüş HB tümör dokuları ve çevreleyen normal karaciğer dokuları (arşiv materyali)

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Bağımsız Değişkenler; Hastaların yaşı, cinsiyeti, HB histopatolojik alt tipi, hastalığın evrelemesi, AFP düzeyi, sağkalım, metastaz varlığı, eşlik eden anomali varlığı

Bağımlı Değişkenler; MikroRNA ekspresyon düzeyleri

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Kullanılan Cihazlar

1. Roche Lightcycler 480 Real-time PCR cihazı
2. Roche Lightcycler Nano Real-time PCR cihazı (risk analizinde moleküler belirteç)
3. Nanodrop spektrofotometre (Thermo Scientific)

3.6.2. Veri (Dokuları) Toplama

Hasta parafin dokuları Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü arşivlerinden alınmıştır. Her bir bloktan Hematoksilen-eosin boyalı preparattan uygun tümör bölgesi mikroskopta seçildikten sonra blok üzerinden makrodiseksiyon yöntemi ile bistüri yardımı ile 2x2x3 mm boyutta parafinlenmiş doku çıkarılmıştır. Ayrıca hastalığın prognozu ile ilintisini kurabilmek amacı ile hastalara ait bilgiler hasta arşiv dosyalarından elde edilmiştir.

3.6.3 MikroRNA Analizi

3.6.3.1. Makrodiseksiyon

Her bir parafin bloktan hematoksilen eosin boyalı preparattan uygun tümör bölgesi mikroskopta seçildikten sonra blok üzerinden makrodiseksiyon yöntemi ile biopsi iğnesi ya da bistüri yardımı ile 2x2x3 mm boyutta parafinlenmiş doku çıkarılmıştır.

3.6.3.2. RNA İzolasyonu

MikroRNA protokolüne uygun olarak parafinize doku kesitlerinden RNA izolasyon kitleri (Quiagen) ile total RNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Nanodrop spektrofotometre (Thermo scientific) ile RNA kaliteleri ölçülmüştür. A260/A280 değeri 1.8 nm üstünde olanlar çalışmaya dahil edilmiştir.

3.6.3.3. Real Time PCR ile Analiz

Bu çalışmada 4 adet mikroRNA kullanılmıştır: miR-17, miR-19b, miR-146a ve miR-302d. Her örnek için 5ng/μl RNA stokları hazırlanmış ve cDNA'da bu stoklar kullanılmıştır. Universal cDNA sentez kiti (Exiqon) ile cDNA sentezi yapılmıştır.

Tek bir reaksiyon için	
RNA örneği (5ng/ul)	4 μl
Nükleaz Free Water	9 μl
5x Reaction Buffer	4 μl
Spike in RNA	1 μl
Enzim mix	2 μl
Toplam	20 μl

Tüpler thermal cycler'a yerleştirilmiş ve aşağıdaki hazırlanmış program çalıştırılmıştır;

42 ⁰ C'de	60 dk
95 ⁰ C'de	5 dk
4 ⁰ C'de	bekleme

Real-Time PCR

Elde edilen cDNA'lar öncelikle 80x dilue edilmiş (5ul cDNA +395 ul su) ve housekeeping gen ve cDNA kontrolü spike in primerleri ile kontrol edilmiştir. Bu çalışmada housekeeping gen olarak Snord48 kullanılmıştır. Snord48 primerlerini içeren miks aşağıdaki şekilde kullanılmış ve yine aşağıda belirtilen protokolle RT-PCR'da yürütülmüştür. cDNA'ların Snord48 ve spike in sonuçları ct değerleri açısından Ct15-29 arasında olanlar, aşağıda belirtilen miRNA'lar için microRNA LNATM primer setleri(exiqon) kullanılarak ve aşağıdaki miks ve cihaz protokolleri ile çalışılmıştır. Elde edilen örneklerin cDNA'sı için, Roche LightCycler 480II cihazı kullanılmıştır.

MikroRNA primerlerinin hazırlanışı

miRNA primerleri için liyofilize primer tüplerine 220 µl nükleaz free water eklenerek 20 dakika oda ısında bekletilmiştir. Daha sonra vorteks ve spin edilmiş ve kullanıma hazır hale gelmiştir (Bu primerler 10 µl reaksiyon hacminde ve 200 reaksiyonluktur).

Miks hazırlanışı:

Tek reaksiyon için	
cDNA	4 µ
Primer miks	1 ul
Enzim ve dNTP miki (PCR Master mix)	5 µl
Toplam	10 µl

Reaksiyon tüpünde, tek bir reaksiyon için reaktiflerin her birinden eklenerek reaksiyon sayısı kadar konulmuş ve reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Karışım spin ettirilip plate'lere her bir reaksiyon için 6 µl reaksiyon karışımından transfer edilmiştir. 4 µl cDNA örnek, her bir kapillere son reaksiyon hacmi 10 ul olacak şekilde ilave edilmiştir. Karışım ilave edildikten sonra hazırlanan plateler 2000 rpm' de 15 saniye santrifüje edilmiştir.

Sonuçların Analizi

Elde edilen sonuçlarla relatif kantitasyon yapılabilmek için Δ/Δ Ct metodu kullanılmıştır. Bu metod sayesinde miRNA ct değerleri, Snord48 house keeping geni ile normalize edilmiştir (Bu değer Δ Ct olarak geçer). Eşik değeri geçen siklusa ait kat değişimleri için de karşılaştırmalı $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılmıştır.

3.6.3.4. Klinik Veriler ile miRNA Karşılaştırması

Tüm miRNA'lar ile aşağıda belirtilen veriler arasında karşılaştırmalar yapılmıştır;

- Hastaların cinsiyeti,
- Yaşı,
- Cinsiyeti,
- Histopatolojik alt tip,
- Metastatik hastalık varlığı,
- Alfa-fetoprotein düzeyi,
- PRETEXT evreleme,
- Sağkalım.

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi



3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde, veri kategorikse, sayı ve yüzde ile ölçümle elde edilmiş veriler normal dağılıyorsa ortalama sapma ile, normal dağılmıyorsa median (minimum-maksimum) değer ile ifade edildi.

Analitik değerlendirmede; mikroRNA ekspresyonlarının eşleştirilmiş örneklerde non-parametrik koşulda karşılaştırılması için Wilcoxon test ve histopatolojik alt tiplerde bağımsız örneklerde dağılımların karşılaştırılmasında non-parametrik koşulda Mann Whitney U testi kullanıldı. Hastaların miRNA ekspresyon sonuçlarının, demografik veriler ve klinik verilerle korelasyonu için Spearmann korelasyon testi uygulandı. MikroRNA ekspresyonlarının HB ve çevreleyen normal karaciğer dokusunu ayırt edici tanılayıcı ve prognostik değerini belirlemek için ROC analizi kullanıldı. MikroRNA ekspresyonlarının hepatoblastom olgularının olaysız ve genel sağkalımları Kaplan Meier sağkalım grafikleri çizilerek log-rank testi ile analiz edildi. Sonuçların istatistiksel analizi için SPSS 19.0 (IBM, Chicago, IL, USA) programı kullanılmıştır. Tüm analizlerin değerlendirilmesinde $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık düzeyleri olarak belirlendi.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu araştırmanın sınırlılıkları arasında öncelikle hasta ve sağlıklı doku örneklerinden yapılan inceleme sayılarının tutarsız olması ve sağlam doku örnek azlığıdır. Sağkalım tahminleri için çok sınırlı sonlanmış gözlemin olması bir diğer örnek yetersizlik sorununu oluşturmuştur. Araştırmanın bir diğer sınırlılığı da çalışılan miRNA'ların hasta kanlarında çalışılmamış olmasıdır. Hasta kanlarında çalışılmış olması, doku düzeyi karşılaştırma olanağı sunarak analizleri daha anlamlı kılacaktır.

3.10. Etik Kurul Onayı

Çalışma İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 28.11.2013 tarih ve 1339918 numarası ile etik kurul onayı almıştır.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı Bulgular

Bu çalışmada, 22 HB olgusunun mikroRNA incelemeleri ile birlikte, arşiv dosyalarından klinik verileri incelendi. Üç olgunun verilerine Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Onkoloji Anabilim Dalı arşiv kayıtlarında ulaşılamadı. Bunun üzerine Türk Pediatrik Onkoloji ve Türk Pediatrik Hematoloji Derneği tarafından oluşturulan Çocukluk Yaş Grubu Kanseri Veri Tabanı araştırıldı ancak bu veri tabanından da hasta bilgileri elde edilemedi. Hastaların dosya kayıtlarından tanı anındaki yaşları, AFP düzeyleri, tümör evresi (PRETEXT), eşlik eden anomali ile aile öyküsü varlığı, metastaz varlığı, genel ve olaysız sağkalım ve histopatolojik bulgular belirlenip olgu rapor formuna not edildi.

Hastaların tanı yaşı ortalama 38,14 ay (3-204 ay), %45,4'u (n=10) kız, %54,6'u (n=12) erkek idi. PRETEXT evreleme sistemine göre tanı anında 2 olgu (%9,1) Evre 1, 3 olgu (%13,6) Evre 2, 12 olgu (%54,5) Evre 3 ve 5 olgu (%22,7) Evre 4 olarak belirlendi. Olguların üçünde karaciğer dışı organ metastazı mevcuttu. Metastazların tümü akciğere idi. Yirmiiki olgudan 3'ünün klinik gidişleri ile ilgili verilerine ulaşılamadı. Kalın 19 olgudan ölüm, 3 olguda (%13,6) ve nüks 2 olguda (%10,5) gözlemlendi. Prognostik faktörlerden biri olarak bilinen AFP düzeyi ortalama $29269,5 \pm 41414,01$ ng/ml (145-148206 ng/ml) idi. Olguların hiçbirinde aile öyküsüne rastlanmadı. Bir olguda eşlik eden VATER anomalisi mevcuttu. Hastaların demografik özellikleri Tablo 5' de özetlendi.

Tablo 5. Hepatoblastom olgularının demografik özellikleri

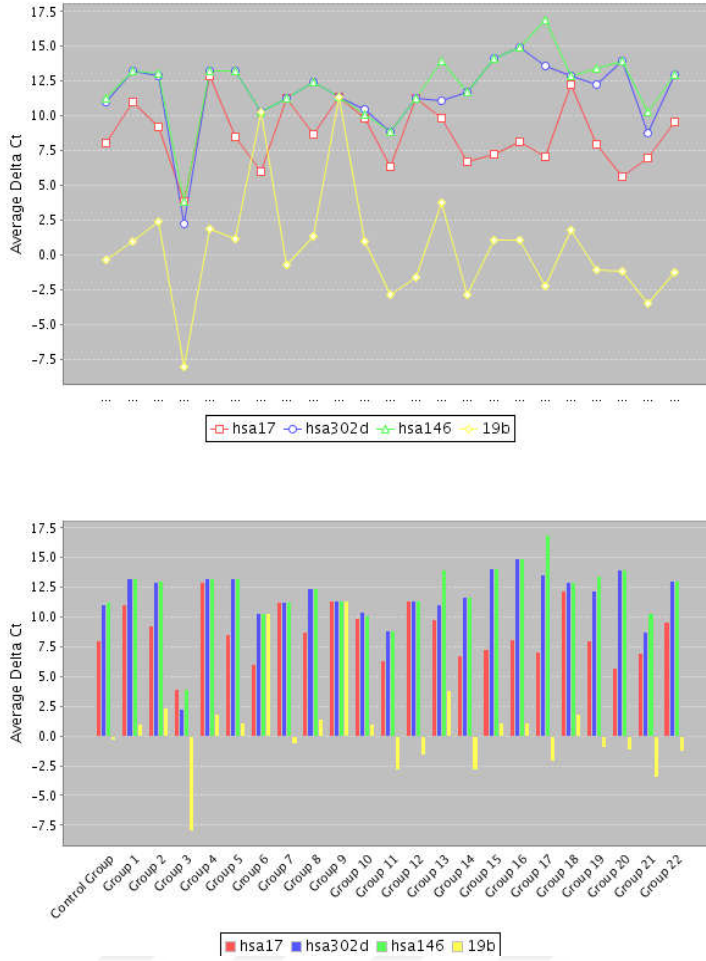
Hasta No	Yaş (ay)	Cinsiyet	Metastaz Varlığı	PRETEXT Evre	AFP (ng/ml)	Ölüm
1	10	E	–	3	35350,00	–
2	3	K	–	4	86890,00	–
3	9	E	–	3	10000,00	–
4	4	E	?	2	1210,00	–
5	24	K	–	4	6050,00	–
6	8	E	+	2	3300,00	–
7	18	K	?	3	350,00	–
8	18	E	?	3	6500,00	?
9	12	K	–	3	880,00	?
10	108	K	–	2	1120,00	?
11	12	K	–	4	6050,00	–
12	9	E	–	3	69545,00	+
13	12	E	–	3	105548,00	+
14	6	K	+	3	148206,00	–
15	11	K	–	4	60500,00	–
16	113	E	+	3	145,00	–
17	84	E	–	3	18717,00	–
18	204	E	–	4	13639,00	+
19	113	E	–	1	5289,00	–
20	3	K	–	3	60500,00	–
21	52	E	–	1	1720,00	–
22	6	K	–	3	2420,00	–

(K: Kadın, E: Erkek, ?: Bilinmiyor)

Toplam 22 HB dokusu ve 10 çevreleyen normal karaciğer dokusundan alınan örneklerde miR-17, miR-19b, miR-146a ve miR-302d ekspresyon düzeyleri belirlendi. HB dokusu ve çevreleyen normal karaciğer dokusunda ölçülen miRNA ekspresyonlarının ölçüm değerleri Tablo 6' da verildi (Şekil 4).

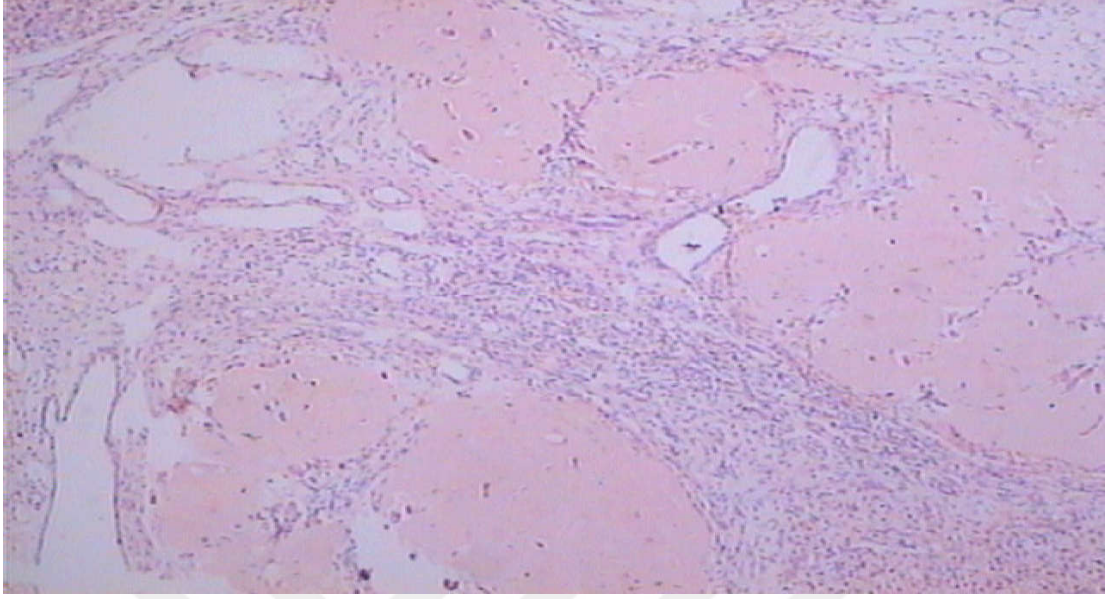
Tablo 6. Hepatoblastom ve çevreleyen normal karaciğer dokusunda mikroRNA ekspresyonlarının ölçüm değerleri

Hasta No	Hepatoblastom				Çevreleyen Normal Karaciğer			
	miR-17	miR-19a	miR-146a	miR-302d	miR-17	miR-19a	miR-146a	miR-302d
1	0,000485	0,511960	0,000104	0,000104	0,002264	1,881852	0,000190	0,000261
2	0,001625	0,190893	0,000119	0,000129	0,035248	0,813065	0,000489	0,000489
3	0,000684	2,636364	0,000684	0,002168	0,007156	10,081959	0,003099	0,003099
4	0,000130	0,269268	0,000105	0,000105	0,000380	2,256922	0,000380	0,000380
5	0,002703	0,448752	0,000105	0,000105	0,006946	0,346460	0,000373	0,002918
6	0,015558	0,000810	0,000810	0,000810	0,014806	1,618628	0,000454	0,000454
7	0,000405	1,607215	0,000405	0,000405	0,008409	0,536336	0,000306	0,000306
8	0,002380	0,384230	0,000180	0,000180	0,001460	0,849793	0,000274	0,000274
9	0,000390	0,000390	0,000390	0,000390				
10	0,001057	0,496544	0,000906	0,000717				
11	0,011968	7,097925	0,002128	0,002128				
12	0,000391	2,940222	0,000391	0,000391	0,002297	1,039936	0,000224	0,000224
13	0,001116	0,071012	0,000062	0,000458				
14	0,009300	7,089437	0,000301	0,000301				
15	0,006445	0,477332	0,000056	0,000056	0,002586	1,269852	0,000075	0,000075
16	0,003550	0,464279	0,000031	0,000031				
17	0,007450	4,505929	0,000008	0,000081				
18	0,000210	0,280699	0,000132	0,000132				
19	0,003886	2,023775	0,000089	0,000208				
20	0,019379	2,254105	0,000062	0,000062				
21	0,007912	10,95572	0,000806	0,002340				
22	0,001269	2,360804	0,000121	0,000121				

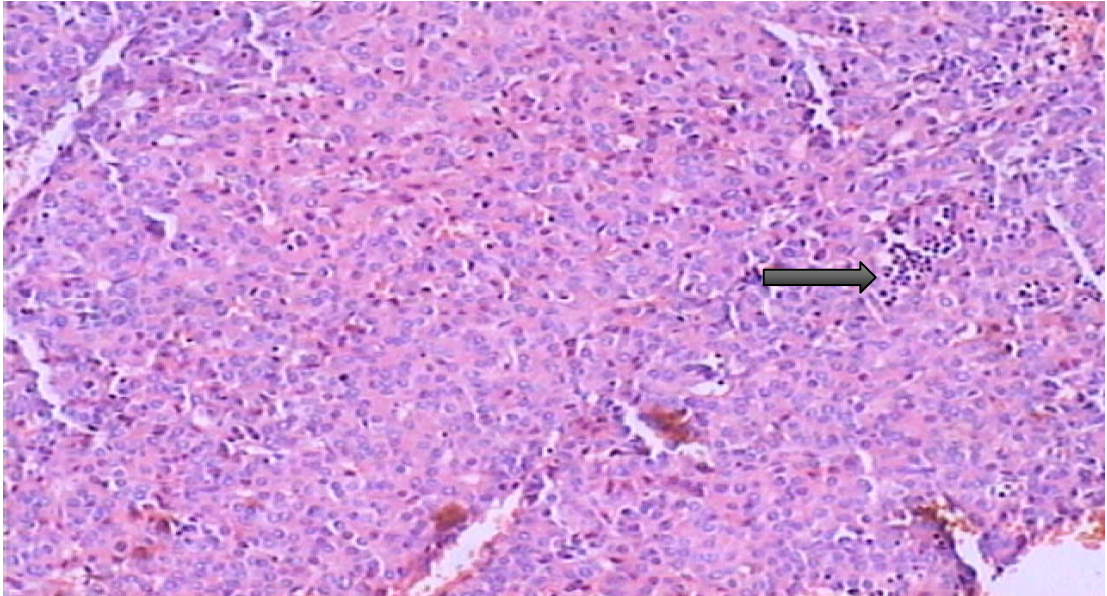


Şekil 5. Hepatoblastom dokusunda belirlenen miR-17, mir-19b, mir-146a ve mir-302d ekspresyonlarının grafiği

Hepatoblastom olguları histopatolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde olguların 16'sı (%72,7) fetal tip ve 6'sı (%27,3) embriyonel tip olarak sınıflandırıldı. Fetal tip, hücreler yuvarlak-oval bazofilik çekirdek ve eozinofilik stoplazmalı küçük, üniform fetal hepatositlerden oluşmakta idi. Bunun zıttı olarak embriyonel tipte ise daha az farklılaşmış, büyük çekirdek ve dar stoplazmalı hücreler çoğunlukta idi (Şekil 6, 7).



Şekil 6. Mikst epitelyal ve mezenkimal patern gösteren osteoid komponentin eşlik ettiği f tal tipte hepatoblastoma (H&E X20)



Şekil 7. F tal tipte hepatoblastoma ve ekstramedüller hematopoez (ok) (H&E X40)

4.2. Analitik Bulgular

4.2.1. Hepatoblastom ve normal doku örneklerinin karşılaştırmaları

Toplam 22 HB dokusu içinde çevreleyen normal karaciğer dokusuna sahip 10 HB dokusu ile 10 çevreleyen normal karaciğer dokusundaki miR-17, miR-19b, miR-146a ve miR-302d ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı. Hepatoblastom dokusunda çalışılan miR-17 median değeri 0,0020025 (0,000130-0,019379), miR-19b median değeri 0,5042520 (0,000390-10,955720), miR-146a median değeri 0,0001265 (0,000008-0,002128) ve miR-302d median değeri 0,0001940 (0,000031-0,002340) olarak saptandı. Tümör çevreleyen normal karaciğer dokusunda çalışılan miR-17 median değeri 0,004766 (0,00038-0,035248), miR-19b median değeri 1,154894 (0,346460-10,081959), miR-146a median değeri 0,0003395 (0,000075-0,003099) ve miR-302d median değeri 0,000343 (0,000075-0,003099) olarak saptandı. Her iki grup karşılaştırıldığında, miR-17 ekspresyonları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,028$) (Tablo 7). MiR-17 ekspresyonu, HB dokusunda çevreleyen normal karaciğer dokusuna oranla düşük düzeyde eksprese olarak saptandı. Ölçülen diğer miRNA'ların ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 7. Hepatoblastom ve çevreleyen normal karaciğer dokusunun mikroRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması

MikroRNA	Hepatoblastom Median (minimum-maksimum)	Çevreleyen Normal Karaciğer Median (minimum-maksimum)	P^*
miR-17	0,0020025 (0,000130-0,019379)	0,0047660 (0,00038-0,035248),	0,028
miR-19b	0,5042520 (0,000390-10,955720)	1,1548940 (0,346460-10,081959)	0,169
miR-146a	0,0001265 (0,000008-0,002128)	0,0003395 (0,000075-0,003099)	0,285
miR-302d	0,0001940 (0,000031-0,002340)	0,0003430 (0,000075-0,003099)	0,203

* Wilcoxon test: Eşleştirilmiş örneklerin non-parametrik koşulda karşılaştırılması

Hepatoblastom dokularında ölçülen miRNA ekspresyonları ile klinik ve laboratuvar bulguları arasında korelasyon olup olmadığı irdelendiğinde; AFP düzeyi, yaş, cinsiyet, metastaz varlığı ve PRETEXT evrelemesi ile istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

Hepatoblastom olguları histopatolojik alt tiplere göre miRNA ekspresyonları incelendiğinde; fetal tipte miR-17 ekspresyonun median değeri 0,0013705 (0,000130-0,015558), miR-19b median değeri 0,4565155 (0,000390-10-955720), miR-146a median değeri 0,0001255 (0,000008-0,000906) ve miR-302d median değeri 0,0001560 (0,000031-0,002340) olarak belirlendi. Embriyonel tipte ise miR-17 ekspresyonun median değeri 0,006593 (0,000391-0,019379), miR-19b median değeri 2,650513 (2,023775-7,097925), miR-146a median değeri 0,000211 (0,000062-0,002128) ve miR-302d median değeri 0,0002545 (0,000062-0,002128) olarak belirlendi. Fetal tip HB'da miR-19b ekspresyonu anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,008$) (Tablo 8).

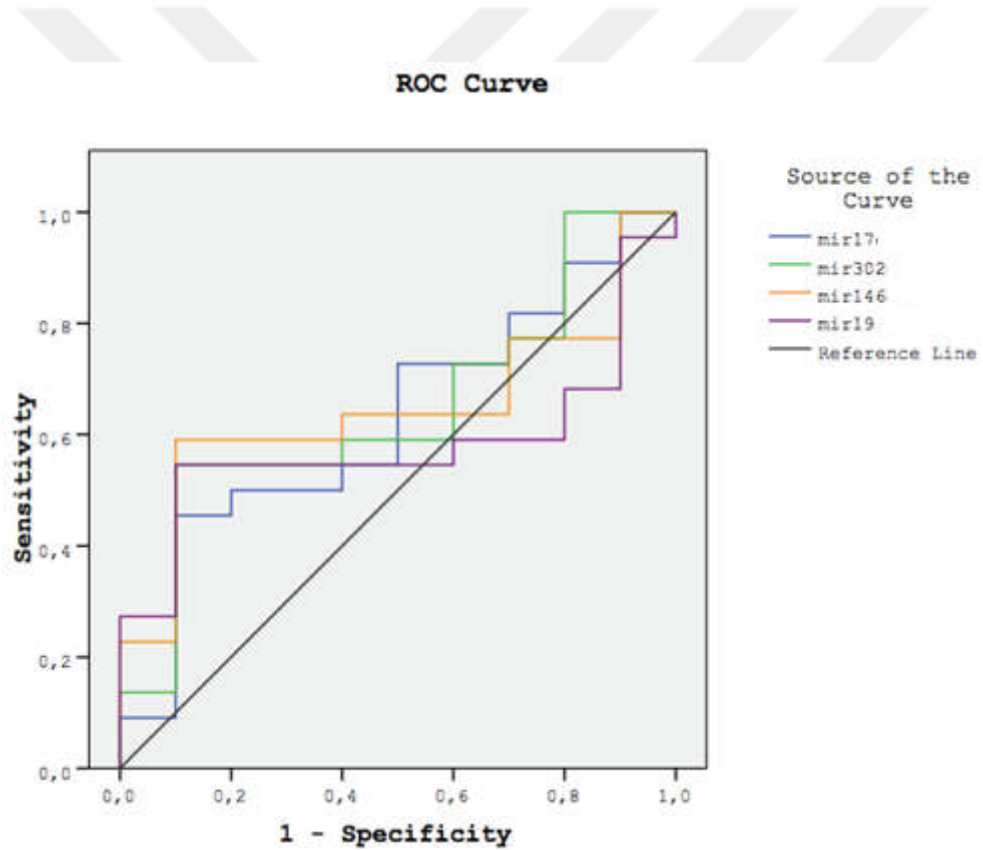
Tablo 8.Hepatoblastom histopatolojik alt tiplerin mikroRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması

MikroRNA	Fetal Tip (n=16) Median (minimum-maksimum)	Embriyonel Tip (n=6) Median (minimum-maksimum)	P*
miR-17	0,00137050 (0,000130-0,015558)	0,00659300 (0,000391-0,019379)	0,134
miR-19b	0,45651550 (0,000390-10-955720)	2,65051300 (2,023775-7,097925)	0,008
miR-146a	0,00012550 (0,000008-0,000906)	0,00021100 (0,000062-0,002128)	0,747
miR-302d	0,00015600 (0,000031-0,002340)	0,00025450 (0,000062-0,002128)	0,914

* Mann Whitney U test: Bağımsız örneklerin non-parametrik koşulda karşılaştırılması

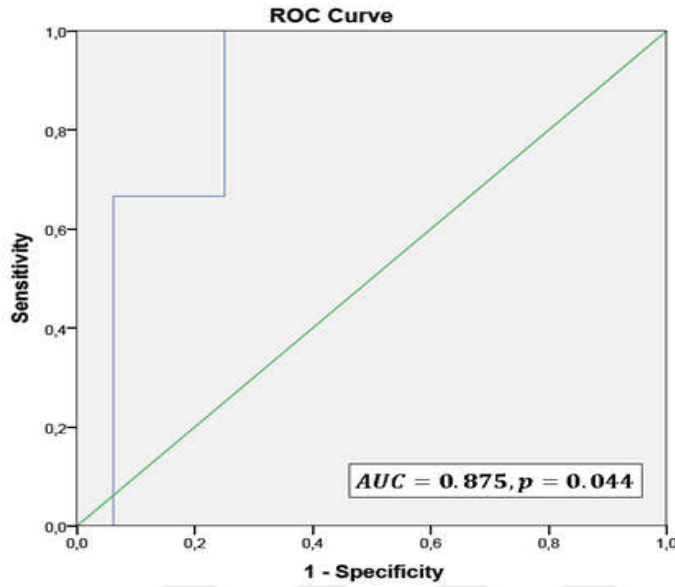
4.2.2. MikroRNA ekspresyonlarının tanılayıcı ve prognostik değerleri

MikroRNA ekspresyonlarının HB ve çevreleyen normal karaciğer dokusunu ayırt edici tanılayıcı değeri ROC analizi ile değerlendirildi. ROC analizinde eğri altında kalan alanlar (AUC) miR-17 için 0,627, miR-19b için 0,582, miR-146a için 0,645 ve miR-302d için 0,645 olarak hesaplandı. Eğri altında kalan alanların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0,05$). ROC analizinde miRNA ekspresyonları, HB ve çevreleyen normal karaciğer dokusunu ayırt edici bulunmadı. HB ve çevreleyen normal karaciğer dokusu için dört mikroRNA ROC eğrileri aşağıda sunuldu (Şekil 8).



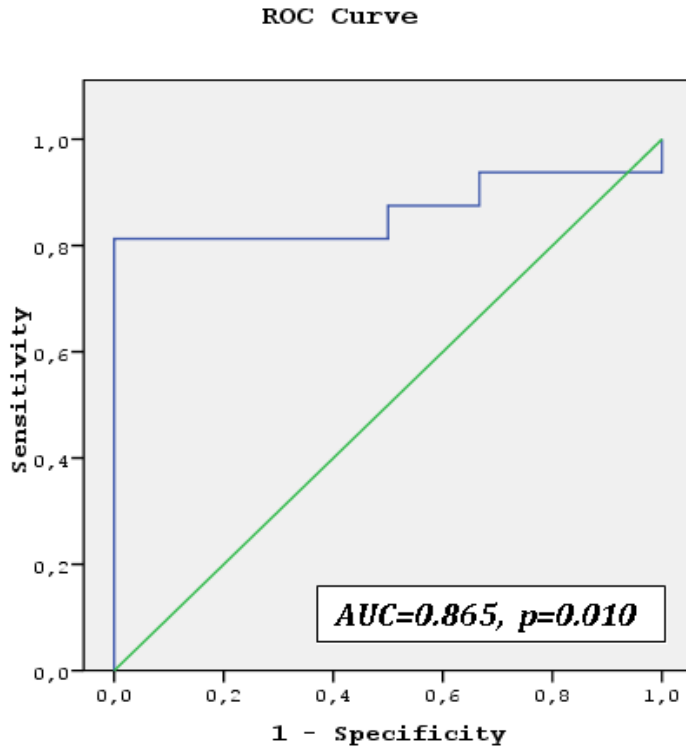
Şekil 8. MiR-17, miR-302d, miR-19b ve miR146a ekspresyonlarının, hepatoblastom ve çevreleyen normal karaciğer doku ayırıcı tanısı için ROC eğrileri

MikroRNA ekspresyonlarının, HB ile ilgili sonlanımı (ölüm) tahminleyici prognostik değere sahip olup olmadıkları ROC analizi ile değerlendirildiğinde, dört mikroRNA ekspresyonundan yalnızca miR-17'nin prognozu istatistik anlamlı düzeyde tahminlediği saptandı ($AUC=0.875$, $p=0.044$). Bu ROC analizine göre, miRNA ekspresyonu azaldıkça prognozun kötüleştiği belirlendi. Prognozla ilgili bu ROC eğrisi aşağıda gösterildi (Şekil 9).



Şekil 9. MiR-17 ekspresyonunun prognozu tahminleyici ROC eğrisi

Ayrıcı tanıda alt tiplere göre ROC analizi sonucunda, ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark saptanan miR-19' un fetal ve embriyonel tipi ayırt edici olduğu saptandı. ROC eğrisi aşağıda sunuldu ($AUC= 0.865$, $p=0.010$) (Şekil 10).

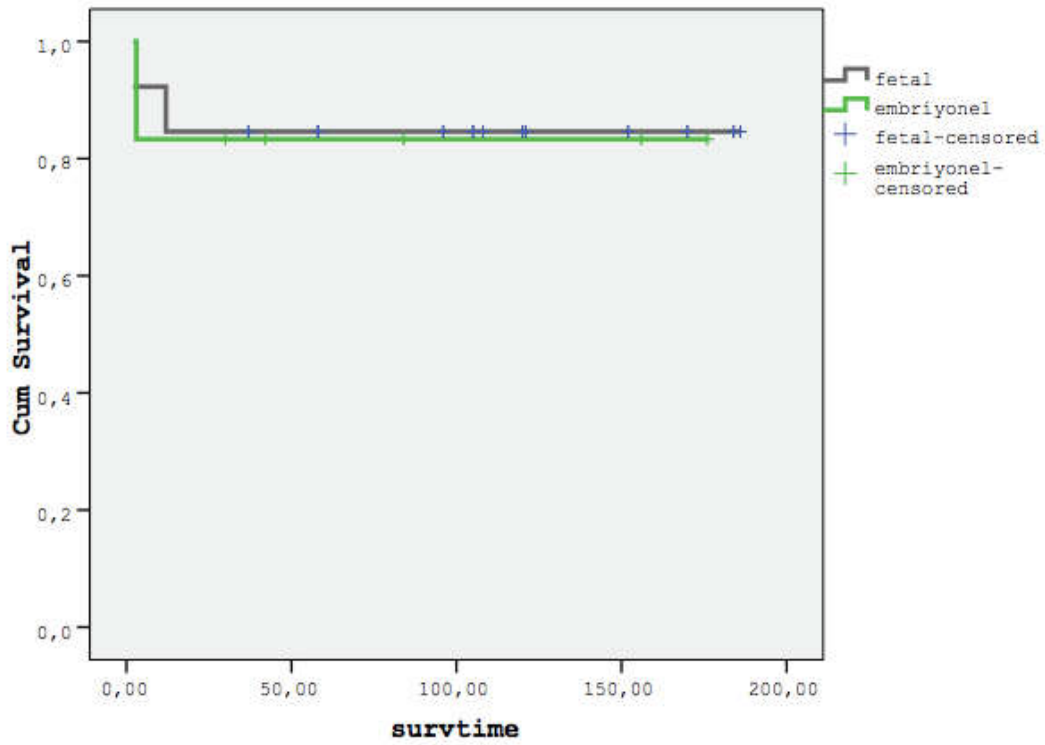


Şekil 10. MiR-19 ekspresyonunun HB alt tiplerini ayırt edici ROC eğrisi

MikroRNA-17 için yukarıdaki ROC eğrisi analizlerinden yararlanılarak duyarlılık ve özgüllüğün birlikte en yüksek olduğu optimal tanı değer noktası (optimal cut-off point) 0,00119250 olarak belirlendi. Bu optimal tanı değer noktasına göre duyarlılığın 1.00 ve özgüllüğün 0.75 olduğu bulundu. Belirlenen optimal tanı değer noktasına göre miR-17 ekspresyon düzeyi; düşük ve yüksek olarak kategorize edildi. Bu kategoriler sağkalım karşılaştırmalarında da kullanıldı.

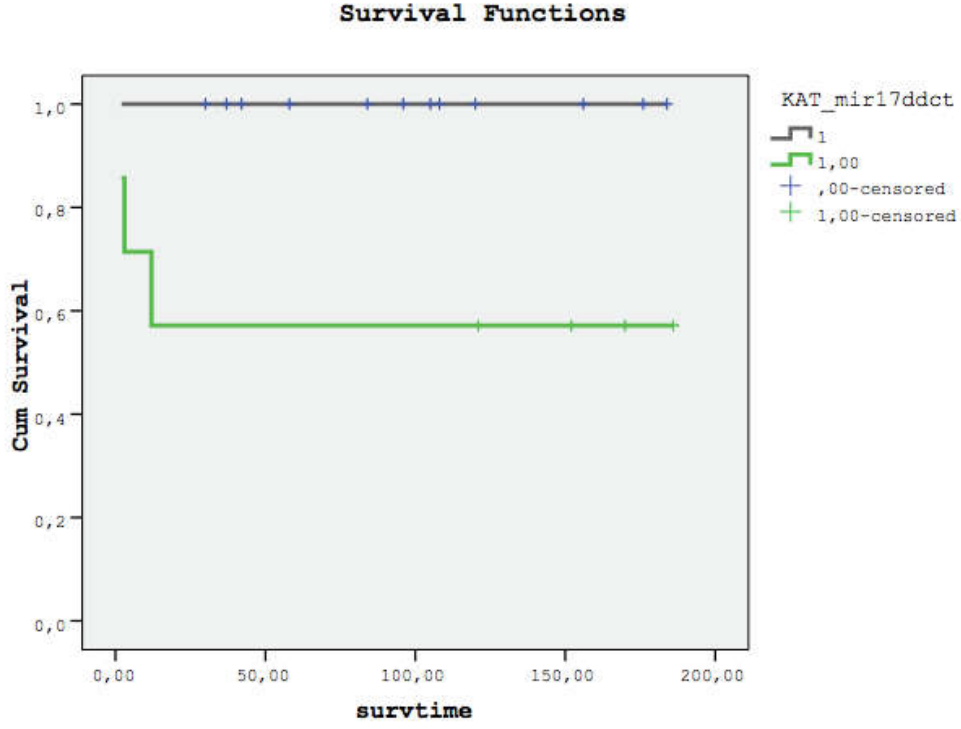
4.2.3. Sağkalım değerlendirmeleri

Olguları histopatolojik alt tiplere göre embriyonel ve fetal olarak genel sağkalımları değerlendirildiğinde, fetal tip HB'da median genel sağkalım değeri 158,462 ay ve embriyonel HB'da ise 147,167 ay olarak bulundu. Her iki grup karşılaştırıldığında genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Emriyonel ve fetal alt tiplerin sağkalım grafiği aşağıda sunuldu (Şekil 11).



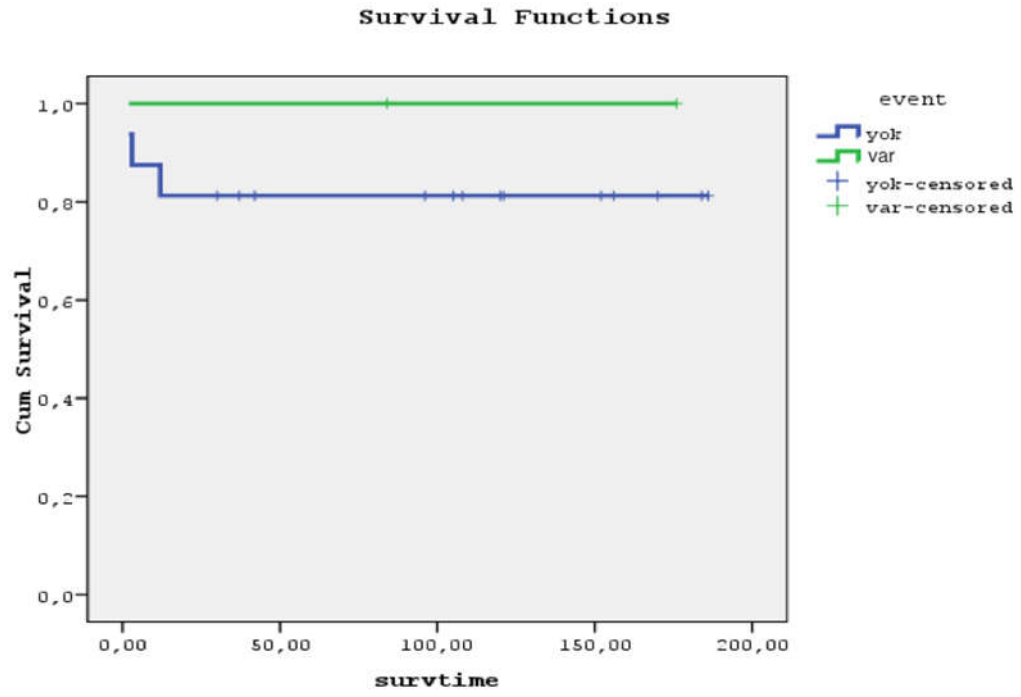
Şekil 11. Embriyonel tip HB ve fetal tip HB olgularında toplam sağkalım grafiği

Hepatoblastom olgularında miR-17 ekspresyonunun yukarıdaki kategorisine göre (düşük/yüksek) olaysız ve genel sağkalımları, Kaplan Meier sağkalım grafikleri çizilerek log-rank testi ile fark olup olmadığı analiz edildi. Olaysız sağkalım değerlendirildiğinde, yüksek miR-17 ekspresyonu olanların tümü yaşadığı için median sağkalım verilemedi. Düşük miR-17 ekspresyonu olanlarda ise median sağkalım 108,714 ay olarak hesaplandı. Tüm ölümler düşük miR-17 grubunda idi. Bu nedenle istatistiksel olarak karşılaştırma yapılamadı. MiR-17 ekspresyonları düşük ve yüksek kategorilerine göre genel ve olaysız sağkalım grafikleri aşağıda verildi (Şekil 12).



Şekil 12. Hepatoblastom olgularında düşük ve yüksek miR-17 ekspresyonlarının sağkalım grafiği

Tüm HB (n=19) olgularının 2'sinde nüks (olay) görüldü, 17'sinde ise nüks yoktu. Bu iki grup için olaylı ve olaysız sağkalımlar analiz edildi. Olaylı olanlarda ölüm hiç olmadığı için istatistik karşılaştırma yapılamadı. Olaylı ve olaysız sağkalım grafikleri aşağıda verildi (Şekil 13).



Şekil 13. Hepatoblastom olgularında nüks olan ve olmayan grupların sağkalım grafiği

5. TARTIŞMA

Hepatoblastom çocukluk çağıının en sık görülen primer kötü huylu karaciğer tümörüdür. Çocukluk çağı tümörlerinin %1'ini oluşturur. Günümüze dek etiyolojisi tam olarak belirlenememiştir ancak BWS, AAP ve düşük doğum ağırlığı ile birlikteliği tanımlanmıştır. Hepatoblastom için tanıya ve prognozu belirlemeye yönelik belirli bir rehber veya kriter yayınlanmamıştır. Ancak birçok çalışma ile tümör histolojisi, makro-mikrovasküler invazyon, tanı anında ve kemoterapi sonrası AFP konsantrasyonu, tümörsüz alan ile birlikte rezeksiyon, akciğer metastazı ve kemoterapiye yanıt prognostik faktör olarak bildirilmiştir (43, 88). Son 10 yılda cerrahi tekniklerde ilerlemeler ve etkili kemoterapi olanakları ile hastalıktan iyileşme oranları artmaktadır (90). Ancak olgular çoğunlukla tanı anında PRETEXT Evre III veya IV olarak saptanır (89). Bu da hastalığın geç tanı alması dolayısı ile kötü sağkalım anlamına gelmektedir. Bu nedenle erken tanı, prognozu iyileştirmek ve sağkalımı arttırmak anlamında oldukça önemlidir.

MikroRNA'lar (miRNA), 19-23 nükleotidden oluşan oldukça stabil nükleik asit molekülleridir. Gen ekspresyonunu karmaşık miRNA-mRNA ilişkisi ile post-transkripsiyonel düzeyde düzenlerler (91). MiRNA'lar kanserlerde tümör baskılayıcı veya onkogenleri hedef alarak önemli görevler üstlenirler. Bunu da kanser kök hücre biyolojisi, anjiogenezis, epitelyel-mezenşimal transizyon, proliferasyon, apoptoz ve farklılaşmada rol alarak yaparlar (92, 93). MiRNA'lar, kanserlerin erken belirleyicileri olarak önemli değere sahiptirler. Artan sayıda çalışma ile miRNA'ların birçok kanserin oluşumu ve progresyonunda rol aldıkları gösterilmiştir. Bu kanserler arasında meme, mide, akciğer ve mesane kanserleri sayılabilir (94, 95). Karsinogenezisde rol alan birçok iyi bilinen protein miRNA'lar tarafından regüle edilmektedir. Örneğin; tümör süpresör fosfotaz ve tensin homolog (PTEN) miR-21 ve miR-214, *BCL-2* antiapoptotik gen ise miR-15a/ miR-16 kümesi tarafından regüle edilir (96-98).

Diğer kanserlerde olduğu gibi son yıllarda HB gelişimi ve metastazı ile ilintili olabildiği düşünülen miRNA'lar üzerinde çalışmalar artmaktadır. Bu oldukça kötü huylu olan tümör farklılaşmamış hepatik progenitör hücrelerden embriyogenezis sırasında malign transformasyon sonucunda gelişir. MiR-302d, miR-302 ailesinin 8 mikroRNA'sından biridir. MiR-302 ailesi, embriyonik kök hücrede yüksek oranda eksprese olurlar ve pluripotent kök hücreleri indüklerler. Pluripotent kök hücreler farklılaşmaya başladıkça ekspresyonları azalır (99). Seminom ve teratokarsinom gibi malign germ hücreli tümörlerde artmış miR-302 ekspresyonu gösterilmiştir (100). Bu çalışmadaki yüksek ekspresyonun, daha çok sağlıklı embriyonik kompartmandan kaynaklandığı düşüncesine varılmıştır. Volinia ve arkadaşları meme kanserinde yaptıkları çalışmada ise invaziv meme kanserinde miR-302 ekspresyonunu artmış olarak belirlemişler ve metastaz ile yüksek ekspresyon arasında korelasyon saptamışlardır (101). Ancak bu çalışmaların aksine miR-302'nin tümör gelişimini inhibe ettiği de gösterilmiştir. Lin ve arkadaşları, miR-302a-d alt grubunun meme kanser hücreleri, hepatosellüler kanser hücreleri ve embriyonel teratokarsinom hücrelerinde tümör oluşumunu baskıladıklarını ve apoptozu indüklediklerini göstermişlerdir (102). Bir başka çalışmada ise miR-302'nin prostat kanser hücresi proliferasyonunu Akt sinyal yolağını hedef alarak inhibe ettiği gösterilmiştir (103).

Yapılan çalışmalar ışığında, miR-302'nin tümör baskılayıcı veya onkojenik rolü net değildir. MiR-302d ve HB ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmamızda, hepatoblastomun embriyonel bir tümör olması nedeni ile miR-302d ekspresyonu araştırılmıştır. HB dokusunda, çevreleyen normal karaciğer dokusu ile karşılaştırıldığında ekspresyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca epitelyal ve fetal alt tipler arasında MiR-302d ekspresyonu açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca prognostik faktörler arasında yer alan AFP, metastaz varlığı ve ileri PRETEXT evresi ile de bir korelasyona rastlanmamıştır. MiR-302d ekspresyon düzeyinin, HB'ü tanımlandırıcı ve prognostik değeri ve genel ve olaysız sağkalım üzerine etkisi saptanmamıştır.

MiR-146a, adaptif immünite ve megakaryosit-monosit farklılaşmasından sorumlu, mikroRNA ailesinin bir elemanıdır. TRAF6 ve IRAK1 hedef genlerini baskılayarak immün cevabı baskıladıkları gösterilmiştir (104). Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda tümör progresyonunda tümör süpresör rol aldığı gösterilmiştir. Meme kanseri, pankreas ve prostat kanserinde artmış ekspresyonunun kanser hücresi invazyonunu ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (104, 105). Zu ve arkadaşları da miR-146a'nın TRAF6'yı baskılayarak hepatosellüler kanseri süprese ettiğini göstermişlerdir (106). Bu çalışmalarında komşu normal karaciğere oranla hepatosellüler kanser dokusunda miR-146a ekspresyonunu düşük bulmuşlardır.

Genel olarak yapılan çalışmalar miR-146a'nın tümör baskılayıcı özellikte olduğunu göstermektedir. Daha önce HCC dokularında çalışılan ve karaciğer tümör dokuda düşük ekspresyon gösteren miR-146a bu çalışmamızda çevreleyen normal karaciğer dokusuna oranla anlamlı ekspresyon farkı göstermemiştir. Genel sağkalım ve olaysız sağkalım ile miR-302d ekspresyon düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır.

MiR-17-92 gen kümesi, insan genomunda kromozom 13q31.3 bölgesine yerleşik olup altı adet miRNA kodlamaktadır. Bu miRNA'lar; miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92a-1'dir. MiR-19b, miR-17-92 kümesinin bir elemanıdır ve MYC geni tarafından regüle edilir. Literatürde miR-19b'nin yaşlanma sürecinde, tromboz ve kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol aldığı gösterilmiştir (107, 108). Aynı zamanda meme, akciğer kanseri, glioma ve serviks kanserleri gibi birçok kanserde rolü olduğu da öngörülmektedir.

MiR-19b ve kanserdeki ekspresyon özellikleri ile sonuçlar farklılıklar göstermektedir. Bazı çalışmalar miR-19b'nin kanser hücrelerinde artmış ekspresyon ile birlikte proliferasyon ve kemorezistansı arttırdığını göstermişlerdir (109). Bunun aksine diğer çalışmalarda ise, kanserde anjiogenezisi ve migrasyonu inhibe ettikleri gösterilmiştir (110). Hung ve arkadaşları, vasküler invazyonu olan veya multifokal HCC'li olgularda

miR-19b' nin artmış ekspresyonunun daha iyi olaysız ve genel sağkalım ile korele olduğunu göstermişlerdir (111). Aynı çalışmada aynı kümenin diğer bir elemanı olan miR-17 de yüksek oranda ekspresyon göstermiştir. Bu sonuçlar birçok çalışmada gösterilen miR-19b'nin onkogenik rolüne zıttır. Yazarlar bu durumu belkide artmış hücre proliferasyonunu önleme çabası olarak değerlendirmektedirler. Bir başka çalışmada, miR-19b'nin, karaciğer satellit hücrelerde TGF- β hedef genlerini ve parakrin sinyal yolağını inhibe ettiği gösterilmiştir (112). Bu da fibrozisde önemli bir basamak olan kollajen üretimini azalttığı anlamına gelmektedir. Bu çalışmanın sonunda, miR-19b'nin özellikle fibrozis ile giden karaciğer hastalıklarında terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği öngörülmüştür.

miR-19b' nin tümör oluşumuna sebep olup olmadığı konusundaki veriler çelişkilidir. Bu çalışmamızda, HB dokusunda, çevreleyen sağlam karaciğer dokusunda miR-19b ekspresyonlar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak dokular histopatolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde embriyonel tipte miR-19b ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Yapılan analizlerde miR-19b ekspresyonunun fetal ve embriyonel tipi ayırt edici olduğu saptanmıştır. MiR-19b'nin kötü prognoz gösteren embriyonel tipde yüksek olması, prognozu belirlemede bir belirteç olabileceği anlamına gelebilir. Ancak olgu sayısının azlığı nedeni ile bu hipotezin desteklenmesi için daha çok hastada yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

MiR-17-92 kümesinin en öne çıkan elemanı miR-17, onkogenik potansiyeli ilk tanımlanan miRNA'dır. Ancak bu potansiyel aslında onkogenik miR-17-92 kümesinin bir üyesi olmasının sonucu olabilir. Özellikle bu grubun bir üyesi olan miR-19b yüksek onkogenik potansiyele sahiptir (113). Bir çalışmada miR-17' nin tek başına metastazı baskılayıcı etkisi gösterilmiştir. miR-17 ile ilgili çalışmaların bir kısmında ise tümör baskılayıcı etkisinden söz edilmektedir. Bu nedenle aslında kanser hücrelerinin tipine göre dual etkili olduğu öngörülmektedir (114). Gyugos ve arkadaşları epitelyel tip HB olgularında, miR-17 ile birlikte miR-18a, miR-21, miR-34a, miR-96, miR-122, miR-181a, miR-195, miR-210, miR-214, miR-221, miR-222, miR-223 ve miR-

224 ekspresyonlarını çalışmışlardır (85). Çevreleyen sağlam karaciğer dokusuna oranla fetal tipde miR-17-5p, miR-195, miR-210, miR-214 ekspresyonlarını azalmış ve miR-221 ekspresyonunu ise artmış olarak belirlemişlerdir. Fetal tip ile embriyonel tip karşılaştırıldığında ise fetal tipde miR-17 ekspresyonunu düşük bulmuşlardır. Ayrıca miR-17'nin, genel ve olaysız sağkalım üzerine etkisiz olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmamızda, miR-17 ekspresyonunu HB dokusunda çevreleyen normal karaciğer dokusuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük saptadı. Bu düşük değerin, hastalığı tanımlayıcı olduğunu ve prognozu istatistik anlamlı düzeyde tahminlediği belirlendi. MiR-17 ekspresyonu azaldıkça prognozun kötüleştiği saptandı. Bir diğer deyişle miR-17'nin HB olgularımızda tümör baskılayıcı görev üstlendiği sonucuna varıldı. Yukarıda baksedilen çalışmanın aksine bu çalışmamızda histopatolojik alt tipler arasında ekspresyon özelliği açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Ayrıca MiR-17 ile klinik, evreleme, AFP gibi diğer prognostik faktörler arasında da korelasyon bulunamadı.

Bu çalışmada, hasta ve kontrol sağlam doku sayısının az olması ile bazı hastaların klinik verilerine tam ulaşamaması eksik yönlerini oluşturmaktadır. MiRNA'ların potansiyel mekanizmalarının, çalışma kapsamına alınmaması bir diğer zayıf tarafı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle potansiyel mekanizmaları içeren daha fazla olguda yapılacak özellikle miR-17-92 kümesinin ekspresyon çalışmaları ile, etiyoloji net olarak belli olmayan HB'da, yeni ufuklar açılacağı görüşündeyiz.

Sonuç olarak, miR-17-92 kümesinde yer alan miR-17 ve miR-19b'nin, farklı klinik davranış gösteren hepatoblastomlarda, tanıda ve klinik gidişi öngörmede önemli veriler sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Keşfinden itibaren üzerinde çok çalışma yapılan miRNA'ları hedef alacak terapötik ajanların, HB tedavi stratejilerine yer alacağı inancındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 22 HB olgusunun miR-17, miR-302d, miR-19b ve miR146a ekspresyonları ve arşiv dosyalarından klinik verileri incelendi. Üç olgunun klinik gidiş ile ilgili verilerine ulaşılamadı. Çalışma sonucunda aşağıdaki veriler elde edildi;

1. Hastaların tanı yaşı ortalama 38,14 ay (3-204 ay) idi.
2. Olguların %45,4'u (n=10) kız, %54,6'u (n=12) erkek idi.
3. PRETEXT evreleme sistemine göre tanı anında 2 olgu (%9,1) Evre 1, 3 olgu (%13,6) Evre 2, 12 olgu (%54,5) Evre 3 ve 5 olgu (%22,7) Evre 4 olarak belirlendi.
4. Olgular histopatolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde 16'sı (%72,7) fetal tip ve 6'sı (%27,3) embriyonel tip olarak sınıflandırıldı.
5. Toplam 22 HB olgusunun 10 HB dokusu ile bu 10 çevreleyen normal karaciğer dokusundan alınan örnekler karşılaştırıldığında; tümör dokusunda yalnızca miR-17 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,028$).
6. Fetal ve embriyonel alt tipler mikroRNA ekspresyonları açısından karşılaştırıldığında; embriyonel alt tipte miR-19b ekspresyonu anlamlı yüksek saptandı ($p=0,008$).
7. Hepatoblastom olgularının, miRNA ekspresyonları ile AFP düzeyi, yaş, cinsiyet, metastaz varlığı ve PRETEXT evrelemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).
8. ROC eğrisi analizleri sonucunda, miR-17 ekspresyonunun prognozu istatistik anlamlı düzeyde tahminlediği saptandı ($AUC=0,875$, $p=0,044$).
9. Embriyonel ve fetal alt tiplerin, genel sağkalım üzerine etkisiz olduğu belirlendi ($p>0,05$).
10. Hepatoblastom olgularında, düşük veya yüksek miR-17 ekspresyonları, genel sağkalım ve olaysız sağkalım üzerine etkisiz bulundu ($p>0,05$).

Sonuç olarak; özellikle miR-17 ve miR19b'nin, farklı klinik davranış gösteren hepatoblastomlarda, klinik gidiş öngörmede önemli veriler sağlayabileceğini ve bu miRNA'yı hedef alacak ajanların HB tedavisinde yer alabileceğini düşünmekteyiz. Potansiyel mekanizmaları içeren daha fazla olguda yapılacak özellikle miR-17-92 kümesi ekspresyon çalışmalarının, etiyojisi net olmayan HB'da yeni ufuklar açacağı görüşündeyiz.



7. KAYNAKLAR

1. N VL. Laboratory assesmentof liver function and injury in children. In Suchy FJ, Sokol RJ, Balistreri WF, eds. Liver disease in children. 3rd ed. New York: Cambridge University Pres, 2007.p:163-75.
2. LaRosa C, Jorge BH, Meyers KEC. Outcomes in pediatric solid organ transplantation. *Pediatr Transplant* 2011;15:128-41.
3. Herzog CE, Andrassy RJ, Eftekhari F. Childhood cancer: Hepatoblastoma. *The Oncologist* 2000; 5:445-53.
4. Emre S, McKenna GJ. Liver tumors in children. *Pediatr Transplantation* 2004; 8:632-8.
5. Lo´pez-Terrada D, Finegold MJ. Tumors of the liver. In: Suchy FJ, editor. Liver disease in children. New York: Cambridge University Press; 2012.
6. Thomas D, Pritchard J, Davidson R, et al. Familial hepatoblastoma and APC gene mutations: renewed call for molecular research. *Eur J Cancer* 2003; 39:2200-4.
7. <http://seer.cancer.gov>. Surveillance epidemiology and end results website. 2009.
8. Spector LG, Birch J. The epidemiology of hepatoblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 59:776-9.
9. Ping AJ, Reeve AE, Law DJ, et al. Genetic linkage of Beckwith-Wiedemann syndrome to 11p15. *Am J Hum Genet* 1989; 44:720-3.
10. Giardiello FM, Offerhaus GJ, Krush AJ, et al. Risk of hepatoblastoma in familial adenomatous polyposis. *J Pediatr* 1991; 119: 766-8.
11. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, et al. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991; 253: 661-5.
12. Ribons LA, Slovis TL. Hepatoblastoma and birth weight. *J Pediatr* 1998; 132: 750.
13. Spector LG, Johnson KJ, Soler JT, et al. Perinatal risk factors for hepatoblastoma. *Br J Cancer* 2008; 98: 1570-73.
14. Atkinson JB, DeUgarte D. Liver tumors. In: Grosfeld JL, O'Neill Jr JA, Fonkalsrud EW, Coran AG, eds. *Pediatric Surgery*. 6th ed. Philadelphia: Mosby-Elsevier; 2006.

15. Lida T, Suenaga M, Takeuchi Y, et al. Successful resection of a ruptured hepatoblastoma prior to chemotherapy: Report of a case. *Surg Today* 2004; 34:710-4.
16. Wu JT, Book L, Sudar K. Serum alpha fetoprotein (AFP) levels in normal infants. *Pediatr Res* 1981; 15:50-2.
17. De Ioris M, Brugieres L, Zimmermann A, et al. Hepatoblastoma with a low serum alpha-fetoprotein level at diagnosis: The SIOPEL group experience. *Eur J Cancer* 2008; 44:545-50.
18. Çorapçioğlu F, Türker G, Aydoğan A, et al. Serum alpha fetoprotein levels in healthy full-term neonates and infants. *Marmara Medical Journal*, 2004; 1:1-8.
19. Emre S, McKenna GJ. Liver tumors in children. *Pediatr Transplantation* 2004;8:632-8.
20. Finegold MJ, Lopez-Terrada DH, Bowen J, et al. Protocol for the examination of specimens from pediatric patients with hepatoblastoma. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131:520-29.
21. Meyers RL, Rowland JH, Krailo M, et al. Pretreatment prognostic factors in hepatoblastoma: a report of the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53:1016-22.
22. Malogolowkin MH, Katzenstein HM, Meyers RL, et al. Complete surgical resection is curative for children with hepatoblastoma with pure fetal histology: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2011; 29:3301-6.
23. Kasai M, Watanabe I. Histologic classification of liver-cell carcinoma in infancy and childhood and its clinical evaluation. A study of 70 cases collected in Japan. *Cancer* 1970; 25:551-63.
24. Trobaugh-Lotrario AD, Tomlinson GE, Finegold MJ, et al. Small cell undifferentiated variant of hepatoblastoma: adverse clinical and molecular features similar to rhabdoid tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52:328-34.
25. Hass JE, Mczynski KA, Krailo M, et al. Histopathology and prognosis in childhood hepatoblastoma and hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1989; 64:1082-95.
26. Nagata T, Takahashi Y, Ishii Y, et al. Transcriptional profiling in

- hepatoblastomas using high-density oligonucleotide DNA array. *Cancer Genet Cytogenet* 2003;145: 152-60.
27. Yamada S, Ohira M, Horie H. Expression profiling and differential screening between hepatoblastomas and the corresponding normal livers: identification of high expression of the PLK1 oncogene as a poor- prognostic indicator of hepatoblastomas. *Oncogene* 2004; 23: 5901-11.
 28. Hiyama E, Yamaoka H, Matsunaga T, et al. High expression of telomerase is an independent prognostic indicator of poor outcome in hepatoblastoma. *Br J Cancer* 2004; 91:972-9.
 29. Cairo S, Armengol C, De Reynie A, et al. Hepatic stem-like phenotype and interplay of Wnt/beta-catenin and Myc signaling in aggressive childhood liver cancer. *Cancer Cell* 2008; 14:471-84.
 30. Hishiki T, Matsunaga T, Sasaki F, et al. Outcome of hepatoblastoma treated using the Japanese Study Group for Pediatric Liver Tumor (JPLT) protocol-2: report from the JPLT. *Pediatr Surg Int* 2011; 27:1-8.
 31. Udatsu Y, Kusafuka T, Kuroda S, et al. High frequency of beta-catenin mutations in hepatoblastoma. *Pediatr Surg Int* 2001; 17: 508-12.
 32. Adesina AM, Lopez-Terrada D, Wong KK, et al. Gene expression profiling reveals signatures characterizing histologic subtypes of hepatoblastoma and global deregulation in cell growth and survival pathways. *Hum Pathol* 2009; 40:843-53.
 33. von Schweinitz D, Faundez A, Teichmann B, et al. Hepatocyte growth factor-scatter factor can stimulate post-operative tumor-cell proliferation in childhood hepatoblastoma. *Int J Cancer* 2000; 85:151-9.
 34. Monga SP, Mars WM, Pediaditakis P, et al. Hepatocyte growth factor induces Wnt-independent nuclear translocation of beta-catenin after Met-beta-catenin dissociation in hepatocytes. *Cancer Res* 2002; 62: 2064-71.
 35. Ranganathan S, Tan X, Monga SP. Beta-Catenin and met deregulation in childhood Hepatoblastomas. *Pediatr Dev Pathol* 2005; 8: 435-447.
 36. Roebuck DJ, Olsen Q, Pariente D. Radiological staging in children with hepatoblastoma. *Clin Nucl Med* 1993; 18:1026-31.
 37. Mueller BU, Terrada-Lopez D, Finegold MJ. Tumors of the Liver. In:

Pizzo PA, Poplack DG, eds. Principles and Practise of Pediatric Oncology, 5th edition, Lippincott Williams &Wilkins, 2006, Philadelphia, USA.

38. Perilongo G, Shafford E, Plaschkes J. SIOPEL trials using preoperative chemotherapy in hepatoblastoma. *Lancet Oncol* 2000; 1: 94-100.
39. Roebuck DJ, Aronson D, Clapuyt P, et al. 2005 PRETEXT: A revised staging system for primary malignant liver tumors of childhood developed by the SIOPEL group. *International Childhood Liver Tumor Strategy Group. Pediatr Radiol* 2007;37: 123-32.
40. Perilongo G, Maibach R, Shafford E. Cisplatin versus cisplatin plus doxorubicin for standard-risk hepatoblastoma. *N Engl J Med* 2009; 361: 1662-70.
41. Zsiros J, Brugieres L, Brock P, et al. Dose-dense cisplatin-based chemotherapy and surgery for children with high-risk hepatoblastoma (SIOPEL-4): a prospective, single-arm, feasibility study. *Lancet Oncol* 2013; 14: 834-4.
42. Katzenstein HM, London WB, Douglass EC, et al. Treatment of unresectable and metastatic hepatoblastoma: a pediatric oncology group phase II study. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3438-44.
43. Fuchs J, Rydzynski J, Von Schweinitz D, et al. Pretreatment prognostic factors and treatment results in children with hepatoblastoma: a report from the German Cooperative Pediatric Liver Tumor Study HB 94. *Cancer* 2002; 95: 172-82.
44. Douglass EC, Green AA, Wrenn E, et al. Effective cisplatin (DDP) based chemotherapy in the treatment of hepatoblastoma. *Med Pediatr Oncol* 1985; 13:187-90.
45. Perilongo G, Shafford E, Maibach R, et al. Risk-adapted treatment for childhood hepatoblastoma. Final report of the second study of the International Society of Paediatric Oncology-SIOPEL 2. *Eur J Cancer* 2004; 40:411-21.
46. Czauderna P, Otte JB, Aronson DC, et al. Guidelines for surgical treatment of hepatoblastoma in modern era-recommendations from SIOPEL. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1031-6.
47. Stringer MD. The role of liver transplantation in the management of

- paediatric liver tumors. *Ann R Coll Surg* 2007; 89:12-21.
48. Otte JB, Pritchard J, Aronson DC, et al. Liver transplantation for hepatoblastoma: results from the International Society of Pediatric Oncology (SIOP) study SIOPEL-1 and review of the world experience. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42: 74-83.
49. Takayasu H, Horie H, Hiyama E, et al. Frequent deletions and mutations of the beta-catenin gene are associated with overexpression of cyclin D1 and fibronectin and poorly differentiated histology in childhood hepatoblastoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7:901-8.
50. Anna CH, Sills RC, Foley JF, et al. Beta-catenin mutations and protein accumulation in all hepatoblastomas examined from B6C3F1 mice treated with anthraquinone or oxazepam. *Cancer Res* 2000; 60:2864-68.
51. Hiyama E, Hiyama K. Telomerase as tumor marker. *Cancer Lett* 2003;194: 221-33.
52. Park JI, Venteicher AS, Hong JY, et al. Telomerase modulates Wnt signalling by association with target gene chromatin. *Nature* 2009; 460:66-72.
53. Aronson DC, Schnater JM, Staalman CR, et al. Predictive value of the pretreatment extent of disease system in hepatoblastoma: results from the international society of pediatric oncology liver tumor study group SIOPEL-1 study. *J Clin Oncol* 2005; 23:1245-52.
54. Maibach R, Roebuck D, Brugieres L, et al. Prognostic stratification for children with hepatoblastoma: the SIOPEL experience. *Eur J Cancer* 2012; 48:1543-49.
55. Czauderna P, Haeberle B, Hiyama E, et al. Children's Hepatic tumors International Collaboration (CHIC) as a model of international global cooperation and clinical research in pediatric rare tumors. Abstract SIOP: London; 2012.
56. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-54.
57. Liang Y, Ridzon D, Wong L, et al. Characterization of microRNA

- expression profiles in normal human tissues. *BMC Genomics* 2007; 8: 166.
58. McDermott AM, Heneghan HM, Miller N, et al. The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. *Pharm Res* 2011; 28:3016-29.
59. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-97.
60. Sun W, Li YSJ, Huang HD, et al. MicroRNA: A master regulator of cellular processes for bioengineering systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12:1-27.
61. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*. 2009;136: 642-55.
62. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*. 2002; 12:735-9.
63. Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*. 2005; 309:310-1.
64. Lee Y, Jeon K, Lee JT, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J* 2002; 21:4663-70.
65. Zeng Y, Cullen BR. Sequence requirements for micro RNA processing and function in human cells. *RNA*. 2003; 9:112-23.
66. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425:415-9.
67. Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004; 303:95-8.
68. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001; 294:858-62.
69. Hammond SM, Bernstein E, Beach D, et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature*. 2000; 404:293-6.
70. Martinez J, Patkaniowska A, Urlaub H, et al. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. *Cell*. 2002; 110:563-74.
71. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic

- lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 15524-29.
72. Gregory PA, Bracken CP, Bert AG et al. MicroRNAs as regulators of epithelial-mesenchymal transition. *Cell Cycle* 2008; 7: 3112-18.
73. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-69.
74. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*. 2005; 120: 635-47.
75. Medina PP, Slack FJ. microRNAs and cancer: an overview. *Cell Cycle* 2008; 7: 2485-92.
76. Lotterman CD, Kent OA, Mendell JT. Functional integration of microRNAs into oncogenic and tumor suppressor pathways. *Cell Cycle* 2008; 7: 2493-99.
77. Lehmann U, Hasemeier B, Christgen M, et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa - mir - 9 - 1 in human breast cancer. *J Pathol*. 2008; 214:17-24.
78. Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105: 13556-61.
79. Leichter AL, Purcell RV, Sullivan MJ, et al. Multi-platform microRNA profiling of hepatoblastoma patients using formalin fixed paraffin embedded archival samples. *Giga Science* 2015; 4:54.
80. Chatterjee A, Leichter AL, Fan V, et al. A cross comparison of technologies for the detection of microRNAs in clinical FFPE samples of hepatoblastoma patients. *Scientific reports* 2015; 5:10438.
81. Empere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, et al. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol* 2004; 5: 13.
82. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. The MicroRNA let-7a modulates interleukin-6-dependent STAT-3 survival signaling in malignant human cholangiocytes. *J Biol Chem* 2007; 282: 8256-64.
83. Girard M, Jacquemin E, Munnich A, et al. miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *J Hepatol* 2008; 48: 648-56.

84. von Frowein J, Pagel P, Kappler R, et al. MicroRNA-492 is processed from the keratin 19 gene and up-regulated in metastatic hepatoblastoma. *Hepatology* 2011; 53:833-42.
85. Gyugos M, Lendvai G, Kenessey I, et al. MicroRNA expression might predict prognosis of epithelial hepatoblastoma. *Virchows Arch* 2014; 464:419-27.
86. Liu W, Chen S, Liu B. Diagnostic and prognostic values of serum exosomal microRNA-21 in children with hepatoblastoma: a Chinese population-based study. *Pediatr Surg Int* 2016; 32:1059-65.
87. Murray MJ, Raby KL, Saini HK, et al. Solid tumors of childhood display specific serum microRNA profiles. *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2015; 24:350-60.
88. Czauderna P, Otte JB, Roebuck DJ, et al. Surgical treatment of hepatoblastoma in children. *Pediatr Radiol* 2006; 36:187-91.
89. Qiao GL, Li L, Cheng W, et al. Predictors of survival after resection of children with hepatoblastoma: a single Asian center experience. *Eur J Surg Oncol* 2014;40:1533-39.
90. Schnater JM, Aronson DC, Plaschakes J, et al. Surgical view of the treatment of patients with hepatoblastoma: results from the first prospective trial of the International Society of Pediatric Oncology Liver Tumor Study Group. *Cancer* 2002; 94:1111-20.
91. Naidu S, Magee P, Garofalo M. MiRNA-based therapeutic intervention of cancer. *J Hematol Oncol* 2015; 8:68.
92. Zhang B, Pan X, Cobb GP, et al. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302:1-12.
93. Kong YW, Ferland-McCollugh D, Jackson TJ, et al. microRNAs in cancer management. *Lancet Oncol* 2012; 13: 249-258.
94. Itesako T, Seki N, Yoshino H, et al. The microRNA expression signature of bladder cancer by deep sequencing: the functional significance of the miR-195/497 cluster. *PLoS One* 2014; 9: 99516.
95. Zhao G, Cai C, Yang T, et al. MicroRNA-221 induces cell survival and cisplatin resistance through PI3K/Akt pathway in human osteosarcoma.

- PLoS One 2013; 8:53906.
96. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133: 647-58.
 97. Yang H, Kong W, He L, et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res.* 2008; 68: 425-33.
 98. Calin GA and Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res.* 2006; 66: 7390-94.
 99. Lin SL, Chang DC, Chang-Lin S, et al. Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent ES-cell like state. *RNA* 2008; 14:2115-24.
 100. Palmer RD, Murray JM, Saini HK, et al. Malignant germ cell tumors display common microRNA profiles resulting in global changes in expression of messenger RNA targets. *Cancer Res* 2010; 70:2911-23.
 101. Volinia S, Nuova G, Drusco A, et al. Pluripotent stem cell miRNAs and metastasis in invasive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106:1-8.
 102. Lin SL, Chang DC, Ying SY, et al. MikroRNA miR-302 inhibits the tumorigenecity of human pluripotent stem cells by coordinate suppression of the CDK2 and CDK4/6 cell cycle pathways. *Cancer Res* 2010; 70:9473-82.
 103. Zhang GM, Bao CY, Wan FN, et al. MicroRNA-302a suppresses tumor cell proliferation by inhibiting AKT in prostate cancer. *PLoS One* 2015; 10:0124240.
 104. Saba R, Sorensen DL, Booth SA. MicroRNA-146a: a dominant, negative regulator of the innate immune response. *Front Immunol* 2014; 5:578.
 105. Li Y, Vanderboom TG, Wang Z, et al. miR-146a suppresses invasion of pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2010; 70: 1486-95.
 106. Zu Y, Yang Y, Zhu J, et al. MiR-146a suppresses hepatocellular carcinoma by downregulating TRAF6. *Am J Cancer Res* 2016;6: 2502-13.
 107. Li S, Ren J, Xu N, Zhang J, et al. MicroRNA-19b functions as

- potential anti-thrombotic protector in patients with unstable angina by targeting tissue factor. *J Mol Cell Cardiol.* 2014; 75:49-57.
108. Lv YC, Tang YY, Peng J, et al. MicroRNA-19b promotes macrophage cholesterol accumulation and aortic atherosclerosis by targeting ATP-binding cassette transporter A1. *Atherosclerosis.* 2014; 236:215-26.
109. Yin R, Bao W, Xing Y, et al. MiR-19b-1 inhibits angiogenesis by blocking cell cycle progression of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 417: 771-6.
110. Yu G, Li H, Wang X, et al. MicroRNA-19a targets tissue factor to inhibit colon cancer cells migration and invasion. *Mol Cell Biochem* 2013; 380: 239-47.
111. Hung CL, Yen CS, Tsai HW, et al. Upregulation of microRNA-19b predicts poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma presenting with vascular invasion or multifocal disease. *BMC Cancer* 2015;15: 1-10.
112. Lachner AM, Steuerwald NM, Walling TL, et al. Inhibitory effects of microRNA-19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology* 2012; 56:3100-110.
113. van Haaften G, Agami R. Tumorigenicity of the miR-17-92 cluster distilled. *Genes Dev* 2010; 24:1-4.
114. Zeng X, Xiang J, Wu M, et al. Circulating miR-17, miR-20a, miR-29c, and miR-223 combined as non-invasive biomarkers in nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One* 2012; 7:46367.

8. EKLER

8.1. Kurum İzin Belgesi

	TC. DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ Onkoloji Enstitüsü Müdürlüğü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanlığı	
14.02.2016		
İLGİLİ MAKAMA;		
Prof. Dr. Nur OLGUN'un yöneticisi olduğu Doç.Dr.Çiğdem ECEVİT'in "Hepatoblastomda MikroRNA17, MikroRNA19b, MikroRNA146a ve MikroRNA302d Ekspresyonları ve Klinik Önemi" isimli doktora tezinin Temel Onkoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında uygulanması uygun bulunmuştur.		
 Prof. Dr. Safiye AKTAS Temel Onkoloji AD. Bşk.		
Mithatpaşa Caddesi No:1606 İnciraltı 35340 İzmir Tel: 0(232) 412 8201 Fax: 0(232) 278 9495 e-posta: temelonkoloji@deu.edu.tr	Ayrıntılı bilgi için Gülperi ÇANKAYA Tel.: 412 8201	
		

8.2. Etik Kurul Onayı

Karar no:
2013/01-05


T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İzmir İli Kamu Hastaneleri Birliği Güney Bölgesi Genel Sekreterliği
İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

SAYI : 1339918/ Etik Kurul
TARİH : 28.11.2013 / 61
KONU : Etik Kurul Başvuruları

Sayın Prof. Dr. Nur OLGUN

"Hepatoblastomların Moleküler Sınıflandırılması ve Klinik Önemi" isimli araştırmanız 28.11.2013 tarihinde İzmir BUÇH Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na görüşülmüş, 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 Etik Kurula Yapılan Yıllık Bildirim Formu*" ile bildirirseniz, fakat çalışmanızın erken bitmesi durumunda araştırmanızın özeti ile beraber "*Klinik Araştırmanın Sona Erdiğine İlişkin Etik Kurula Yapılan Bildirim Formu*" nu doldurarak İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na bildirirsenizi rica ederim.

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı
Uz. Dr. Aysel ÖZTÜRK



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İzmir İli Kamu Hastaneleri Birliği Güney Bölgesi Genel Sekreterliği
İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Konu: Karar hk. / 17

14.01.2016

Sayın Prof.Dr. Nur OLGUN

Klinik araştırmalar etik kurulumuza vermiş olduğunuz 11.01.2016 tarihli dilekçenizde belirtmiş olduğunuz 2013/51 nolu dosyanızdaki değişiklikler etik kurul toplantımızda görüşülmüş olup, çalışma isminin " Hepatoblastomda MicroRNA17, Micro RNA19b, Micro RNA 146a, Micro RNA302d ekspresyonları ve klinik önemi" olarak değiştirilmesi etik kurul üyelerimizin oybirliği ile uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize sunulur.

Doç.Dr.Münevver HOŞGÖR

Etik kurul Başkanı Yrd.

8.3. Özgeçmiş



ÇİĞDEM ÖMÜR ECEVİT

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

Kimlik Numarası	39640735782
Doğum Tarihi	07/02/1970
İletişim Adresi	İsmet Kaptan Mah. Sezer Doğan Sok. No:11
Telefon	(555) 369 72 02
E-posta	ctecevit@hotmail.com
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri

01 Şubat 2014 - Şu Anda (3 yıl 6 ay)
Doktora, Doktora, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI

01 Kasım 2007 - 01 Mart 2011 (3 yıl 5 ay)
Doctor of Medicine (M.D.) / Specialty in Medicine, Major/Normal Degree, EGE
ÜNİVERSİTESİ, TURKEY
EGE TIP FAKÜLTESİ, EGE TIP PR.
Tez Başlığı: Wilson Hastalığında Multimodal Uyarılmış Potansiyel Yanıtların Tanısal
Değeri?
Tez Konusu: Pediatrik Gastroenteroloji
Tarih: 07 Şubat 2011
null
Eğitim: Humanities
Eğitim Alt Alanı: ÇOCUK GASTROENTEROLOJİ, HEPATOLOJİ VE BESLENME

01 Kasım 1996 - 01 Ekim 2001 (5 yıl)
Doctor of Medicine (M.D.) / Specialty in Medicine, Major/Normal Degree, SAĞLIK
BAKANLIĞI TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU BAŞKANLIĞI İZMİR İLİ GÜNEY
BÖLGESİ TÜRKİYE KAMU HASTANE BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ İZMİR DR.
BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA
HASTANESİ, TURKEY
Tez Başlığı: Antiepileptik İlaçların Kemik Mineralizasyonu Üzerine Etkilerinin Kemik
Densitometre Yöntemi ile Gösterilmesi
Tez Konusu: Pediatri
Tarih: 22 Ekim 2001

null

01 Eylül 1987 - 01 Ağustos 1994 (7 yıl)
Bachelor / Licence Degree, Minor Degree, HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, TURKEY
TIP FAKÜLTESİ, TIP PR.

Deneyim / İşyeri Bilgileri

01 Mayıs 2013 - Şu Anda (4 yıl 3 ay) (Tam Zamanlı)
DOÇENT, DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTANESİ

01 Mayıs 2011 - Şu Anda (6 yıl 3 ay) (Tam Zamanlı)
UZMAN, DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EAH

01 Kasım 2007 - 01 Mayıs 2011 (3 yıl 7 ay) (Tam Zamanlı)
ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ (DR.), EGE ÜNİVERSİTESİ

01 Ocak 2002 - 01 Ekim 2007 (5 yıl 10 ay) (Tam Zamanlı)
UZMAN (DR.), DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EAH

01 Kasım 1996 - 01 Ekim 2001 (5 yıl) (Tam Zamanlı)
ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ (DR.), DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE
CERRAHİSİ EAH

Yabancı Dil Bilgileri

ENGLISH (Okuma: Upper-Intermediate /Advanced, Yazma: Upper-Intermediate
/Advanced, Konuşma: Intermediate)

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanı Bilgileri

Ekonomik Faaliyet Alanı Bilgileri

Kayıt bulunamadı.

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanı Bilgileri

Kayıt bulunamadı.

Anahtar Kelimeler

Kayıt bulunamadı.

Ar-Ge Yetkinlik

Eserler

Kitaplar

Kayıt bulunamadı.

Ç. Ö. ECEVİT, C. ECEVİT, B. H. ACAR, O. BAG, S. OZTURK & S. ALSEN, Trichobezoar in Vagina: Assessment for Child Sexual Abuse and Diagnostic Result of Forensic Science, JOURNAL OF FORENSIC SCIENCES, 2017, 0022-1198, 62, 2, 525-527.

C. O. ECEVİT, E. KILICOGLU, F. OZGENC, Ç. Ö. ECEVİT, R. V. YAGCI, M. KARAKOYUN & S. AYDOGDU, Autoimmune hepatitis and long-term disease course in children in Turkey, a single-center experience, EUROPEAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY, 2016, 0954-691X, 28, 8, 927-930.

F. OZGENC, S. A. CALISKAN, A. A. KARA, Ç. Ö. ECEVİT, S. S. ONEN, C. O. ECEVİT, N. D. YILMAZ & T. OGRET MEN, Validity and reliability study of the pediatric Rome III questionnaire for Turkish children and adolescents, TURKISH JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2016, 1300-4948, 27, 2, 129-135.

S. CALKAVUR, O. B. SOYLU, S. AKTAS, O. OLUKMAN, Ç. Ö. ECEVİT, C. ECEVİT, H. T. YILDIRIM & G. DINIZ, Can Neonatal Hepatitis Be More Fatal than Biliary Atresia?, FETAL AND PEDIATRIC PATHOLOGY, 2015, 1551-3815, 34, 3, 162-168.

Ç. Ö. ECEVİT, Yield Of Coeliac Screening In Abdominal Pain-associated Functional Gastrointestinal System Disorders, JOURNAL OF PEDIATRICS AND CHILD HEALTH, 2015, 1440-1754, 51, 11, 1-5.

E. U. SAZ, S. ÖZEN, Ç. Ö. ECEVİT & F. ÖZGENÇ, Invisible Ingested Foreign Body: Aluminum Can Top, The Journal of Emergency Medicine, 2014, 0736-4679, 47, 1, 27-29.

H. A. YUKSEKKAYA, R. V. YAGCI, F. UNAL, S. AYDOGDU, C. ECEVİT, M. KARAKOYUN, B. DOGANAVSARGIL & Ç. Ö. ECEVİT, An autoimmune disease refractory to immunosuppressive regimens: Celiac disease diagnosed long after liver transplantation, PEDIATRIC TRANSPLANTATION, 2013, 1397-3142, 17, 7, E156-E160.

H. A. KORKMAZ, C. O. ECEVİT, C. DIZDARER & Ç. Ö. ECEVİT, Hypocalcemic seizure in an adolescent with Down syndrome: a manifestation of unrecognized celiac disease, TURKISH JOURNAL OF PEDIATRICS, 2013, 0041-4301, 55, 5, 536-538.

F. OZGENC, Ç. Ö. ECEVİT, R. SERTOZ, R. V. YAGCI, C. O. ECEVİT & G. ERDEMİR, Prevalence of hepatitis D co-infection in children with hepatitis B infection: Cross-sectional analyses from Western Turkey, TURKISH JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2013, 1300-4948, 24, 4, 345-348.

F. ÖZGENÇ, Ç. Ö. ECEVİT & R. V. YAĞCI, C-reactive Protein In Children With Active Ulcerative Colitis, JOURNAL OF PEDIATRICS, 2012, 0022-3476, 160, 3, 530.

M. BARAN, R. V. YAGCI, Ç. Ö. ECEVİT, M. CAKIR, C. O. ECEVİT, S. AYDOGDU, F. OZGENC & C. ARIKAN, Gastroesophageal reflux in children with functional constipation, TURKISH JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2012, 1300-4948, 23, 6, 634-638.

M. BARAN, F. UNAL, Ç. Ö. ECEVİT, S. AYDOĞDU & C. ECEVİT, Parenthood in pediatric liver transplant patients, PEDIATRIC TRANSPLANTATION, 2012, 1397-3142, 16, 4, 346-349.

H. A. YUKSEKKAYA, Ç. Ö. ECEVİT, F. UNAL, F. OZGENC, C. ARIKAN, C. O. ECEVİT & R. V. YAGCI, Peptic ulcer disease in children: An uncommon disorder with subtle symptomatology, TURKISH JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2012, 1300-4948, 23, 6, 666-669.

Ç. Ö. ECEVİT, Stress Magnet Ingestion In Three Children: Endoscopist Perspective, Interventional Medicine & Applied Science,, 2012, 2061-1617, 4, 3, 162-164.

C. ECEVİT, N. CELEBİSOY, R. V. YAGCI, Ç. Ö. ECEVİT, M. BARAN, F. GOKCAY & F. OZGENC, The diagnostic value of multimodal evoked potentials in the determination of subclinical neurological involvement of Wilson's disease, EUROPEAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY, 2012, 0954-691X, 24, 6, 627-632.

M. ÇAKIR, H. A. YUSEKKAYA, R. V. YAGCI, F. OZGENC, Ç. Ö. ECEVİT & C. O. ECEVİT, Steroid response in moderate to severe pediatric ulcerative colitis: a single center's experience, WORLD JOURNAL OF PEDIATRICS, 2011, 1708-8569, 7, 1, 50-53.

Ç. Ö. ECEVİT, Inappropriate Antimicrobial Use In Turkish Pediatric Hospitals: A Multicenter Point Prevalence Survey, INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, 2010, 1201-9712, 14, 1, 55-61.

A. ÖZTÜRK, C. ECEVİT, Ç. Ö. ECEVİT & G. SENOL, Humoral Immune Response Against 38- and 16-kDa Mycobacterial Antigens in Childhood Tuberculosis, PEDIATRIC PULMONOLOGY, 2009, 8755-6863, 44, 9, 839-844.

I. YILDIRIM, R. BORROW, N. KURT, O. GULUMSER, B. DİKİCİ, G. SECMEER, S. CELEBİ, Y. ANLAR, Y. CAMCIOĞLU, E. ALHAN, M. CEYHAN, G. TANIR, M. HACIMUSTAFAOĞLU, D. GUR, S. GRAY, N. GURLERTT, U. ÇELİK, M. TURGUT, Y. COSKUN, A. AYDOĞAN, P. BALMER, C. ECEVİT, N. SALMAN, Ç. Ö. ECEVİT & N. HATİPOĞLU, A prospective study of etiology of childhood acute bacterial meningitis, Turkey, EMERGING INFECTIOUS DISEASES, 2008, 1080-6040, 14, 7, 1089-1096.

C. ECEVİT, S. ALTMOEZ, Ç. Ö. ECEVİT, O. B. SOYLU, A. A. OEZTUERK, A. K. TEMİZKAN, M. MAEDA & M. KASAHARA, Nephrocalcinosis in glucose-galactose malabsorption: nephrocalcinosis and proximal tubular dysfunction in a young infant with a novel mutation of SGLT1, EUROPEAN JOURNAL OF PEDIATRICS, 2008, 0340-6199, 167, 12, 1395-1398.

R. BORROW, V. SCHULTZE, C. ECEVİT, P. BALMER, N. KURT, M. CEYHAN, A. AYDOĞAN, I. YILDIRIM, N. ANDREWS, G. LAHER, C. RILEY, G. UYSAL, Ç. Ö. ECEVİT & M. TURGUT, Age-specific seroprevalence of serogroup C meningococcal serum bactericidal antibody activity and serogroup A, C, W135 and Y-specific IgG concentrations in the Turkish population during 2005, VACCINE, 2007, 0264-410X, 25, 41, 7233-7237.

Ç. Ö. ECEVİT, T. KAVAKLI, S. ALTINÖZ & A. AYDOĞAN, Effect Of Carbamazepine And Valproate On Bone Mineral Density, PEDIATRIC NEUROLOGY, 2004, 0887-8994, 31, 4, 279-282.

Bildiriler

Kayıt bulunamadı.

Yönetilen Tezler

T. CINLETİ (Tez Yazarı) , Ç. Ö. ECEVİT (Tez Danışmanı) , İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Tanılı Hastalarda Ortalama Trombosit Hacmi (oth) Düzeyinin Hastalık Aktivasyonu İle İlişkisinin Değerlendirilmesi, DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EAH, TÜRKİYE, 01 Aralık 2016.

D. BAYSAL (Tez Yazarı) , Ç. Ö. ECEVİT (Tez Danışmanı) , Metabolik Sendromlu Olgularda Yağlı Karaciğer Hastalığı Varlığı İle Kan İrisin Düzeyi İlişkisinin İncelenmesi, DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EAH, TÜRKİYE, 01 Temmuz 2016.

E. İ. ÖNER (Tez Yazarı) , Ç. Ö. ECEVİT (Tez Danışmanı) , Irritable Bağırsak Sendromu (ibs) Tanılı Olgularda Uygulanan Düşük Fodmap Diyetinin Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi, DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ EAH, TÜRKİYE, 01 Haziran 2016.

Projeler

Kayıt bulunamadı.

Ödüller

Kayıt bulunamadı.

Ürünler

Kayıt bulunamadı.

Patentler

Kayıt bulunamadı.

Modeller

Kayıt bulunamadı.

Yayımlar

Kayıt bulunamadı.

Şirketler

Kayıt bulunamadı.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Proje Bilgileri

Kayıt bulunamadı.

BİDEB Destekleri

Kayıt bulunamadı.

Görev Bilgileri

Kayıt bulunamadı.

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0



Çocukluk çağının ender karaciğer kanseri: Hepatoblastom

A rare liver tumor in childhood: Hepatoblastoma

Çiğdem ÖMÜR ECEVİT

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi E.A.H, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı, İzmir

ÖZET

Hepatoblastom, çocukluk çağında en sık görülen malign karaciğer tümörüdür. Son yıllarda tanı ve tedavi konusundaki gelişmeler sayesinde uzun süreli yaşam olası hâle gelmiştir. Karında kitle ve yüksek alfa-fetoprotein varlığında hepatoblastomdan şüphelenilmelidir. Ancak infantlarda alfa-fetoprotein yüksekliğini değerlendirirken yaşa göre normalleri göz önünde bulundurmak önemlidir. Tanı basamaklarında, karın ultrasonografisi ve bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme gereklidir. Bu veriler ışığında hastalığın PRETEXT evresi belirlenir. Hastalığın en uygun yönetim stratejisi, bu radyolojik değerlendirmelerle başlar ve biyopsi ve tümör rezeksiyonu ile devam eder. Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörleri Strateji Grubu (SIOPEL) hepatoblastom tanısı alan tüm hastalara tümörün daha güvenle ve tama yakın çıkartılabilmesi için preoperatif kemoterapi önermektedir. Parsiyel hepatektomi ile tam cerrahi rezeksiyon yapılamayan olgularda ise karaciğer nakli düşünülmelidir.

Anahtar kelimeler: Çocuk, hepatoblastom, patoloji, genetik, tedavi

ABSTRACT

Hepatoblastoma is the most common hepatic malignancy in children. In recent years, diagnosis and treatment have been improved in hepatoblastoma, and long survival has become possible. Intraabdominal mass and elevated alpha-fetoprotein level raise suspicion for hepatoblastoma. However, it is important to consider age-appropriate normal values when assessing alpha-fetoprotein levels in infancy. For the diagnostic steps, use of abdominal ultrasonography, and computed tomography or magnetic resonance imaging is required. In the light of these data, PRETEXT stage is determined. The appropriate surgical management strategy for hepatic tumors begins at the initial radiological assessment and continues through the processes of biopsy and tumor resection. The International Childhood Liver Tumor Strategy (SIOPEL) Group recommends preoperative chemotherapy in order to make the tumor more likely to be safely and completely resected. Liver transplantation must be considered when complete tumor excision by partial hepatectomy is unlikely.

Key words: Children, hepatoblastoma, pathology, genetics, treatment

GİRİŞ

Hepatoblastom, çocukluk çağında en sık görülen malign karaciğer tümörüdür ⁽¹⁾. Çocukluk çağı malign karaciğer tümörlerinin %75'ini oluşturur. Son 40 yılda, cerrahi tam rezeksiyonun gerçekleştirilebilmesi konusundaki ilerlemeler ve kemoterapi alanındaki gelişmeler sonucunda genel olarak yaşamda kalım oranları %30 düzeyinden %80'lere ulaşmıştır ⁽²⁾. Bu

derlemede, hepatoblastomun klinik özellikleri, değerlendirme yöntemleri ve sağaltım yaklaşımları gözden geçirilecektir.

Epidemiyoloji

Hepatoblastom (HB), çocukluk çağı kanserleri arasında ender görülmekle birlikte, karaciğer tümörleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Çoğunlukla bu

Alındığı tarih: 31.07.2015

Kabul tarihi: 03.08.2015

Yazışma adresi: Doç. Dr. Çiğdem Ömür Ecevit, Huzur Mah. Serçe Sok., Turkuaz Apt. No:5, D:13, Narlıdere-35320-İzmir
e-mail: ctecevit@gmail.com

olgular ilk 3 yaşta tanı alırlar ⁽³⁾. Ortalama tanı yaşı 19 ay olarak bildirilmekte ve çoğu çocukluk çağı kanserleri gibi erkek çocuklarda 1-3 kat daha fazla görülmektedir. Hastalık sporadik olarak görülebildiği gibi, Beckwith-Wiedemann sendromu, ailevi adenomatöz polipozis sendromları ile birliktelik gösterebilir ⁽⁶⁾. Son yıllarda gerek Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanser Enstitüsünün Sürveyans (SEER) verilerine ve gerek Japonya ve Avrupa raporlarına göre son 30 yılda yıllık insidansının arttığı görülmektedir ⁽⁴⁾. Erken doğum ve çok düşük doğum ağırlığı ile doğan bebeklerle hepatoblastom arasında ilişki saptanması ve bu olguların sayılarının artması nedeni ile hepatoblastom görülme sıklığının da bu artışa paralel olarak arttığı düşünülmektedir ⁽⁵⁾.

Etiyoloji

Hepatoblastom, embriyonel kaynaklı bir karaciğer tümörü olup, karaciğer kök hücrelerinden geliştiği düşünülmektedir. Beckwith-Wiedemann sendromu, hemihipertrofi, Trizomi 18 (Edward's sendromu) ve ailevi adenomatöz polipozis olgularında hepatoblastom sıklığının arttığı bilinmektedir ⁽⁶⁾. Sporadik olgularda ve ailevi adenomatöz polipozis olgularında beşinci kromozomda bulunan APC tümör baskılayıcı gende mutasyon saptanmıştır.

Mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, etiyolojide erken doğum ve çok düşük doğum ağırlığı, oksijen tedavisi, furosemid gibi bazı ilaçlar, Total Parenteral Nutrisyon (TPN), radyasyon ve bazı metallerin oluşumunda rol aldığı üzerinde durulmaktadır ⁽⁵⁾.

Genetik ve Moleküler Değişiklikler

Hepatoblastomda, en sık görülen genetik değişiklikler, Wnt sinyal yolağında yer alan genlerdedir ⁽⁷⁾. Son yıllarda, telomeraz aktivasyonu ve genetik ekspresyon profilleri hepatoblastomda prognostik faktör olarak tanımlanmaya başlanmıştır ⁽⁸⁾. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, Wnt sinyal yolağının aktivasyonu sonucu tümör hücrelerinde β -katenin birikimi varlığı gösterilmiştir ⁽⁹⁾. Aynı

zamanda Wnt sinyal yolağı hedef genleri olan siklin D1, surviving ve MYC genlerinin ekspresyonlarının da arttığı gösterilmiştir. Wnt sinyal yolağının apregülasyonu hepatoblastomun tüm histopatolojik alt tiplerinde gösterilmekle birlikte, özellikle agresif tip hepatoblastomlarda bu çok daha belirgin olarak saptanmıştır ⁽¹⁰⁾. Ayrıca küçük hücre komponentli agresif epitelyal hepatoblastomlarda MAPK sinyal yolağı ve antiapoptotik sinyalizasyon upregule olarak bulunmuştur.

Telomeraz, TERT (insan telomeraz revers transkriptaz) ekspresyonu tarafından regüle edilir ve TERT ekspresyonu Wnt sinyal aktivasyonunda major rol oynamaktadır ⁽¹¹⁾. Aynı zamanda MYC geninin de TERT ekspresyonunu arttırdığı üzerinde durulmaktadır. Sonuç olarak, TERT ve MYC sinyalizasyonunun artmasının hepatoblastom gelişimi ile ilintili olduğu ve özellikle agresif fenotiplerinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

Hepatoblastom gelişimindeki diğer bir yolak Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)/c-Met yolağıdır. Özellikle tam olarak çıkarılamayan hepatoblastom olgularında rekürenslerin yüksek görüldüğü durumlarda c-Met düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir ⁽¹²⁾. Kalan karaciğer dokusunun rejenerasyonunu sağlamak üzere artan HGF aktivitesinin, rezidüel tümörün büyümesine neden olduğu düşünülmüştür. Aynı zamanda HGF aktivitesinde artışın Wnt sinyal yolağından bağımsız olarak β -katenin birikimine neden olduğu gösterilmiştir ⁽¹³⁾. Bir diğer çalışmada, hepatoblastom olgularında Met ve β -katenin ekspresyonunun arttığı ve kemoterapi sonrası ise Met düzeyinin belirgin düştüğü gösterilmiştir ⁽¹⁴⁾.

Histopatoloji

Histopatolojik inceleme hem kesin tanı hem de karaciğerin diğer tümörlerinden ayırımı için gereklidir. Histopatolojik olarak, epitelyal (%56) ve mikst epitelyal-mezenşimal (%44) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Epitelyal kökenli olanlar ayrıca; fetal (%31), embriyonel (%19), andiferansiye küçük hücreli (%3) ve makrotrabeküler (%3) olmak üzere 4

gruba ayrılır. Fetal tipte olanlar, prognozu en iyi olan grubu oluşturur. Bununla birlikte, küçük hücreli andiferansiye histolojiye sahip hepatoblastomlar kötü seyirli olmaktadır. Mikst tipde ise mezenşimal elemanların varlığı arttıkça prognoz daha iyi olmaktadır. En sık rastlanan mezenşimal elemanlar kıkırdak ve osteoid dokular olarak bildirilmektedir ⁽¹⁵⁾.

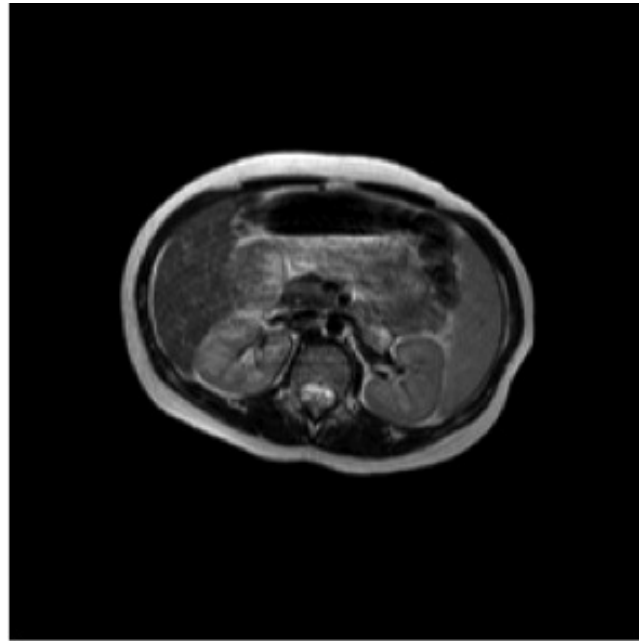
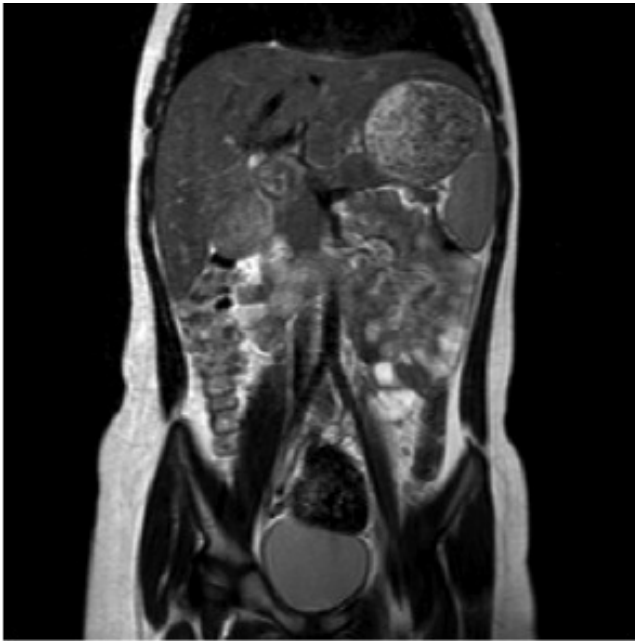
Klinik ve Laboratuvar Bulgular

Çoğu hepatoblastom olgusunun ilk başvuru yakınıması aile veya hekim tarafından fark edilen asemptomatik karın kitlesidir. Bununla birlikte, bir kısım hasta ender de olsa bulantı-kusma, iştahsızlık, kilo kaybı ve karın ağrısı gibi spesifik olmayan bulgularla başvurabilir, ancak bu bulgular çoğunlukla ileri evre tümörlerde görülür ⁽¹⁶⁾. Kitlenin safra yollarına basısı sonucu bazı hastalar sarılık ile başvurabilir. Bazı hastalarda ise salınan hormonlara örneğin; Beta-insan koryonik gonodotropin (β -HCG) yüksekliğine bağlı erken puberte veya renin salınımına bağlı hipertansiyon kliniği görülebilmektedir. Çok büyük tümör kitlesi varlığında tümör yırtılması sonucu akut karın, masif kanama ve şok tablosu ile başvuru da söz konusudur, ancak oldukça ender olarak ortaya çıkmaktadır ⁽¹⁷⁾.

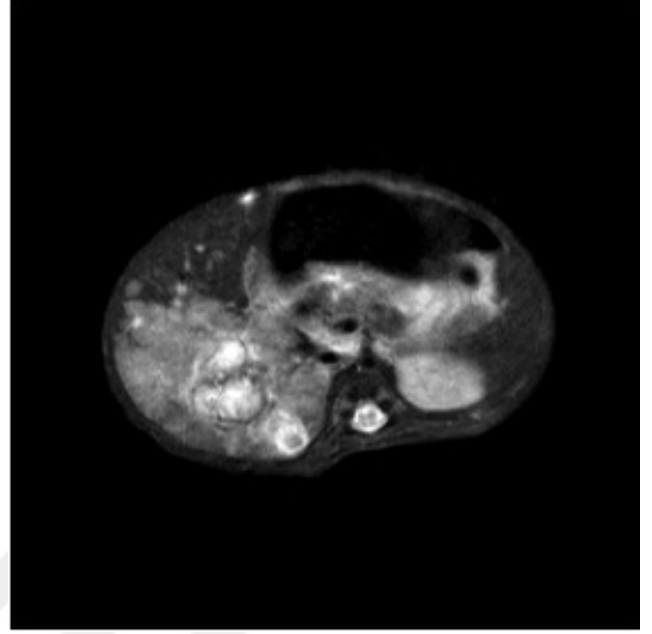
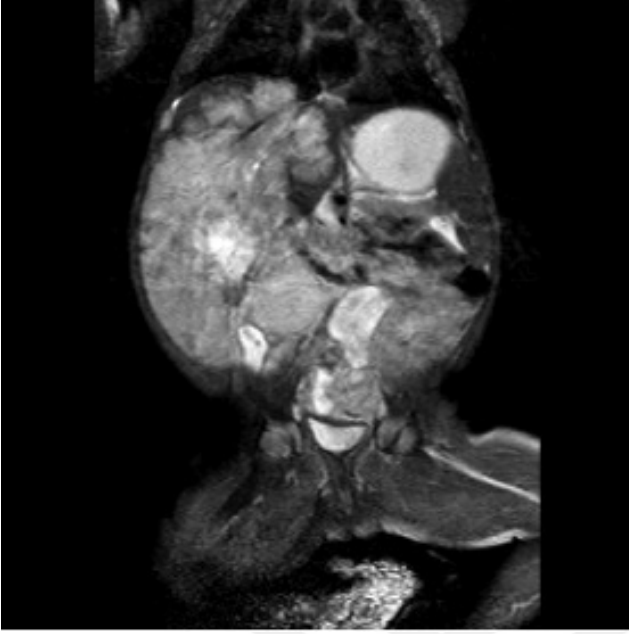
Hepatoblastom olgularının %90'ında α -fetoprotein (AFP) yüksekliği belirgin artış göstermektedir. Bu belirteç aynı zamanda hastalık ciddiyeti ile de koreledir. Ancak AFP değerleri özellikle infantil dönemde hepatositlerden bu proteininin fizyolojik olarak sentezlenmesine bağlı olarak yüksek seviyelerde saptanır. Bu nedenle yaşa göre AFP düzeylerinin bilinmesi önemlidir ⁽¹⁸⁾. Postnatal dönemde 100 000 ng/ml olan değerler ilk 6 ayda hızla düşerek 1 yaş civarında erişkin seviyelerine (3-20 ng/ml) ulaşır. Hepatoblastomda AFP düzeyleri 100 ng/ml' nin üzerindedir. Bu değer altında AFP varlığı kötü prognoz ve kemoterapiye direnç ile ilintilidir ⁽¹⁹⁾. Aynı zamanda tedaviye yanıtı ve hastalık tekrarını belirlemede kullanılan bu belirteçte, tümörün tam rezeksiyonundan sonra uygun düşme gözlenmemesi, kalıntı hastalığın varlığı olarak değerlendirilmektedir ⁽²⁰⁾. Hastaların yaklaşık %60'ında trombosit sayısında artış gözlenirken, bazı olgularda karaciğer enzim yüksekliği ve anemi tablosu eşlik edebilmektedir.

Görüntüleme Yöntemleri

Hepatoblastomda görüntüleme yöntemleri; tanı koymak, tümörün yaygınlığı saptamak, cerrahi olarak



Resim 1-1a. Pretext Evre I Hepatoblastom tanılı 7 yaş erkek olgunun aksiyal ve koronal T2 ağırlıklı MRG incelemesi.



Resim 2-2a. Pretext Evre IV Hepatoblastom tanılı 45 günlük, kız hastanın aksiyal ve koronal T2 ağırlıklı MRG incelemesi.

çıkarılabilirliğini ve damarlanmasını değerlendirmek ve de sağaltım planını oluşturmak için gereklidir.

Tanıda ilk başvurulacak görüntüleme yöntemi karın ultrasonografisidir. Ultrasonografi ile kitlenin solid ya da kistik özelliği, yaygınlığı ve yerleşimi belirlenirken, doppler ultrasonografi ile damarlanması ve ana damarlara yayılımı incelenebilmektedir ⁽²¹⁾.

İleri görüntüleme yöntemi olarak, bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılmaktadır. Yan etki nedeni ile tomografinin yerini MRG almakla birlikte, seçim radyoloğa bırakılmalıdır. Manyetik rezonans görüntülemede; T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens, T2 ağırlıklı kesitlerde hiperintens homojen kitle görünümü saptanmaktadır (Resim 1-1a, 2-2a). Kontrastlı MR anjiyografi ile tümörün damarsal özelliği ve diğer damarlarla ilişkisi rahatlıkla gösterilebilmektedir ⁽²²⁾.

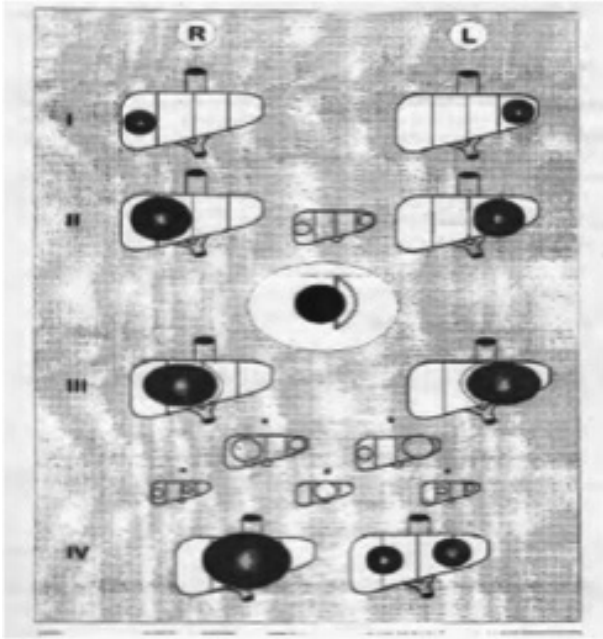
Tanıda hastaların yaklaşık %10-20'si metastatik hastalıkla başvurmaktadır. En sık metastaz yaptığı yer olan akciğerlerin değerlendirilmesi için direkt akciğer grafisi ve toraks bilgisayarlı tomografisi önerilmektedir. Kemik ve beyin metastazı çok ender görülmesi ve akciğer metastazı olmaksızın bu bölgelere metastazın çok az sayıda hepatoblastomlu olguda bildirilmiş olması nedenleri ile kemik sintigrafisi

ve beyin görüntülemesi rutin olarak önerilmemekte, hasta bazında değerlendirilmesi öngörülmektedir.

Tümör Evrelemesi

Farklı tedavi yaklaşımları nedeni ile Amerika orijinli Çocuk Onkoloji Grubu (COG) ve Avrupa orijinli Uluslararası Çocukluk Çağı Karaciğer Tümörleri Strateji Grubu (SIOPEL), tanı anında tümör yayılımını tanımlamaya yönelik farklı sistemleri benimsemişlerdir. COG çalışmalarına göre hastalık evresi, başlangıç cerrahi müdahale sırasında, cerrahi ve histolojik kriterlere göre belirlenmektedir ⁽²³⁾. SIOPEL grubu ise tümör evresini tanı anında belirlemeye yönelik PRETEXT (Pretreatment extention of the disease evaluation system) olarak bilinen bir sistem geliştirmişlerdir ⁽²⁴⁾. Bugün için yaygın olarak SIOPEL grubunun geliştirdiği bu evreleme sistemi kullanılmaktadır (Resim 3). Bu evreleme sistemi karaciğerin damarsal yapısını göz önüne alır ve karaciğeri her iki ana lobda ikiye bölerek 4 segmente ayırır. Buna göre karaciğer sol lob iç, sol lob dış, sağ lob ön ve sağ lob arka olmak üzere 4 segmente ayrılmaktadır. Yan yana tümörden arınmış 3 segment olduğunda PRETEXT I, yan yana tümörden arınmış 2 segment

olduğunda PRETEXT II, yalnızca 1 segment sağlam ya da yan yana olmayan 2 segment sağlam olduğunda PRETEXT III ve tüm segmentlerin tutulumunda PRETEXT IV olarak kabul edilmektedir. PRETEXT evresine tümörün karaciğer dışına uzanımını tanımlayan bazı parametreler eklenir ve bunlar PRETEXT evresinin yanında belirtilir. Buna göre; kaudat lob tutulumu C, ekstrahepatik abdominal hastalık varlığı E1, peritoneal nodüllerin varlığı E2, multifokal tümör varlığı F, tümör yırtılması ya da intraperitoneal kanama H, uzak metastaz varlığı M, abdominal lenf nodu metastazı N1, diğer lenf nodu metastazları N2, portal ven dallarının tutulumu P1, ana portal ven tutulumu P2 ve vena kava ve hepatik ven tutulumu V olarak belirtilmelidir ⁽²⁴⁾.



Resim 3. PRETEXT Evreleme Sistemi; PRETEXT I, PRETEXT II, PRETEXT III, PRETEXT IV, R: Sağ, L: Sol (Bu resim International Society of Paediatric Oncology, SIOPEL 4, yüksek risk hepatoblastom protokolünden alınmıştır.)

Tedavi Algoritmi

Tedavide amaç, cerrahi sınır alan temiz oluncaya kadar çıkarmaktır. 1980'li yıllardan itibaren sisplatin özellikle tam rezeke edilemeyen HB tedavisinde kullanılmaya başlanması ile birlikte hastalık sağ kalım oranlarının yükseldiği görülmüştür ⁽²⁵⁾. Tedavi

tümörün evresine göre planlanmaktadır. Tedavide COG ve SIOPEL gruplarının tedavi yaklaşımları farklılık göstermektedir. Amerika orijinli COG, tek lob ile sınırlı veya standart lobektomi ile çıkarılabilecek tümörlerde, kemoterapi uygulamadan doğrudan cerrahi rezeksiyon uygulamakta ve böylelikle kemoterapinin yan etkisinden kaçınmaktadır ⁽²²⁾. Avrupa orijinli SIOPEL ise tüm hastalara en azından 2 kürden oluşan kemoterapi protokolünü uyguladıktan sonra cerrahi tedavi uygulamaktadır. Kemoterapatik ajan olarak standart risk grubunda (PRETEXT I-III) tek başına sisplatin veya doksorubisin ile kombinasyonu, yüksek risk grubunda (PRETEXT IV ve/veya akciğer metastazı, intraabdominal yayılım, başvuruda tümör rüptürü ya da AFP<100 ng/ml) ise sisplatin, doksorubisin ve karboplatin kombinasyonunu önermektedirler ^(26,27). İki kür sonrası hastalar cerrahi açıdan yine değerlendirilerek olası ise kür sayısının dörde tamamlanması istenmektedir ⁽²⁸⁾. Postoperatif dönemde kemoterapi ise, cerrahi öncesi alınan kür sayısına göre değişiklik göstermektedir.

Cerrahide amaç tam anatomik rezeksiyon ile tüm tümör dokusunun ortadan kaldırılmasıdır. Cerrahi tedavi olarak, hemihepatektomi veya sınırları genişletilmiş hemihepatektomi ya da tek segmentin sağlam olduğu durumlarda trisegmentektomi yöntemleri kullanılmaktadır ⁽²⁹⁾. Ameliyat sırasında rezeksiyon sınırında kalmış mikroskopik kalıntı dokular için hastada kalan karaciğer kenarından frozen in situ incelemesi yapılarak sonuca göre gerekirse rezeksiyon hattının biraz daha ileri taşınması önerilmektedir.

Karaciğer transplantasyon tekniğindeki ilerlemelerle birlikte hepatoblastom olgularında “rezekte edilemez” deyiimi aslında tarihe yazılmıştır. Karaciğer nakli; çoklu odaklı veya tek odaklı PRETEXT IV hastalık ve ana damarlara yakınlık nedeni ile tam eksizyon uygunluğu tartışmalı PRETEXT III hastalık varlığında önerilmektedir. Ayrıca vena kava ve/veya tüm hepatik venlerde tümör varlığı, ana portal ven veya sağ-sol ana dallarında tümör varlığı da karaciğer nakli endikasyonları arasındadır ⁽³⁰⁾. Diğer nakil endikasyonları ise başlangıçta PRETEXT I ile IV arasında evrelendirilmiş

herhangi bir tümörün, kısmi hepatektomiden sonra yinelemesi ya da tümörün tam olarak çıkarılamadığı durumdur (kurtarma nakil) ⁽³¹⁾. Tanı anında uzak organ metastazı varlığı karaciğer nakli açısından kontrendikasyon değildir, ancak bu odakların nakil öncesi kemoterapi veya cerrahi rezeksiyon ile tedavi edilmesi gerekmektedir. Karaciğer nakli için tek kontrendikasyon, uzak organ metastazının kemoterapi ya da cerrahi ile tedavi edilememesi durumudur.

SONUÇ

Hepatoblastom çocukluk çağının en sık görülen kötü huylu karaciğer tümörüdür. Kemoterapi ve cerrahi alanlarındaki gelişmeler sayesinde sağ kalım oranları artmıştır. Bugün için cerrahi tedavi öncesi tümörün çıkarılabilirliğini değerlendirmek için PRETEXT evreleme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Cerrahi tedavi ile tam olarak rezeke edilemeyecek tümörü olan olgularda ise karaciğer nakli, son yıllardaki gelişmeler sayesinde, yaşam kurtarıcı bir tedavi alternatifi olarak tercih edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Herzog CE, Andrassy RJ, Eftekari F. Childhood cancer: Hepatoblastoma. *The Oncologist* 2000;5:445-53. <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.5-6-445>
- Emre S, McKenna GJ. Liver tumors in children. *Pediatr Transplantation* 2004;8:632-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3046.2004.00268.x>
- Lo'pez-Terrada D, Finegold MJ. Tumors of the liver. In: Suchy FJ, editor. Liver disease in children. New York: Cambridge University Press; 2012.
- <http://seer.cancer.gov. Surveillance epidemiology and end results website. 2009>.
- Spector LG, Birch J. The epidemiology of hepatoblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2012;59:776-9. <http://dx.doi.org/10.1002/pbc.24215>
- Thomas D, Pritchard J, Davidson R, et al. Familial hepatoblastoma and APC gene mutations: renewed call for molecular research. *Eur J Cancer* 2003;39:2200-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049\(03\)00618-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00618-X)
- Hiyama E, Yamaoka H, Matsunaga T, et al. High expression of telomerase is an independent prognostic indicator of poor outcome in hepatoblastoma. *Br J Cancer* 2004;91(5):972-9. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6602054>
- Cairo S, Armengol C, De Reynie A, et al. Hepatic stem-like phenotype and interplay of Wnt/beta-catenin and Myc signaling in aggressive childhood liver cancer. *Cancer Cell* 2008;14:471-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2008.11.002>
- Udatsu Y, Kusafuka T, Kuroda S, et al. High frequency of beta-catenin mutations in hepatoblastoma. *Pediatr Surg Int* 2001;17:508-12. <http://dx.doi.org/10.1007/s003830000576>
- Adesina AM, Lopez-Terrada D, Wong KK, et al. Gene expression profiling reveals signatures characterizing histologic subtypes of hepatoblastoma and global deregulation in cell growth and survival pathways. *Hum Pathol* 2009;40:843-853. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2008.10.022>
- Park JI, Venteicher AS, Hong JY, et al. Telomerase modulates Wnt signalling by association with target gene chromatin. *Nature* 2009;460:66-72. <http://dx.doi.org/10.1038/nature08137>
- von Schweinitz D, Faundez A, Teichmann B, et al. Hepatocyte growth factor-scatter factor can stimulate post-operative tumor-cell proliferation in childhood hepatoblastoma. *Int J Cancer* 2000;85:151-159. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(20000115\)85:2<151::AID-IJC1>3.0.CO;2-6](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(20000115)85:2<151::AID-IJC1>3.0.CO;2-6)
- Monga SP, Mars WM, Padiatitakis P, et al. Hepatocyte growth factor induces Wnt-independent nuclear translocation of betacatenin after Met-beta-catenin dissociation in hepatocytes. *Cancer Res* 2002;62:2064-2071.
- Ranganathan S, Tan X, Monga SP. Beta-Catenin and met deregulation in childhood Hepatoblastomas. *Pediatr Dev Pathol* 2005;8:435-447. <http://dx.doi.org/10.1007/s10024-005-0028-5>
- Hass JE, Mczynski KA, Krailo M, et al. Histopathology and prognosis in childhood hepatoblastoma and hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1989;64:1082-95. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(19890901\)64:5<1082::AID-CNCR2820640520>3.0.CO;2-G](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(19890901)64:5<1082::AID-CNCR2820640520>3.0.CO;2-G)
- Atkinson JB, DeUgarte D. Liver tumors. In: Grosfeld JL, O'Neill Jr JA, Fonkalsrud EW, Coran AG, eds. Pediatric Surgery. 6th ed. Philadelphia: Mosby-Elsevier; 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-02842-4.50033-4>
- Lida T, Suenaga M, Takeuchi Y, et al. Successful resection of a ruptured hepatoblastoma prior to chemotherapy: Report of a case. *Surg Today* 2004;34:710-4.
- Wu JT, Book L, Sudar K. Serum alpha fetoprotein (AFP) levels in normal infants. *Pediatr Res* 1981;15:50-2. <http://dx.doi.org/10.1203/00006450-198101000-00012>
- De Ioris M, Brugieres L, Zimmermann A, et al. Hepatoblastoma with a low serum alpha-fetoprotein level at diagnosis: The SIOPEL group experience. *Eur J Cancer* 2008;44:545-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2007.11.022>
- Çorapçıoğlu F, Türker G, Aydoğan A, et al. Serum alpha fetoprotein levels in healthy full-term neonates and infants. *Marmara Medical Journal* 2004;1:1-8.
- Roebuck DJ, Olsen Q, Pariente D. Radiological staging in children with hepatoblastoma. *Clin Nucl Med* 1993;18:1026-31.
- Mueller BU, Terrada-Lopez D, Finegold MJ. Tumors of the Liver. In: Pizzo PA, Poplack DG, eds. Principles and Practice of Pediatric Oncology, 5th edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, Philadelphia, USA.
- Ortega JA, Douglass EC, Feusner JH, et al. Randomized comparison of cisplatin/vincristine/fluorouracil and cisplatin/continuous infusion doxorubicin for treatment of pediatric hepatoblastoma: A report from the Children's Cancer Group and the Pediatric Oncology Group. *J Clin Oncol* 2000;18:2665-75.
- Roebuck DJ, Aronson D, Clapuyt P, et al. 2005 PRETEXT: A revised staging system for primary malignant liver tumors of childhood developed by the SIOPEL group. International

- Childhood Liver Tumor Strategy Group. *Pediatr Radiol* 2007;37:123-32.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00247-006-0361-5>
25. Douglass EC, Green AA, Wrenn E, et al. Effective cisplatin (DDP) based chemotherapy in the treatment of hepatoblastoma. *Med Pediatr Oncol* 1985;13:187-90.
<http://dx.doi.org/10.1002/mpo.2950130405>
26. Perilongo G, Shafford E, Maibach R, et al. Risk-adapted treatment for childhood hepatoblastoma. Final report of the second study of the International Society of Paediatric Oncology-SIOPEL 2. *Eur J Cancer* 2004;40:411-21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2003.06.003>
27. Fuchs J, Rydzynski J, Von Schweinitz D, et al. Pretreatment prognostic factors and treatment results in children with hepatoblastoma: a report from the German Cooperative Pediatric Liver Tumor Study HB 94. *Cancer* 2002;95:172-82.
<http://dx.doi.org/10.1002/cncr.10632>
28. Zsiros J, Brugieres L, Brock P, et al. Dose-dense cisplatin-based chemotherapy and surgery for children with high-risk hepatoblastoma (SIOPEL-4): a prospective, single-arm, feasibility study. *Lancet Oncol* 2013;14:834-4
[http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70272-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70272-9)
29. Czauderna P, Otte JB, Aronson DC, et al. Guidelines for surgical treatment of hepatoblastoma in modern era-recommendations from SIOPEL. *Eur J Cancer* 2005;41:1031-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2005.02.004>
30. Stringer MD. The role of liver transplantation in the management of paediatric liver tumors. *Ann R Coll Surg* 2007;89:12-21.
<http://dx.doi.org/10.1308/003588407X155527>
31. Otte JB, Pritchard J, Aronson DC, et al. Liver transplantation for hepatoblastoma: results from the International Society of Pediatric Oncology (SIOP) study SIOPEL-1 and review of the world experience. *Pediatr Blood Cancer* 2004;42:74-83.
<http://dx.doi.org/10.1002/pbc.10376>