



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

PANKREAS KANSERLERİNDE CDC25A GEN POLİMORFİZMİ VE EKSPRESYONU

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Başar AKSOY
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sacit ÇOBAN**

Şubat-2011

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PANKREAS KANSERLERİNDE CDC25A GEN
POLİMORFİZMİ VE EKSPRESYONU**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Başar AKSOY
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sacit ÇOBAN**

Şubat-2011

**Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 5/2010-5
proje numarası ile desteklenmiştir.**

I. ÖNSÖZ

Cerrahi bilgi, görgü ve deneyimlerimi borçlu olduğum Gaziantep Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı, saygıdeğer hocam Prof. Dr. M. Avni GÖKALP'e, uzmanlık eğitimim süresince tezimin planlanması ve sürdürülmesinde tecrübelerinden ve bilgilerinden faydalandığım, benden her türlü ilgisini, yardımını esirgemeyen, sabır ve titizlikle yanımda olan değerli tez hocam Doç. Dr. Sacit ÇOBAN'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince deneyim ve tecrübelerinden faydalandığım hoşgörülerini eksik etmeyen tüm bölüm hocalarım Prof. Dr. Ahmet A. BALIK, Prof. Dr. M. Necdet AYBASTI, Doç. Dr. Göktürk MARALCAN, Doç. Dr. Ünal AYDIN, Yrd. Doç. Dr. İlyas BAŞKONUŞ'a tek tek teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Beş yıl boyunca bir çok şeyi paylaştığımız Dr.Selçuk ARSLAN'a, Genel Cerrahi Araştırma Görevlisi sevgili arkadaşlarıma ve tüm sağlık personeline teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın çeşitli aşamalarda yardımlarını benden esirgemeyen, her türlü desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Prof. Dr. Ahmet ARSLAN'a, Yrd. Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU'ya, Yrd. Doç. Dr. Beyhan CENGİZ'e, Prof. Dr. Tuncay DEMİRYÜREK'e, Mak. Yük. Müh. Emrah ÖZAHİ'ye teşekkür ederim.

Hayattaki tüm güzellikleri paylaştığım, bu uzun ve zor asistanlık döneminde hep yanımda olan sevgili eşim Gülden KÜLTE AKSOY'a, dünyalar tatlısı biricik oğlum Çağan'a ve benim burada bulunmamı sağlayan annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Başar AKSOY
Gaziantep 2011

II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
KISALTMALAR	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreasın Embriyolojisi	3
2.2. Pankreasın Histolojisi ve Fizyolojisi	3
2.3. Pankreasın Anatomisi	5
2.3.1. Pankreasın Komşulukları	5
2.3.2. Safra ve Pankreatik Kanallar	5
2.3.3. Pankreasın Kanlanması	7
2.3.4. Pankreasın Lenfatik Drenajı	8
2.3.5. Pankreasın Sinirleri	8
2.4. Pankreas Kanserinin Epidemiyolojisi	8
2.5. Pankreas Kanserinin Etyolojisi	9
2.6. Pankreas Kanserinin Patolojisi	11
2.7. Pankreas Kanserinde Moleküler Genetik	13
2.7.1 K-RAS Onkogeni ve Uyarım Yolu	13
2.7.2 Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) Yolu	13
2.7.3 Nükleer faktör κ B (NF κ B)	14
2.7.4 Diğer Ras süperaile GTPazları	14
2.7.5 9p21 Lokusu ve INK4A ve ARF Tümör Süpressörleri	14
2.7.6 p53 Tümör Süpressörü	15
2.7.8 SMAD4/DPC4 tümör süpressörü ve transforming growth faktör β	15
2.7.9 LKB1/STK11 Tümör Süpressörü	16
2.7.10 BRCA2 Tümör Süpressörü	16
2.7.11 PDAC'deki diğer büyüme faktörü reseptör uyarım yolları	16
2.7.11.1 Epidermal Büyüme Faktörü	16

2.7.11.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)	17
2.7.11.3 Met ve Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)	17
2.7.11.4 Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)	17
2.7.12 CDC25 Fosfatazlar (Cell Division Cycle 25) ve Kanser	18
2.8. Pankreas Kanserinin Evrelendirilmesi	19
2.9. Pankreas Kanserinin Klinik Belirtileri	20
2.10. Pankreas Kanserinde Teşhis	20
2.10 Pankreas Kanserinde Tedavi	24
2.10.1 Küratif Tedavi	24
2.10.2 Palyasyon	28
2.10.2.1 Operatif Palyasyon	28
2.10.2.2 Non Operatif Palyasyon	28
2.10.2.3 Operatif ve Non Operatif Palyasyonun	
Kıyaslanması	29
2.10.3 Kemoterapi ve Radyasyon Terapisi	30
2.11 Rekürrens Paternleri	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Numunelerin Temini	33
3.2. DNA ve RNA'ların elde edilmesi	33
3.2.1. Kandan DNA Elde Edilmesi	33
3.2.2. Dokudan DNA Elde Edilmesi	34
3.2.3. Dokudan RNA Elde Edilmesi	34
3.2.4. cDNA Sentezi	35
3.3. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	35
3.4. RFLP (Restriction fragment length polymorphism)	36
3.5. Gen ekspresyonu	38
3.6. İstatistiksel analiz	39
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
7. KAYNAKLAR	49

III. ÖZET
PAKREAS KANSERLERİNDE CDC25A GEN POLİMORFİZMİ
VE EKSPRESYONU

Dr.Başar AKSOY

Uzmanlık Tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç Dr. Sacit ÇOBAN

Şubat 2011, 70 sayfa

Bu çalışmadaki amacımız; pankreas kanserli vakalarda tümöral dokulardaki CDC25A gen ekspresyonu ve polimorfizmini ortaya koyarak CDC25A geni polimorfizmleri ile pankreas kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemektir. Ayrıca, CDC25A geninin ekspresyon seviyesi normal dokuda ve tümör dokusunda belirlenerek bu genin ekspresyon seviyesi ve kanser gelişimi arasındaki olası ilişkinin ortaya konulması hedeflenmektedir. Bu amaçla CDC25A'nın 28 hastada dokuda ekspresyonunu, 118 hastada ise kanda polimorfizmini çalışarak literatür verilerine daha kapsamlı hale getirdik.

Çalışmaya pankreas kanseri tanısı ile opere edilen 28 hasta ve pankreas kanseri tanısı ile takip edilen 90 hasta, toplam 118 pankreas kanserli hasta alındı. Kontrol grubu olarakta 83 tane önceden bilinen kronik bir hastalığı olmayan ve birinci derece akrabalarında kanser hastası olmayan sağlıklı gönüllüler dahil edildi. Hastalardan alınan doku ve kan örnekleri, kontrol grubundan alınan kan örnekleri ile beraber DNA ve RNA izolasyonları yapıldı.

Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için C/C, C/T, T/T genotip frekanslarına ve C ve T allel frekanslarına göre karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için C/C, C/G, G/G genotip frekanslarına ve C ve G allel frekanslarına göre karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Hastalardan operasyon sırasında çıkarılan materyallerinden alınan normal ve tümörlü dokulardan CDC25A gen ekspresyon düzeyi çalışıldı. Referans aralığı >1.5 ise artmış, <0.5 ise azalmış, $0.5-1.5$ aralığı ise normal olarak alındı. Elde edilen ekspresyon değerlerine yapılan istatistiksel çalışmada; kontrol gurubu ile pankreas kanseri gurubu arasında CDC25A gen ekspresyonunun anlamlı olmadığı görüldü ($p<0,05$).

Elde edilen veriler ışığında pankreas kanserinde CDC25A gen polimorfizminde ve ekspresyonu düzeyinde anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Sonuç olarak pankreas kanseri mortalitesi yüksek olan bir hastalık olup, kanser etyolojisinde genetiğin yeri tartışmasızdır. Bundan dolayı polimorfizm ve ekspresyon çalışmalarının devam etmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Pankreas kanseri, CDC25A, Polimorfizm, Ekspresyon.

IV. ABSTRACT
CDC25A GENE POLYMORPHISIM AND EXPRESSION IN
PANKREATIC CANCER
Dr. Başar AKSOY

Residency Thesis; Department of General Surgery

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sacit ÇOBAN

February 2011, 70 pages

The aim of this study, is to determine the relationship between CDC25A gene polymorphism and pancreatic cancer via determining CDC25A gene expression and polymorphisms of tumor tissues of pancreatic cancer cases. Additionally, it is aimed to prove the possible relationship between cancer development and the gene expression level with determining CDC25A gene expression levels in tumor tissue and normal tissue. For this purpose, we tried to make the literature data more comprehensive by determining CDC25A tissue expressions of 28 patients and blood polymorphisms of 118 patients.

One hundred and eighty one patients (patients with pancreatic cancer who received surgery (n=28) and patients with pancreatic surgery who are in follow-up (n=90)) and as a control group, not having any known chronic disease, first degree relatives of not having cancer and healthy volunteers (n=83) were included in this study. Tissue and blood samples obtained from patients and blood samples from control group were applied for DNA and RNA isolation.

There was no significant difference between the two groups; pancreatic cancer group and the control group CDC25A gene SER88PHE polymorphisms were compared according to C/C, C/T, T/T genotype frequencies and allele frequencies of G and A ($p>0.05$). There was no significant difference between the two groups; pancreatic cancer group and the control group CDC25A gene RS3731485 polymorphisms were compared according to C/C, C/G, G/G genotype frequencies and allele frequencies of C and G ($p>0.05$). CDC25A gene expression levels were studied on normal and tumor tissue specimens taken from patients during surgery. Reference Range was taken as high <1.5 , low >0.5 , $0.5<\text{normal}<1.5$. As a result of statistical analyses that were applied the expression data; there were no differences in CDC25A gen expression between control group and pancreatic cancer group ($p<0.05$).

In the light of the data obtained, it is not demonstrated a significant relationship at the CDC25A gene polymorphism and expression in pancreatic cancer. As a result, pancreatic cancer is a disease with high mortality, and the place of genetics in the etiology of cancer is indisputable. Therefore, we think the polymorphism and expression studies should be continued.

Key words: Pancreatic cancer, CDC25A, Polymorphism, Expression

V. KISALTMALAR

- PanIN **è** Pankreatik intraepitelyal neoplazi.
- PDAC **è** Pankreatik Ductal Adenocarsinom.
- K-RAS **è** Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog.
- IPMN **è** İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazmlar.
- ROT **è** Reaktif oksijen türevler.
- MCN **è** Müsinöz kistik neoplazm.
- FAMMM **è** Familial atypical mole-malignant melanoma.
- FGF* **è** Fibroblast Büyüme Faktörü.
- HGF **è** Hepatosit Büyüme Faktörü.
- IGF **è** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü.
- CDC25 **è** Cell Division Cycle 25.
- CAMP **è** Cathelicidin antimicrobial peptide.
- PPPD **è** Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy.
- GITSG **è** Gastrointestinal Tumor Study Group.
- PCR **è** Polymerase Chain Reaction.
- RFLP **è** Restriction Fragment Length Polymorphism.
- RFLP **è** Restriction fragment length polymorphism.
- DNA **è** Deoksiribo Nükleik Asit.
- AJCC **è** American Joint Commision on Cancer.
- TNM **è** Tümör- Nod- Metastaz.
- BT **è** Bilgisayarlı tomografi.
- MRG **è** Manyetik rezonans görüntüleme.
- USG **è** Ultrasonografi.
- CEA **è** Karsino embriyojenik antijen.
- CA **è** Karbonhidrat antijen.
- SMV **è** Süperior mezenterik ven.
- SMA **è** Süperior mezenterik arter.
- MRCP **è** Manyetik rezonans kolanjiopankreato grafi.
- ERCP **è** Endoskopik retrograd kolanjiopankreato grafi.
- PTK **è** Perkutan transhepatik kolanjiografi.
- PET **è** Positron emisyon tomografisi.
- 5-FU **è** 5-Fluorouracil.

RNA è Ribonükleik asit

DM è Diabetes mellitus

KT è Kemoterapi

RT è Radyoterapi

HRM è High Resolution Meelting Curve

V. TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1: Pankreatik tümörler ve ilişkili genetik değişiklikler.....	11
Tablo 2: Tümör-nod-metastaz evreleme kriterleri.....	19
Tablo 3: Seçilmiş Tümör Belirteçlerinin Sensivite ve Spesifiteleri.....	21
Tablo 4: cDNA karışımı.....	35
Tablo 5: Ser88Phe kesim bölgesi.....	36
Tablo 6: RS3731482 kesim bölgesi.....	36
Tablo 7: RS3731485 kesim bölgesi.	37
Tablo 8: Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	40
Tablo 9: Hastaların başvuru sebepleri.....	40
Tablo 10: Hastalardaki ek hastalıkların dağılımı.....	41
Tablo 11: Hastaların tümör belirteçlerinin düzeyleri açısından dağılımı.....	41
Tablo 12: Hastalarda pre operatif kullanılan görüntüleme yöntemlerinin dağılımı.....	42
Tablo 13: Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı.....	42
Tablo 14: Hasta ve kontrol gruplarında, CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için genotip ve allel frekansları dağılımı.....	43
Tablo 15: Hasta ve kontrol gruplarında, CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için genotip ve allel frekansları dağılımı.....	43
Tablo 16: Çalışmaya alınan pankreas kanserli vakalardaki normal ve tümörlü dokunun gen CDC25A gen ekspresyon düzeyleri.....	44
Tablo 17: CDC25A gen ekspresyonu istatistiği.....	45

VI. ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1: Pankreas anatomisi.....	4
Şekil 2: Pankreas komşulukları.....	5
Şekil 3: Safra ve pankreatik kanallar.....	6
Şekil 4: Pankreasın arterleri.....	7
Şekil 5: Pankreasın Venleri.....	7
Şekil 6: PDAC nin prekürsör lezyonları.....	12
Şekil 7: Pankreas başındaki kitleyi gösteren bilgisayarlı tomografi.....	22
Şekil 8: Bilgisayarlı Tomografi, Endoskopik Retrograd Kolankiyopankreatikografi...23	
Şekil 9: Whipple Rezeksiyonu.....	25
Şekil 10: Pankreatikojunostomi tipleri.....	26
Şekil 11: Distal ana safra yolu obstrüksiyonunda non operatif palyasyon amaçlı yerleştirilmiş endobiliyer stent.....	29
Şekil 12: CDC25A geni RS3731482 PCR-RFLP mutasyon analizi.....	37
Şekil 13: CDC25A geni RS3731485 PCR-RFLP mutasyon analizi.....	37
Şekil 14: CDC25A geni Ser88Phe (263C/T) PCR-RFLP mutasyon analiz.....	38
Şekil 15: Çalışmaya alınan pankreas kanserli vakalardaki normal ve tümörlü dokunun gen CDC25A gen ekspresyon yüzdeleri.....	45

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas kanseri, gastrointestinal kanser ile ilişkili mortalitenin en yaygın sebebidir ve Birleşik Devletlerde kanser nedenli ölümlerin en sık dördüncü nedenidir (1). Aynı şekilde, 5 yıllık sağ kalım oranı ne yazık ki %5'den azdır, yaygın olarak etkilenmiş olan hastanın geç prezentasyonu nedeniyledir, bu yüzden de terapötik girişimi zorlaştırır(2). Potansiyel tedavi için tek metot cerrahi rezeksiyondur, bununla birlikte bu sadece pankreas kanseri olan hastaların sadece %10-20'sine uygulanır(3). Pankreatoduedonektomi (Whipple prosedürü) uygulanan hastalardaki 5 yıllık sağ kalım iyileşmiştir ve %20'ye yaklaşmıştır(4). Önemli olarak çapı 2 cm'den küçük olan kanserler pankreasa sınırlı olduğunda ve erken safhada tespit edildiğinde, 5 yıllık sağ kalım daha yüksektir ve %46'ya yaklaşabilir(4). Bu amaç için, ortalama veya yüksek riskteki hastalardaki preneoplastik lezyonlar (pankreatik intraepitelyal neoplazi veya PanIN olarak isimlendirilmiştir) da dahil çok erken safhadaki pankreas kanserinin tespiti, pankreas kanser mortalitesinin azaltılmasına anlamlı katkıda bulunma fırsatları sağlayabilir.

Kanserlerin çoğunun gelişiminde yaklaşık 10-20 yıllık bir dönem vardır ve bu dönem önleyici sağaltım için yeterli bir süreçtir.CDC25A'nın pek çok insan kanserinde aşırı eksprese olduğu bildirilmiştir. Hatta bu genin aşırı ekspresyonu hastalığın aşırı agresifliği ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (5).

CDC25 fosfatazlar hücre farklılaşması, tümörijeniz, kontrol noktası ve apoptoziste görev alır (6). Hücrenin akıbetinin ne olacağı yönündeki rollerinden dolayı CDC25 fosfatazlar hücre bölünme siklusu boyunca sıkıca regüle edilmelidirler. Ayrıca hücre siklusunun ilerlemesini durdurmak ve hücreye DNA tamiri ya da apoptozis için zaman tanımak amacıyla kontrol noktası aktivasyon cevabında CDC25 fosfatazlar inaktive edilmelidirler. Bu işlemlerden herhangi birinin yanlış düzenlenmesi genomik kararsızlıkla sonuçlanabilir.

Baş ve boyun kanserleri ile ilgili yapılan bir çalışmada CDC25A ve CDC25B'nin aşırı ekspresyonunu kantitatif RT-PCR metoduyla çalışmışlar. Vakaların %80'inde CDC25A mRNA'sının aşırı eksprese olduğu ve %55'inde normal mukoza kontrolüyle karşılaştırıldığında 5 kat daha fazla eksprese olduğu rapor edilmiştir (7).İnsan gastrik karsinomlarda da CDC25A ve CDC25B'nin aşırı ekspresyonuyla gösterilmiştir (8).

Yapılan başka bir çalışmada insan kolorektal kanserlerinde CDC25 fosfatazların üç izoformunun ve ayrıca onların splay varyantlarının gen yapıları, mRNA ve protein ekspresyonları çalışılmış ve hastaların gelişimi ve de tümörün patolojik karakteristikleriyle ilişkileri değerlendirilmiştir. Bu fosfatazların kolorektal karsinomlarda farklı regüle edildiği ve tümörlerin gelişiminde yer alabilecekleri gösterilmiştir. Ekspresyon seviyelerinin hastanın yaşam süresi ve klinikopatolojik karakteristikleriyle korele olduğu bulunmuştur (9).

CDC25A'nın erken dönem meme kanseri vakalarının %47'sinde aşırı eksprese olduğunu ve bu durumun kötüye gidişle ilişkili olduğunu bildirilmiştir (10).

Yine meme kanserinde CDC25A ve CDC25B'nin ekspresyon seviyelerinin immüno-histokimyasal olarak araştırıldığı bir diğer çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Vakaların %69.6'sında CDC25A seviyesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (11).

Pek çok kanser türünde gözlenen aşırı ekspresyon seviyesi ve hücre siklus kontrolündeki kritik rolünden dolayı CDC25A fosfatazın kanser teşhis ve tedavisinde yeri olacağı düşünülmektedir. Bir çok kanser olgusunda CDC25A çalışılmış ve yüksek bulunmuş olmasına rağmen pankreas kanserlerinde sadece bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada ise CDC25 gen ailesinden CDC25B ekspresyonunun yüksek olduğu A ve C nin ise diğer kanser olgularının aksine normal olduğu belirtilmiştir. Çalışmada 48 hastanın verileri değerlendirilmiş ve sadece gen ekspresyonu çalışması yapılmıştır (12).

Bu çalışmadaki amacımız; pankreas kanserli vakalarda tümöral dokulardaki CDC25A gen ekspresyonu ve polimorfizmini ortaya koyarak CDC25A geni polimorfizmleri ile pankreas kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemektir. Ayrıca, CDC25A geninin ekspresyon seviyesi normal dokuda ve tümör dokusunda belirlenerek bu genin ekspresyon seviyesi ve kanser gelişimi arasındaki olası ilişkinin ortaya konulması hedeflenmektedir. Bu amaçla CDC25A'nın 28 hastada dokuda ekspresyonunu, 118 hastada ise kanda polimorfizmini çalışarak literatür verilerine daha kapsamlı hale getirdik.

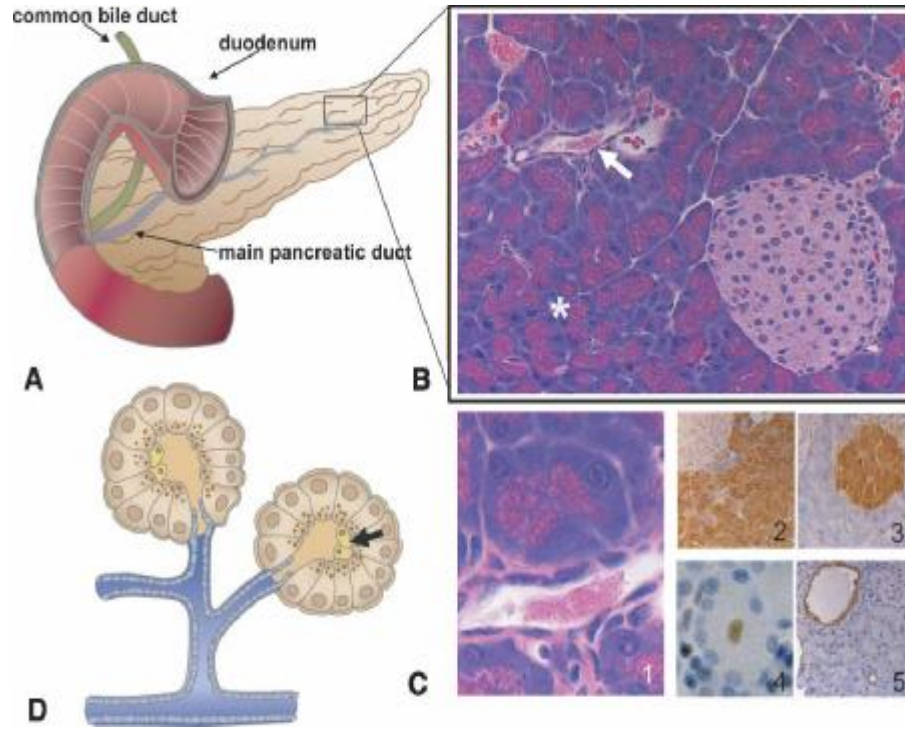
2-GENEL BİLGİLER

2.1 Pankreasın Embriyolojisi

Pankreas, fetal hayatın dördüncü haftasında ön barsağın kaudal kısmından arka ve ön pankreas tomurcukları olarak çıkar. Her iki çıkıntı da sağa döner ve ventral pankreasın çıktığı noktanın yanında birbiriyle birleşir. Daha sonra duodenum döndükçe pankreas da sola kayar. Erişkinde sadece başın kaudal kısmı ve processus uncinatus ön pankreastan kaynaklanır. Başın kranial parçası, gövdenin tümü ve kuyruk dorsal pankreastan çıkar. Dorsal pankreas kanalının büyük kısmı ventral pankreas kanalı ile birleşir ve ana pankreas kanalını (Wirsung) oluşturur. Küçük bir kısım aksesuar kanal (Santorini) olarak kalır. İnsanların % 5-10'unda ventral ve dorsal pankreas kanalları birleşmez ve pankreas bölgelerinin çoğu Santorini kanalı ile minor papillaya açılır. Sadece ventral pankreasın küçük bir kısmı safra kanalı ile ortak olarak papilla vateriye açılır (13).

2.2 Pankreasın Histoloji ve Fizyolojisi

Endodermal kökenli bir organ olan pankreas, protein ve karbonhidrat sindiriminin ve glukoz dengesinin ana düzenleyicisidir (Şekil 1). Ekzokrin pankreas (Organ doku kitlesinin %80'i) sindirici zimojenleri (tripsinojen, kimotripsinojen, karboksipeptidaz, deoksiribonükleaz, ribonükleaz, triaçilgliserol lipaz, fosfolipaz A2, elaztaz ve amilaz) üretilip gastrointestinal sisteme gönderen duktal ve asiner hücrelerin dallanmış ağından meydana gelir. Duktal ağ boyunca fonksiyonel birimler şeklinde sıralanan asiner hücreler, mide ve duodenumdan gelen uyarılara cevap olarak zimojenleri sentezler ve bunları duktal lümeneye sekrete ederler. Asiner ünite sınırları içinde duktus yakınındaki hücreler sentroasiner hücrelerdir. Kan dolaşımına gönderilen hormonların sekresyon yoluyla metabolizma ve glukoz dengesini düzenleyen endokrin pankreas, özelleşmiş dört endokrin hücre tipinin bir araya gelerek meydana getirdiği Langerhans adacıklarından oluşur. Langerhans adacıklarında α hücreleri glukagon, β hücreleri insülin, D hücreleri somatostatin, PP hücreleri de pankreatik polipeptid salgılar (14).



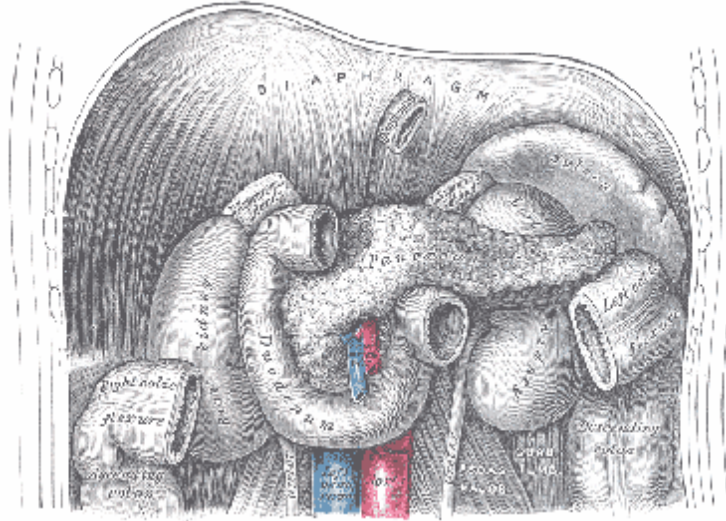
Şekil 1: Pankreas anatomisi.

Pankreas, iki temel fizyolojik işleyişi düzenleyen farklı fonksiyonel birimlerden oluşur: sindirim ve glukoz metabolizması. (A) Pankreasın duodenum ve ana safra yoluyla yakın komşuluğunu gösteren gros anatomisi. (B) Histolojik seviyede pankreatik parankimin temel bileşenleri. *Sağ altta* temel olarak işlevi glukoz homeostazını sağlamak olan pankreasın endokrin bölümü Langerhans adacığı. Yıldız işareti, duktuslara (ok işareti ile gösterilmiştir) çeşitli sindirim enzimleri (zimojenler) salgılama ile görevli asinüsler arasına yerleştirilmiştir. (C) Çeşitli hücre tiplerini gösteren pankreatik dokulara ait H&E ve immünohistokimyasal boyalı kesitlerin fotomikrografları. (Panel 1) Duktus ile komşu bir asiner birim. (Panel 2) Amilaz antikoruna ile görünür hale getirilmiş asiner birimler Diaminobenzidin boyaması nedeniyle kahverengi görünmekte. (Panel 3) Langerhans adacığı, insülin antikoruna ile boyanmış olarak görünmekte. (Panel 4) Güçlü Hes1 boyaması gösteren bir sentroasiner hücre. (Panel 5) Duktal hücreler (burada çapraz kesitte görünmektedir) sitokeratin-19 antikoruna ile boyanmış. (D) Bir asiner birimin pankreatik duktuslara olan komşuluğunu gösterir temsili. Aynı zamanda duktus ve asinüslerin bağlantı noktasında bulunan sentroasiner hücreler de betimlenmiştir (ok).

2.3 Pankreasın Anatomisi

2.3.1 Pankreasın Komşulukları

Pankreas midenin arkasında, sağında duodenum, solunda dalak olmak üzere retroperitonda transvers olarak uzanır. Pankresa kabaca, uncinatproses ile birlikte olan baş, boyun, gövde ve kuyruk kısımlarına bölünür. Baş, orta hatta ikinci lomber vertebra hizasında uzanır. Başın posterior yüzeyi sağ böbreğin medial kenarının yanında, sağ renal damarların ve inferior vena kavanın üzerinde bulunur. Unsinatproses, portal ven ve süperior mezenterik damarların arkasında posteriora ve bezin başının soluna uzanır. Bezin gövdesiyle başını birleştiren boyun süperior mezenterik damarlar ve portal venin önündedir. Süperior mezenterik ve portal venin ön yüzü ile pankreasın boyun kısmının posterioru arasında genellikle dallar yoktur. Böylece pankreas başının rezeksiyonu sırasında ikisi künt diseksiyon ile emniyetle ayrılabilir. Pankreasın gövdesi birinci lomber vertebra hizasında uzanır ve süperior mezenterik venin sol sınırından başlar. Posterior yüzü aorta, sol adrenal bez ve böbrek, sol renal damarlar ve üst sınırında uzanan splenik arter ve venle temas halindedir. Pankreasın kuyruğu onikinci torasik vertebra arasında uzanır ve ucu dalak hilusuna ulaşır (Şekil 2).



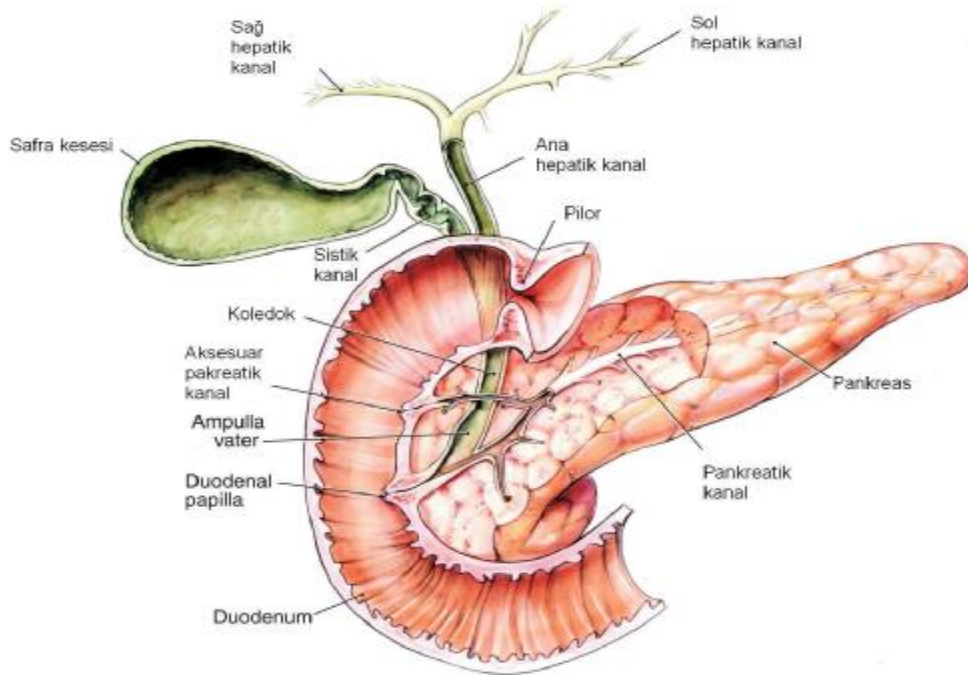
Şekil 2: Pankreas komşulukları.

2.3.2 Safra ve Pankreatik Kanallar

Ana safra kanalı duodenuma giderken pankreas başının posteriorundan geçer ve vakaların % 70' den fazlasında kısmen veya tam olarak pankreas ile sarılır. Kanal duodenal duvara girer ve burada 1,5 cm kadar ilerler. Ana pankreatik kanal (Wirsung) pankreasın kuyruğundan başlar ve safra kanalının altından duodenuma girer. İki kanal

ortak kanal şeklinde birleşmeden önce birkaç milimetre boyunca yan yana uzanır. Tek pankreatobilier kanal, duodenumun ikinci kısmının posteromedial duvarındaki Vater papillasından duodenal lümenine açılır. Vater ampullası papilla içindeki ortak pankreatikobilier kanalın genişlemesidir ve iki kanalın birleşim yerinin distalindedir. Ampulla vakaların %90'ında bulunur ve genellikle oldukça kısadır (5 mm veya daha az). İnsanların %10'unda her bir kanal duodenuma ayrı ayrı boşalır ve ampulla bulunmaz. Aksesuar pankreas kanalı (Santorini) genellikle pankreas başının ön ve üst kısmını drene eder. Vakaların %60'ında duodenum Vater papillasının 2 cm kranial ve hafifçe anteriorundaki minör papilladan geçer. Aksesuar kanal Wirsung kanalıyla sıklıkla bağlantı gösterdiğinden drenaj minör veya majör papiladan olabilir.

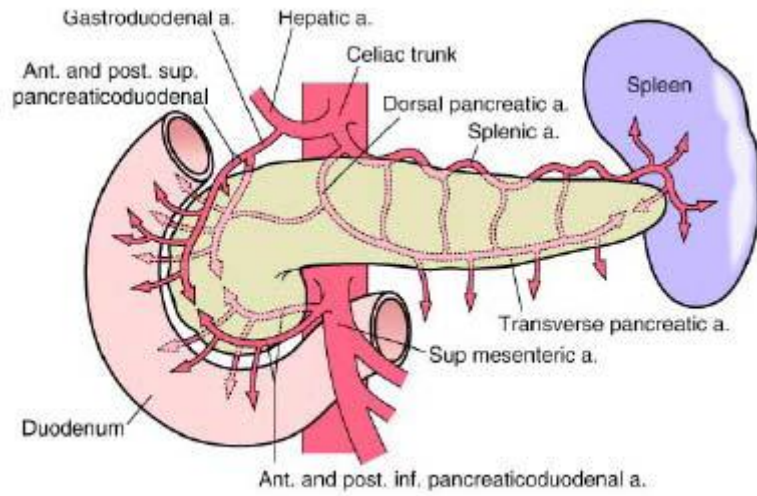
Duktal anatomide çok değişik varyasyonlar olabilir ancak normal insanların %10 kadarında görülen pankreas divisum nadiren hastalığa yol açar. Pankreas divisum embriyolojik dorsal ve ventral pankreatik kanallar birleşmediği ve ana pankreatik kanalın minör papilladan drene olduğu durumdur (Şekil 3).



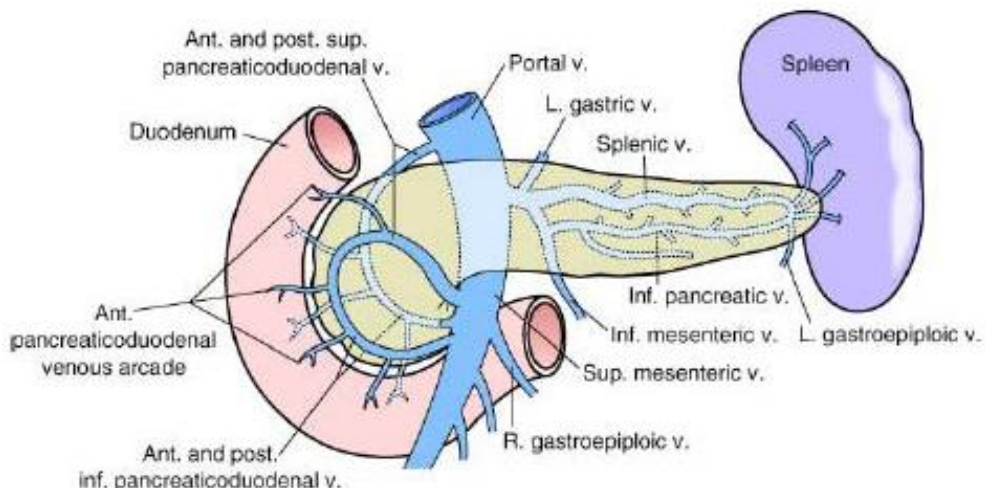
Şekil 3: Safra ve pankreatik kanallar.

2.3.3 Pankreasın kanlanması

Pankreasın arterleri gastroduodenal arter, superior mesenterik arter ve splenik arter dallarıdır. Baş kısmım yukarıda gastroduodeni arterden çıkan superior anterior-posterior pankreatikoduodenal arterler ve aşağıda superior mesenterik arterden çıkan inferior anterior-posterior pankreatikoduodenal arterler besler. Bezin gövde ve kuyruk kısımları splenik arterden çıkan küçük dallardan beslenir (Şekil 4). Pankreasın venleri arterlerle yandaştırılır ve aynı isimleri alarak vena porta, splenik ven, süperior ve inferior mezenterik venlere dökülürler (Şekil 5).



Şekil 4: Pankreasın arterleri.



Şekil 5: Pankreasın Venleri.

2.3.4 Pankreasın Lenfatik Drenajı

Pankreasın lenfatik drenajı zengindir ve venöz drenajı izleyerek heryöne doğrudur. Superior nodlar glandın üst sınırında olup anterior ve superior üst yarıyı drene ederler. İnferior nodlar, baş ve gövdenin inferior marjinde olup alt kenarın anterior ve posterior yarısını drene ederler. Anterior nodlar, pankreas başının anterior yüzeyini drene eder. Lokalizasyonları ise pilorun altında, önde pankreas ve duodenumun arasındaki yarıktaki ve transvers kolonun mezenter kökünde yer alırlar. Posterior nodlar, pankreas başının posterior yüzeyini drene ederler. Lokalizasyonlar ise posteriorda pankreas ve duodenumun arasındaki yarıktaki, koledok ve aort komşulunda, çölyak arter ve süperior mezenterik arterin çıkış yeri boyunca yerleşmişlerdir. Splenik nodlar kuyruk kısmını drene ederler. Lenfatik drenaj pankreas ca yayılımı açısından önem taşır ve en sıklıkla baş kısmından yayılırlar. Çoğu pankreas ca lı hastalar teşhis anında splenik node hariç nodal metastazlara sahiptir.

2.3.5 Pankreasın Sinirleri

Pankreasa sempatik uyarı splanknik sinirlerden; parasempatik uyarı ise vagus yolu ile olur (posterior vagus gövdesinin çölyak dalı). Genelde sinirler kan damarlarını ve kanalları takip ederek acinilere dek ulaşırlar. Splanknik sinirler ayrıca beraberlerinde visceral afferent ağrı liflerini de taşırlar. Pankreatik ağrıda vagusun afferent liflerinin rolü bilinmemektedir. Pankreatit veya pankreas ca ağrısı tedavisinde celiac ganglion hasarlanması yapılabilmektedir ve başarısı da değişkendir (15).

2.4 Pankreas Kanserinin Epidemiyolojisi

1930'lerden 1980'lere pankreatik kanser insidansında ikiye katlanma olmasına karşın, son on yılda bilinmeyen sebeplerden dolayı bu oranın pik yaparak 100.000'de sekize çıktığı görülmektedir (16). Pankreatik kanser insidansının en yüksek olduğu topluluk Los Angeles'daki Koreliler iken (100.000'de 16,4), en düşük olduğu ülke ise Hindistan'dır (100.000'de 0,7) (17). Şu anda ABD'de pankreas kanseri en sık dokuzuncu kanser iken, kanser ile ilişkili ölümlerin en sık dördüncü sebebidir. Araştırmanın yapıldığı ülkede pankreas kanseri beyazlara oranla siyahlarda daha sık görülmekte ve insidansı yedinci ve sekizinci dekadlarda pik yapmaktadır. Pankreasın tipik duktal adenokarsinomu 40 yaş altı hastalarda da görülebilmekteyse de, bu oldukça nadirdir (18).

2.5 Pankreas Kanserinin Etiyolojisi

PDAC yalnızca birkaç bilinen demografik ve çevresel risk faktörü ve az miktardaki otozomal dominant genetik durum ile ilişkilidir. Pek çok çalışma ilerlemiş yaş, sigara kullanma ve uzun süreli kronik pankreatitin kesin risk faktörleri olduğunu kanıtlamış; diyabet ve obezitenin de artmış riske neden olabileceği sonucuna varılmıştır (19). Kahve tüketiminin etkisi bilinmemektedir ayrıca mevcut veriler alkol alımının yada herhangi bir meslekî maruziyetin doğrudan etkisini desteklememektedir. Bilinen bir gıda koruyucusu olan nitrozaminden zengin diyetle beslenen hamsterlarda pankreatik ekzokrin malignensiler indüklenmiş olmasına karşın, çevresel faktörlerin pankreatik karsinogeneizde rol oynayıp oynamadığı bilinmezliğini korumaktadır (20).

Daha önce geçirilen gastrektomi ile pankreas kanseri arasındaki ilişki kesinken, bu durumun pankreatit ile ilişkisi henüz kesinlik kazanmamış bir konudur (21). Uluslar Arası Pankreatit Çalışma Grubu'nun son dönemde yaptığı çok uluslu kohort çalışması kronik pankreatit varlığında pankreas kanserine yakalanma riskinin belirgin olarak arttığı sonucuna varmıştır. God ve Camaron metotla ilişkili problemler nedeniyle bu araştırmayı eleştirmişlerdir. Buna ek olarak, kronik pankreatitli hastalardaki çok düşük pankreas kanseri insidansını öngörerek (ABD'de her yıl 24 vaka) bu çalışmayı daha da önemsiz göstermişlerdir (22, 23). Bu konu oldukça büyük bir öneme sahiptir çünkü pankreas kanseri prezentasyonu ve radyolojik görünümü olarak kronik pankreatiti taklit edebilir.

Gen mutasyonları ve diğer kazanılmış kromozom anomalileri artan sıklıkla tarif edilmeye devam edilmektedir. Tümör süpresyon geni p53'ün ve onkogen KRAS'ın ekspresyon anomalileri şu ana kadar tanımlanmış en sık mutasyonlar olarak görülmektedir, her bir mutasyon hastaların %50'sinden fazlasında meydana gelmektedir. Nükleer anöplodi gibi multipl kromozomlu anormal karyotipler en çok az diferansiye tümörlerde görülmektedir (24, 25).

Artmış risk aynı zamanda PDAC hastalarının yakınlarında da gösterilmiş ve PDAC vakalarının %10'unun ailesel kümelenmeye dayanan genetik predispozisyon ile ilişkili olduğu tahmin edilmiştir (26). Bununla uyumlu şekilde tümör süpresör genlerinden INK4A, BRCA2 ve LKB1'deki, DNA mismatch tamir geni MLH1'deki ve katyonik tripsinojen geni PRSS1'deki germline mutasyonlar, ailesel PDAC ile bağlantılıdır (27). BRCA1 mutasyonu PDAC riskini artırıyorsa da bu risk BRCA2 ile kıyaslandığında düşüktür (28). PDAC'nin düşük penetransı ve sözü edilen germline mutasyonları ile ilişkili vakaların tipik başlangıç yaşı ışığında bu genetik bozuklukların

kanseri başlatmaktan ziyade, malign ilerleyiş üzerine etki yaptıkları söylenebilir. Bu hipotezi destekler nitelikte, INK4A ve BRCA2 mutasyonları erken evre sporadik PDCA premalign lezyonlarda tespit edilmemiş ancak yalnızca geç orta evre veya ileri evre pankreatik intraepiteelyal neoplazm (PanIN)'de bulunmuştur (29). Buna ek olarak, germline INK4A mutasyonuna uğratılmış fareler, aktive K-RAS mutasyonları ile bir arada bulunmadıkça PDAC geliştirmemişlerdir (Tablo 1).

Nadir ailelerde PDAC'nin yüksek penetranslı otozomal dominant genler tarafından oluşturulmasının gösterdiği üzere, alışılmamış predispozan genler de mevcuttur (30). Bir ailede 4q 32-34 lokusu diyabet, pankreatit ve ekzokrik yetmezlik ve penetransı %100'e varan PDAC gelişimi ile ilişkiliydi (31). Bu sendrom ile ilişkili olan gen henüz tanımlanmamıştır. Dahası, pankreatit yatkınlığını arttıran genler, yüksek PDAC sıklığı ile ilişkilidir. Katyonik tripsinojen geni olan PRSS1'deki germline mutasyonunun neden olduğu herediter pankreatitli hastalarda PDAC görülme sıklığı 53 kat artmıştır (32). Kistik fibrozis genindeki (CFTR) mutasyonlar ile PDAC arasında da bir bağ vardır. Heterozigot CFTR mutasyonları pankreas kanseri için bilinen bir risk olan kronik pankreatit ile ilişkilidir. Geçtiğimiz günlerde, erken başlangıç evresindeki PDAC vakalarında mutant allelin tespit edilmesiyle CFTR mutasyonu ve kanser arasında doğrudan bir bağlantı olduğu ispatlanmıştır. Daha önceki çalışmalar böylesi bir bağlantıyı kesin olarak tanımlayamamışlardır, ancak bunun nedeni az sayıda vaka ile çalışmaları ve sınırlı mutasyonel analiz yapmış olmaları olabilir (33-37).

Birbirinden ayrı bu genetik durumların nasıl PDAC'ye yol açtığı henüz anlaşılamamış olmasıyla beraber, ekzokrin yetmezlik ve pankreatitin ortak bir patofizyolojik yolla PDAC'ye neden oluşu da ilgi çekicidir. Ekzokrin organ disfonksiyonu ve pankreatit büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve reaktif oksijen türevlerinin (ROT) lokal salınımını ve bu sayede hücre proliferasyonunu sağlayarak, hücre diferansiyonunu bozarak ve onkojenik mutasyonlara yol açarak tümörögenезisi tetikleyebilir. Bu hipotezi destekleyen başka bir bulgu da kronik pankreatitli hastaların üçte birinde aktive olan K-RAS mutasyonlarının saptanabiliyor olmasıdır (38). Fare modellerinde bulunan diğer bulgular da duktal prekürsel hücre grubu varlığını ve bu hücrelerin genişleyerek organ hasarına neden olduğunu göstermektedir. Pankreatik inflamasyon ya da kanser durumunda ortaya çıkan "kök hücre" benzeri hücrelerden oluşan grup, protoonkojenlerin ve tümör süpressör genlerin somatik mutasyonları sonucu ortaya çıkan onkogenik transformasyona duyarlı bir alt popülasyonu temsil ediyor olabilir (39).

2.6 Pankreas Kanserinin Patolojisi

Pankreasın fizyolojik ve hücrel çeşitliliğinin bir sonucu olarak normal hücrel bileşenlerin özelliklerini çağrıştıran histolojik ve moleküler özelliklere sahip pankreatik malignansiler görülür. Bu çok sayıdaki tümör tipleri ve ayırt edici özellikleri Tablo1’de gösterilmiştir. İsmi duktal hücrelere olan benzerliğinden alan pankreatik duktal adenokarsinoma (PDAC), en sık görülen pankreatik neoplazmdır ve tümör vakalarının %85’inden fazlasını kapsar (40, 41).

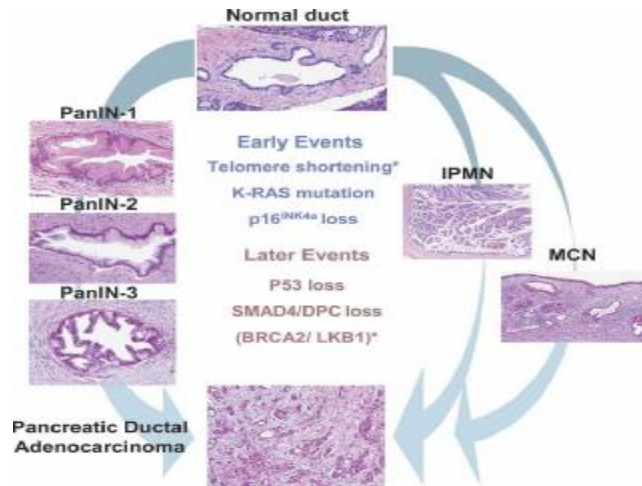
Tablo 1: Pankreatik tümörler ve ilişkili genetik değişiklikler

Pankreatik neoplazm	Histolojik özellikler	Genel genetik değişiklikler
Duktal adenokarsinoma^a Duktal adenokarsinoma varyantları a. Medüller karsinoma b. Koloid (müsinöz nonkistik) karsinoma Asiner hücreli karsinoma Pankreatoblastoma Solid psödopapiller neoplazm Seröz kistadenoma Pankreatik endokrin tümörler	Duktal morfoloji; desmoplazi Az diferansiye, intratümörel lenfositler.Müsin havuzları Zimojen granüller Squamoid kümeler, çok kökenli diferansiyasyon “Psödo” papillerler, solid ve kistik alanlar, hyalin kürecikler Multiloküler kistler; glikojenden zengin epitelyum Hormon üretimi	K-RAS, p16 ^{INK4a} , TP53, SMAD4 hMLH1, hMSH2 MUC2 aşırı ekspresyonu APC/β-katenin APC/β-katenin APC/β-katenin, CD10 ekspresyonu VHL MEN1
Anirban Maitra’dan alıntılanmıştır. Hruban ve arkadaşları (2006)’ndan uyarlanmıştır. ^a İnvazif duktal adenokarsinomaların tanımlanmış üç prekürsör lezyonu vardır: PanIN’ler, IPMN’ler ve MCN’ler. Pankreasın koloid karsinomaları neredeyse her zaman IPMN arkaplanında gelişir.		

PDAC genellikle pankreas başında ortaya çıkar ve lenfatikler, dalak, peritoneal boşluk gibi çevre dokulara yayılır ve karaciğer ve akciğere metastaz yapar. Hastalık, desmoplazi olarak isimlendirilen fibroblast ve inflamatuvar hücrelerden oluşan yoğun stroma varlığı ile karakterizedir. Pankreatik stellat hücreler, fibroblast özelliği taşıyan normal pankreasta bulunan bir hücre grubudur, bu hücreler deneysel modellerde pankreatik hasara verdiği yanıt ve kanser oluşumu için desmoplastik cavaba yaptığı olası katkılar açısından değerlendirilmişlerdir (42). PDAC en çok duktus benzeri yapılara ve değişen derecelerde hücrel atipi ve diferansiyasyonlara sahip glandüler bir form sergiler (Şekil 2). PDAC’nin daha nadir görülen alt tipleri arasında koloid, adenoskuamoz ve sarkomatoid histolojiler bulunur. Tek bir tümörde sıklıkla histoloji,

tümör evresi ve diferansiyasyon derecesi arasında bölgesel farklılıklar vardır. En küçük primer lezyonların bile perinöral ve lenfatik invazyonla kendini göstermesi erken uzak yayılıma karşı eğilimi akla getirmektedir.

Klinik ve histopatolojik çalışmalar üç PDAC prekürsör lezyon tanımlamıştır (Şekil 6): PanIN, müsinöz kistik neoplazm (MCN) ve intraduktal papiller müsinöz neoplazm (IPMN) (43, 44). Bu üç prekürsör lezyon arasında en yaygın olanı ve üzerinde en çok çalışma yapılanı küçük çaplı duktuslarda bulunan PanIN'dir. Otopsi çalışmaları ve cerrahi rezeksiyon yapılan vakalardan elde edilen pankreas örnekleri incelendiğinde PanIN'in ileri yaş yetişkinlerdeki en sık bulgu olduğu görülmüştür, örneklerin yaklaşık %30'unda PanIN'e rastlanmıştır. PDAC'li hastalarda gösterilen artmış PanIN insidansının ilk başta hastalar arasındaki biyolojik yakınlığa bağlı olduğu düşünülmüştür. PanIN'ler normal duktuslara oranla ayrı morfolojik değişiklik spektrumu gösterirler ve bu spektrumda evrelendirme, artan displastik büyümeye göre yapılır. PanIN'ler I'den III'e kadar evrelendirilirler. En erken evre kolumnar, müsinöz epitelyum ile karakterizedir ve evre II ve III'e gidildikçe yapısal düzensizlikler ve nükleer atipi belirginleşir. Yüksek evre PanIN'ler sonunda bazal membranı geçen yayılım göstererek bilindik PDAC'ye dönüşürler. Daha sonra yapılan pek çok moleküler belirleme çalışmaları PanIN – PDAC ilerleyiş modelini ileri evre PanIN'lerde gen değişimlerinin sayılarının arttığını göstererek desteklediler.



Şekil 6: PDAC nin prekürsör lezyonları. (45-51).

2.7 Pankreas Kanserinde Moleküler Genetik

PDAC'ye yönelik moleküler analizler, bilinen kanser genlerinin de sıklıkla dahil olduğu ve klasik kanser uyarım kaskadlarının bulunduğunu göstermiştir. Çoğu vakada, bu moleküler olaylar, PDAC progresyonunun bilinen histopatolojik evreleri ile bağlantılıdır. Bu genetik değişimlerin çoğunun PDAC patogeneğinde yeri olduğu gösterilmişken, cevap bekleyen sorular bu mutasyonların tümörlerin biyolojik özelliklerine nasıl katkıda bulunduğudur.

2.7.1 K-RAS Onkogeni ve Uyarım Yolu

K-RAS, aralarında proliferasyon, diferansiyasyon ve hayatta kalmanın da bulunduğu çeşitli hücresel işleve aracılık eden GTP bağlayıcı proteinlerden olan RAS ailesinin bir üyesidir (52, 53). RAS bir GTPaz olsa da, intrinsik aktivitesi yetersizdir ve GTP hidrolizini sağlamak ve sonraki uyarımı azaltmak için GTPaz aktive edici proteinlere (GAP) ihtiyaç duyar. 12. kodondaki K-RAS nokta mutasyonu (GGT'den GAT'ye yada GTT'ye, daha nadir olarak CGT'ye.) glisinin aspartat, valin yada arginin ile yer değiştirmesi ile sonuçlanır. Bu mutasyonlar, bilinen ilk genetik değişikliklerdir, normal pankreas dokusunda sporadik olarak meydana gelirler ve erken evre neoplazmların yaklaşık yüzde 30'unda görülürken ileri evre PDAC'lerde bu oran neredeyse %100'dür (54, 55). K-RAS^{G12D} mutasyonunun patojenik rolü ile tutarlı olarak, bu aktive edilmiş K-RAS allellinin pankreas spesifik ekspresyonunu yapması için değiştirilmiş fareler, uygun tümör süpresör zemininde PDAC'ye ilerleyebilen klasik PanIN lezyonları taşımışlardır.

2.7.2 Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) Yolu

RAS ile aktiveleştirilebilen PI3K uyarı yolu (50), hücre hayatta kalımını, boyutunu ve proliferasyonu düzenlemektedir. PI3K alt efektörlerinin, PDAC'lerin %10-20'sinde artmıştır (57-60). İşlevsel olarak, zenograft deneylerde PDAC dizilerinin büyümesini engelleyen antisens oligonükleotidlerinin kullanımıyla bu artışın PDAC hücre dizilerindeki önemi ortaya çıkmıştır (51). Ek olarak PI3K'nin farmakolojik inhibisyonunun PDAC hücre sıralarının TNF- α aracılıklı apoptozda olduğu gibi kemoterapiye olan hassasiyetini arttırdığı ve serum aracılıklı proliferasyonu azalttığı tahmin edilmektedir (61-63).

2.7.3 Nükleer faktör κB (NFκB)

NFκB transkripsiyon faktörü, PDAC’de mutasyona uğramış K-RAS iletiminin önemli bir alt yol mediatörü olabilir (64). Bu yolun aktifleşmesi çeşitli hücresel streslere cevaben proinflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin stimülasyonu yoluyla gerçekleşir ve immün cevabın, apoptozisin ve pek çok diğer sürecin düzenleyicisi olduğu bilinmektedir (65, 67). Esas NFκB aktivitesi pek çok kanser türünde gözlemlenmektedir, bu kanserlerde hücre hayatta kalımına, anjiyogenezise ve invazyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir (68). Çoğu primer pankreatik kanserler ve hücre dizilerinde olan ve normal pankreas örneklerinde bulunmayan NFκB aktivitesi gözlenmiştir (69, 70).

2.7.4 Diğer Ras süperaile GTPazları

GTPaz RAS süperailesi en az 150 üye içermektedir ve beş altı aileye bölünmüştür. GTPaz’lardan RHO ailesi bazı önemli hücresel süreçlerle ilişkilidirler. Bunlar arasında aktin hücre iskeleti düzenlemesi, hücre boyutu, proliferasyonu, hayatta kalımı, polaritesi ve membran alışverişi sayılabilir (71, 72).

GTPaz inaktive edici mutasyonlara sahip RHO proteinleri fare fibroblastlarını farklılaştırmış ve dominant negatif RHO aile mutantları kullanılan çalışmalar da dokuları tahrip eden fibroblastların RAS transformasyonu için gerekli olduklarını göstermiştir. RHO ailesi üyelerinin aktive edilen mutasyonları insan kanserlerinde gösterilmemiştir; ancak RHO-C’nin aşırı ekspresyonu PDAC tümör metastazı ve prognozu ile korelasyon göstermiştir (73).

Bulguların büyük bir kısmı K-RAS ve onun pek çok alt yol efektörlerinin PDAC başlangıcı ve ilerletilmesinde rolü olduğunu desteklemektedir. Bu önemli konumu göz önünde alındığında, tam olarak hangi K-RAS efektör yolunun hangi yönden tümör gelişimi için önemli olduğunun belirlenmesi gelecekteki tedavi stratejileri için hayati önem arz etmektedir.

2.7.5 9p21 Lokusu ve INK4A ve ARF Tümör Süpressörleri

INK4A fonksiyon kaybı mutasyonla, delesyonla veya promoter hipermetilasyonu ile sporadik PDAC’lerin %85-60’ında görülmektedir (74, 75). INK4A kaybı genellikle displazi özellikleri gösteren orta derece ilerlemiş bozukluklarda görülmektedir. INK4A’daki germline mutasyonları yüksek melanoma insidansı ile beraber 13 kat artmış pankreas kanseri ile karakterize olan Ailesel Atipik Nevüs -

Malign melanoma (Familial atypical mole-malignant melanoma = FAMMM) sendromu ile ilişkilidir (76, 77). Pankreas kanserinin ortaya çıkışı ve başlangıç yaşı INK4A mutasyonuna sahip akrabalar arasında değişkendir, bu da hastalık penetransının çevresel bir faktör tarafından düzenleyici rolü olduğunu akla getirmektedir (78, 79). Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4) gibi INK4A bağlanmasını engelleyen ya da henüz tanımlanamamış lokuslar gibi INK4A dışında mutant lokuslara sahip FAMMM'lı bireylerde artmış PDAC insidansı görülmez (80, 81), bu da akla INK4A'nın G1 CDK aktivitesini düzenlemek dışındaki mekanizmalarla pankreatik karsinogeneziye rol aldığını getirmektedir. PDAC gelişiminde KRAS ile birlikte çalıştığını ve eş zamanlı p53 mutasyonları zemininde tümör ilerleyişini hızlandığını göstererek bu araştırmalar PDAC patogeneziindeki INK4A bağlantısını desteklemiştir (82).

2.7.6 p53 Tümör Süpressörü

p53 tümör süpressör geni PDAC vakalarının %50'den fazlasında mutanttır, bunun sebebi genellikle DNA bağlayıcı alandaki yanlış anlam mutasyonudur (83). Malign ilerleyişe gidişteki rolü ile tutarlı şekilde, p53 mutasyonu önemli displazi özellikleri kazanmış ileri evre PanIN'lerde ortaya çıkmaktadır (84, 85). Daha ileri böyle PanIN'lerde, p53'ü elimine etmek üzere yapılan selektif baskı, genetik hasarın ortak kümelenmesinden, telomer erozyonu ve ROS'tan (örneğin p53 bağımlı DNA hasar kontrol noktası cevapları) kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, p53 işlevindeki kayıp prokarsinogenik kromozal bozukluklar taşıyan hücrelerin büyüme ve hayatta kalımına olanak tanıyabilir. İnsan PDAC'nin derin anöploidi ve anlamlı intratümoral genomik heterojenite gibi kompleks kromozomal yeniden düzenlemeler ile karakterize olduğu düşünüldüğünde, p53'ün genom stabilitesine nasıl katıldığının kesin olarak anlaşılması hastalık patogenezi ve son olarak tedavisi için önemli bilgiler sağlayacaktır. PDAC'deki önüne geçilemeyen genomik kararsızlık, hem ilerlemiş hastalığın çıkışını hızlandırıyor hem de tedavi edici yaklaşımlara olan direnci için bir temel oluşturuyor olabilir (86, 87).

2.7.8 SMAD4/DPC4 tümör süpresörü ve transforming growth faktör β

PDAC progresyonu ile ilişkili bir başka sık görülen olay da transkriptiyonel regülatör SMAD4 (DPC4)'ün kaybıdır (88), bu regülatör TGF- β bildirim kaskadında merkezi bir bileşen olarak işlev görür (89). SMAD4 geni kromozom 18q21'de yer alır ve PDAC vakalarının yaklaşık %50'sinde gen içi nokta mutasyonlarında delesyonu hedeflenmiştir (88). SMAD4, geç evre PanIN'lerde kendisinin kaybı zemininde PDAC

için bir progresyon alleli belirtmiştir (49, 90, 91). PDAC prognozunda SMAD4 kaybının etkisi tam olarak belirlenememiştir ve farklı çalışmalar SMAD4 durumu ve sağ kalım arasında birbirine ters sonuçlara varmışlardır (92, 93). Histopatolojik seviyede, SMAD4'ü sağlam tümörler az diferansiye özellik göstermeye daha meyilli olmaktadır (93). SMAD4'ün tümör gelişimine katkıda bulunuşunun mekanizması muhtemelen bu maddenin TGF- β aracılıklı büyüme inhibisyonundaki merkezi rolü ile alakalı olmalıdır. Artmış TGF- β ekspresyonunun PDAC progresyonuna yol açtığı söylenebilir. TGF- β ailesinin ligandları normal pankreasa oranlara PDAC hücrelerinde daha yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir (94).

2.7.9 LKB1/STK11 Tümör Süpressörü

Peutz-Jeghers sendromu (PJS) LKB1/STK11 mutasyonları ile ilişkili, PDAC insidansının arttığı bir başka ailesel kanser sendromudur (95-97). PJS hastalarının birincil sorunları genç yaşta başlayan benign intestinal polipler olmasına karşın (98), ilerleyen yaş aralarında kırk kattan fazla artışa sahip PDAC'nin de bulunduğu gastrointestinal malignensi riski doğurmaktadır (97). Aynı zamanda, sporadik PDAC'de görülen somatik LKB1 mutasyonu nadirdir, incelenen sporadik vakaların yalnızca %4-6'sında görülmektedir (99), buna rağmen IPMN'lerde inaktivasyon oranlarının daha yüksek olduğuna dair kanıtlar da mevcuttur (100).

2.7.10 BRCA2 Tümör Süpressörü

Kalıtımsal BRCA2 mutasyonları tipik olarak ailesel meme ve over kanser sendromları ile ilişkilidir, ancak aynı zamanda pankreas kanseri gelişimi için de belirgin bir risk sahibidirler. Bir çalışma ailesel zeminde gelişen pankreas kanserlerinin yaklaşık yüzde 17'sinin bu gen mutasyonuna sahip olduğunu ön görmüştür (101).

2.7.11 PDAC'deki diğer büyüme faktörü reseptör uyarım yolları

2.7.11.1 Epidermal Büyüme Faktörü

PDAC'de EGF reseptörleri (EGFR ve ERBB3) ve onların ligandlarının ekspresyonu artmıştır, bu durum da bir otokrin döngünün varlığına işaret etmektedir (102-106). Önemlidir ki, EGFR inhibitörleri in vitro ortamda PDAC hücre büyümesini ve tümör gelişimini azaltmaktadır (107), aynı zamanda sitotoksik kemoterapi kombinasyonunda ortotopik tümörleri baskılamaktadırlar (108). Bu inhibisyonun sebebi muhtemelen proanjiyogenik faktörlerin inhibisyonu yoluyla tümör vaskülaritesinin

azalışı ve sonuç olarak endotelial apoptozistir. Bu antineoplastik aktiviteleri nedeniyle, EGFR inhibitörlerinin PDAC hastalarında kullanımı onaylanmıştır.

2.7.11.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

IGF uyarım yolu pek çok insan kanserinde hayatta kalım, invazyon ve anjiyogenezisi düzenler. PDACler hem tümör hücrelerinde hem de stromada artmış IGF-I ekspresyonu gösterirler ve tümör hücrelerinde IGF-I reseptörünün (IGF-IR) anormal aktivasyonunu sergilerler (109-111). In vitro ortamda, otokrin IGF-I uyarımı hücre proliferasyonunu ve büyüme faktöründen bağımsız hayatta kalımı sağlamaktadır (112). Bu yolun anti-IGF-IR antikoru ile veya IGF-IR'nin dominant negatif formlarının ekspresyonu ile inhibisyonu, zenograftlarda büyümeyi engellemekte ve tümör hücrelerini kemoterapiye karşı duyarlandırmaktadır (113, 114).

2.7.11.3 Met ve Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF)

Met reseptör tirozin kinaz ve onun ligandı, HGF/scatter faktörü, hücre motilitesini, invazyonu ve proliferasyonunu düzenlemekte ve bu uyarım yolunun düzensizliği çeşitli kanserlerin ilerleyişine katkıda bulunmaktadır (115). Met reseptörü ekzokrin pankreasta düşük seviyelerde eksprese edilmekte ve PanIN lezyonları ve PDAC'lerde belirgin bir şekilde up-regülasyon göstermektedir. Ek olarak, HGF PDAC ilerleyişi sırasında uyarılmaktadır, PanIN lezyonlarında epitelde ve ilerlemiş tümörlerde stromal hücrelerde bulunmaktadır (116-119).

2.7.11.4 Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF uyarımının PDAC'nin mitogenesis ve anjiyogenesisine katkı sağladığı düşünülmektedir (120).

PDAC genomik karmaşıklık ve kararsızlıkla karakterizedir. Telomer kısalması, p53 kaybı, K-RAS mutasyonu ve mitotik iç cisimciklerindeki defektlerin tamamı bu fenotipe katkıda bulunuyor gibi görünmektedir. PDAC örneklerinin %85'inde sentrozom anormallikleri görülmektedir ve bu anormalliklerin seviyeleri ile kromozomal bozuklukların derecesi arasında bir korelasyon bulunmaktadır (121-178). Sonuçta, p53 ve BRCA2 mutasyonlarının modelleri ve PanIN-2 ve PanIN-3'te anormal mitoz ve nükleer anormalliklerin görülmesi tümör gelişiminde genomik kararsızlığın bu evrelerde başladığını akla getirmektedir

Yapılan çalışmalarda pankreas kanserinde kazanım gösteren kromozomal lokasyonlar 3q, 5p, 7p, 8q, 11q, 12p, 17q'dır, kayıp gösterenler ise 3p, 4q, 6q, 8p, 9p, 10q, 12q, 13q, 17p, 18q, 21q ve 22q'dur (122-130, 177).

2.7.12 CDC25 Fosfatazlar (Cell Division Cycle 25) ve Kanser

Ökaryotik hücrelerin gelişimi G1, S, G2 ve M olarak isimlendirilen dört ayrı hücre siklus fazının birbirini takip etmesi neticesinde gerçekleşir. Bu fazlar çeşitli fosforilasyon ve defosforilasyon olaylarıyla düzenlenir. CDC25 protein ailesi hücre siklusunun ilerlemesinde regülatör olan siklin-bağımlı kinazları (Cdk) aktive eden yüksek derecede korunmuş çift özgülü fosfatazlardır. Bitkiler dışında tüm ökaryotik organizmalarda bulunurlar. Memeli hücrelerinde üç izoformu tanımlanmıştır: CDC25A, CDC25B ve CDC25C (131).

CDC25 fosfatazlar hücre farklılaşması, tümörijeniz, kontrol noktası ve apoptoziste görev alır (125). Hücrenin akıbetinin ne olacağı yönündeki rollerinden dolayı CDC25 fosfatazlar hücre bölünme siklusu boyunca sıkıca regüle edilmelidirler. Ayrıca hücre siklusunun ilerlemesini durdurmak ve hücreye DNA tamiri ya da apoptozis için zaman tanımak amacıyla kontrol noktası aktivasyon cevabında CDC25 fosfatazlar inaktive edilmelidirler. Bu işlemlerden herhangi birinin yanlış düzenlenmesi genomik kararsızlıkla sonuçlanabilir. Bu durumla uygun olarak CDC25lerin aşırı ekspresyonu pek çok insan kanserinde bildirilmiş ve aynı zamanda çok agresif hastalıklarla ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (131). Ayrıca insan kanserlerinde sıklıkla değişime uğrayan en az iki onkogenin (Raf1 ve c-Myc) potansiyel hedefleridirler ve diğer onkogenlerle de işbirliği yaparlar. Böylece iyi niyetli (*bona fide*) proto-onkogenler olarak isimlendirilmişlerdir (132).

Kanserde CDC25 aşırı ekspresyonuyla ilgili ilk, en önemli ve en kritik tespit spesifik kanser alt tiplerinde CDC25 seviyesi ve ileri dereceli ve kötü prognozlu-az surveyli gibi spesifik patolojik özellikler arasında bir korelasyonun varlığıdır (131).

CDC25A geni kromozom 3p21 bölgesinde belirlenmiştir (133). Lokasyonu 48173672 bp'de başlar ve 48204805bp p-terminalden biter. Bu gen telomerik olarak CAMP (cathelicidin antimicrobial peptide) ve sentromerik olarak LOC729349 (60S ribozomal protein L17 (L23)'e benzer bir psödogenidir) arasında lokalize olmuştur.

CDC25A'nın aşırı ekspresyonu çok agresif hastalıklar ve kötü prognozla ilişkilidir. Son yapılan in vivoda kontrol noktası yolları ile ilgili çalışmalar kontrol noktası hasarlarından kaynaklanan genomik kararsızlığın tümör başlangıcı ve

ilerlemesinde temel mekanizma olduğunu ileri sürmektedir. Tümörijenik olaylar insan kanserlerinde gözlenen DNA hasar cevabını harekete geçirir.

CDC25A meme, özofajiyal, gastrik, akciğer, tiroid, baş ve boyun kanserleri ve lenfomaların dahil olduğu pek çok insan kanserinde aşırı eksprese olur.

2.8 Pankreas Kanserinin Evrelendirmesi

Pankreas kanseri evreleme sistemi için günümüzde tümör-nod-metastaz (TNM) sınıflandırılması kullanılmaktadır (Tablo 2). Bu sınıflandırma pankreatik karsinom tümör boyutu, lokal invazyon miktarı, bölgesel lenf nodu metastazlarının varlığı yada yokluğu ve uzak, nodal olmayan metastatik hastalık varlığı yada yokluğuna göre yapılmaktadır(134). Bu parametreler rezektabilite ve prognoz üzerinde en etkili faktörleri temsil etmektedir. Doğru preoperatif evreleme şarttır, çünkü anrezektabiliteyi gösterir bulgusu olmayan hastalar iyi birer cerrahi adaydırlar ve olası küratif rezeksiyon için bu hastalara cerrahi eksplorasyon yapılmalıdır. Tam tersine, preoperatif evrelemede lokal tümör yayılımı veya uzak metastaz saptanmış cerrahi girişim aday olmayan hasta için operatif olmayan palyasyon göz önüne alınmalıdır. Preoperatif endoskopik veya perkütan biyopsi böyle durumlarda çok faydalıdır çünkü uygun palyatif kemoterapinin yada radyoterapinin başlanabilmesi için malignensinin doğrulanması gerekir.

Tablo 2:Tümör-nod-metastaz evreleme kriterleri.

Grup Evreleme Kriterleri			
Evre I	T 1-2	N0	M0
Evre II	T3	N0	M0
Evre III	Herhangi bir T	N1	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1
T1	Primer tümör pankreas dışına yayılmamış		
T1a/b	Boyutu $\leq$ / $>$ 2cm		
T2	Duodenuma, safra kanalına veya peripankreatik dokulara sınırlı direkt yayılım		
T3	Tümör mideye, dalağa, kolona ya da komşu kan damarlarına yayılmış		
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var		
M0	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
Schmiegel'in izniyle yayınlanmıştır (135).			

Evre 1 ve evre 2 kanserler rezeke edilebilir ve kötü prognostik bulgular aneuploidi, tümörün büyüklüğü (T2), pozitif bölgesel nodlar (N1) ve pankreatik veya retroperitoneal sınırdan tam olmayan rezeksiyondur. Tam olmayan rezeksiyon sağ kalımı en kötü olanıdır. Evre 3 ve evre 4 kanserler unrezektabl olarak düşünülür, çünkü ya uzak metastaz yapmışlardır (Evre 4) veya majör arterial tutulumları vardır (Evre 3). Evre 3 tümürlü hastalarda ortalama sağkalım 8 ile 12 ay iken, evre 4 tümürlü hastalarda sadece 3 ile 6 aydır (136).

2.9 Pankreas Kanserinin Klinik Belirtileri

Pankreas kanserinin klinik belirtileri başlangıçta non spesifik ve anlaşılması güçtür bu nedenle tanının genellikle yaklaşık olarak sekiz hafta geç konulmasına neden olurlar. Genellikle kilo kaybı, epigastrik ve/veya sırt ağrısı ve sarılık başvuru semptomlarıdır. Pankreas kanseri ile ilişkili ağrı, özellikle ilerlemiş bir lezyon ile birlikte ise sırta vurur ve dayanılmaz olabilir. Kaşıntı sıklıkla sarılığa eşlik eder ve semptomatik tedaviye refarkter olabilir. Daha az sıklıkla görülen semptomlar arasında mide bulantısı, kusma, diyare veya anoreksi sayılabilir. Glukoz intoleransı genellikle beklenmese de, %10-15 hastada pankreas kanseri tanısı konulmadan 6 ila 12 ay öncesinde gelişebilir. Belirsiz gastrointestinal semptomları olan yaşlı bir hastada yeni başlayan glukoz intoleransı, doktoru olası pankreas kanseri açısından uyarmalıdır. Fiziksel bulgular genellikle patognomonik olmamasına rağmen teşhiste ve ileri tetkikler için yol gösterici olabilir. Pankreas kanserinde tümöre bağlı hiperkoagubilite sonucu gezici trombofilebitler (Trousseau sendromu) görülebilir Sarılık en sık görülen bulgudur. Her ne kadar hastaların sadece dörtte birinde görülse de, kolanjit yokluğunda palpe edilebilen safra kesesi (Courvoisier bulgusu), tersi ispat edilinceye kadar ana safra yolunun malign tıkanıklığını gösterir. Uzak metastaz bulguları arasında asit, servikal lenfadenopati (Virchow nodülü), periumblikal kitle (Sister Mary Joseph nodu); veya ileri evrede nadir vakalarda rektal muayenede pelvik shelf (Blummer's shelf) sayılabilir. Bu bulgular ileri tetkikleri kansere ait objektif doku tanısı bulmaya yöneltilmelidir, bu sayede hasta için non operatif palyasyon düşünülebilir.

2.10 Pankreas Kanseri Teşhis

Ne yazık ki, pankreas kanseri için hiçbir test tek başına tanı koydurucu değildir. Rutin laboratuvar incelemeleri genellikle ekstrahepatik obstrüktif sarılığa ait bulgular

içermektedir; bunlar arasında sartmuş serum alkalen fosfataz ve bilirubin değerleriyle beraber daha az artış gösteren serum aminotransaminazları ve gama glutamil transferaz düzeyleri sayılabilir. Hafif derecede koagülopati ve anemi de görülebilir. Hastalığın erken evrelerinde ekzokrin ve endokrin pankreatik yetmezlikler beklenmez.

Pankreas kanseri tanısı ve taraması için pek çok çeşit tümör ilişkili antijenler değerlendirilmiştir. Düşük sensitivite ve diğer tümörlerle çapraz reaktivite nedeniyle karsinoembriyonik antijen, α -fetoprotein ve pankreatik onkofetal antijenin serum seviyelerini ölçen testlerin klinikte pankreas kanseri için tanı koydurucu olarak kullanılabilirliği ispat edilmemiştir. Müsin benzeri antijenlerin – CA 19-9, CA 50, CA 242, CA 494, DU-PAN-2 ve SPAN-1 – serumdaki seviyelerini ölçen yeni testlerin pankreas kanseri olan hastaların teşhis ve yaklaşımları için kullanılabilirliği değerlendirilmektedir. Bu tümör belirteç testlerinin sensitivite ve spesifisite Tablo 3’de gösterilmiştir(128-130). Klinik uygulamada CA 19-9 seviyesi en kullanışlı olanıdır, özellikle de CA 242 seviyesi ile kombine edildiğinde toplam spesifisite artmaktadır. Pankreas kanseri için kesin tanı sağlayamasa da, operatif rezeksiyonu takiben inatçı şekilde yükselen CA 19-9 seviyesinin düşük sağ kalım ile korole olduğu ve daha agresif adjuvan tedavi programına alınacak hastaları seçmek için yardımcı olabileceği gösterildiyse de, bu yaklaşımı destekleyecek veriler oldukça sınırlıdır(137, 138).

Tablo 3: Seçilmiş Tümör Belirteçlerinin Sensivite ve Spesifiteleri.

Tümör Belirteci	Sensitivite (Yüzde)	Spesifisite (Yüzde)
CA 19-9 (>37 U/ml)	85	85
CA 50 (>17 U/ml)	71	71
CA 242 (>184 U/ml)	66	65
CA 494 ($\leq$ 40 U/ml)	90	94
DU-PAN-2 (>400 U/ml)	66	92
Span-1 (>400 U/ml)	95	100
Schmiegel’in izniyle yayınlanmıştır.		

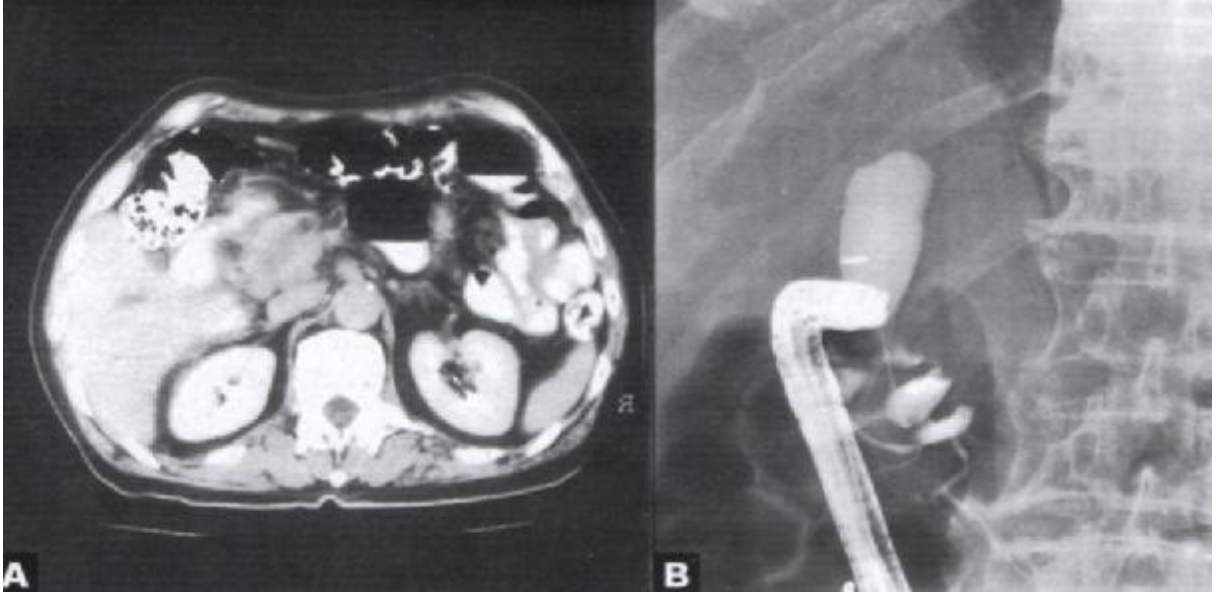
Düz abdominal grafilerin ve üst gastrointestinal kontrastlı çalışmaların pankreas kanseri tanısı koymak için herhangi bir değeri yoktur. Ultrasonografi (USG) sıklıkla kullanılmaktadır ve obstrüktif sarılık tetkiki için en uygun maliyetli görüntüleme

yöntemi olduğu kabul edilmektedir. Ekstrahepatik biliyer obstrüksiyonu, 1 cm çapından daha büyük hepatik metastazları ve deneyimli bir radyolog tarafından yapılırsa pankreatik kitle varlığını tespit edebilmesine karşın, lokal nodal yayılım veya süperiyor mezenterik / portal venöz yapıların tutulumunu belirlemede çok sensitif değildir. Bu son sayılan sebeplerden dolayı, bilgisayarlı tomografi (BT) sarılığı bulunan ve malignensi şüphesi olan hastalarda seçilecek tanısal prosedür olmalıdır. BT biliyer obstrüksiyonu belirlemede USG ile eş sensitivitededir ve intestinal gaz yüzünden görüntüleme sekteye uğramaz. BT, küçük pankreatik tümörleri (Şekil 7), peripankreatik nodal tutulumu ve 1 cm ve daha büyük uzak metastazları belirlemede USG'ye üstündür. Peripankreatik nodal büyüme metastatik bulgu olarak değerlendirilmemelidir, zira ekstrahepatik biliyer obstrüksiyonda nodal büyüme nadir değildir. İntravenöz kontrast maddenin hızlı bolusu ile çekilen yüksek çözünürlüklü BT vasküler yapıların göze çarpmayan bulgularını belirleyebilir. Manyetik rezonans görüntülemenin BT'ye üstün yönü yoktur.



Şekil 7: Pankreas başındaki kitleyi gösteren bilgisayarlı tomografi.

Endoskopik retrograd kolanjiyopankreatikografi (ERCP) obstrüksiyonun kesin yerini belirlemede (Şekil 8) oldukça faydalıdır ve eksfoliyatif “brush” sitoloji almak için kullanılabilir. Bu en sensitif testtir ve altın standart olarak gösterilmektedir. Diğer non invazif testlerle tanı konulmuş ve kanserin kesin evrelemesi yapılmışsa çoğu zaman bu test gerekli değildir (139). ERCP belki de en çok sarılığı bulunmayan, non spesifik gastrointestinal sistem semptomları olan hastada obstrüktif olmayan pankreas kanserinden şüphelenilirse faydalı olabilir.



Şekil 8: (A) Genişlemiş ana safra yolunu gösteren bilgisayarlı tomografi. (B) Pankreas başındaki proksimal pankreatik kanalda bulunan tam tıkanıklığı ve distal ana safra yolundaki striktürü gösteren endoskopik retrograd kolankiyopankreatikografi.

Endoskopik USG pankreas kanseri değerlendirmesinde yeni bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Bir prospektif çalışmada 2,5 cm'den küçük yedi tümörün tamamı endoskopik USG ile tespit edilirken, transabdominal USG ve BT bu tümörlerden yalnızca birini tespit edebilmiştir. Ne var ki, psödötümör pankreatitin kitle etkisi sebebiyle yanlış pozitif bulgu verebilmektedir (140). Endoskopik USG, portal ven tutulumunu göstermede oldukça sensitif olarak görülmektedir. Edsokopik USG'nin pankreas kanserinin tanı ve evrelemesindeki değeri tartışmasız olsa da, henüz üzerinde çalışılması gereken bir konudur ve şu anki standart yaklaşımın bir parçası olarak değerlendirmemek gerekir (140, 141).

Cerrahi yaklaşımı değiştirebilecek vasküler invazyonu (dolayısıyla rezektabiliteyi) belirlemek ve önemli vasküler anomalileri (örneğin yer değiştirmiş sağ hepatik arter veya çölyak arter stenozu) tespit etmek için preoperatif selektif anjiyografinin rutin kullanımı oldukça tartışmalıdır. Perioperatif anjiyografi hakkındaki tek prospektif çalışmada anrezektabilite hastaların yalnızca küçük bir yüzdesinde tespit edilmiştir. Bu nedenle, anjiyografi yaklaşımı değiştirmiyorsa, rezeksiyon için potansiyel aday olan düşük riskli hastalarda rutin preoperatif kullanımının çok küçük bir rolü olduğu ya da rolü olmadığı sonucu çıkmaktadır (142). Dahası, kontrastlı tomografi ve endoskopik USG sayesinde çözünürlüğü artmış olan günümüz görüntüleme yöntemleri ile vasküler invazyon yada oklüzyon açık bir şekilde görülebilir.

Perkütanöz ince iğne aspirasyon biyopsisinin (İİAB) yüzde 80'in üstündeki sensitivitesi ve yüzde 95'lik spesifisitesine rağmen, bu yöntemin pankreas kanserindeki rolü sınırlıdır. İİAB kesin olarak malignensiye ekarte ettirmez, çünkü yüzde yirmilik bir yalancı negatif oranı vardır. Ek olarak, İİAB'nin düşük oranda hemoraji ve tümör disseminasyonu gibi iğne yolu komplikasyon riski vardır. Bu sebeplerden ötürü bizler, İİAB kullanımını operasyon adayı olmayan ve palyatif terapi için malignensinin histolojik doğrulamasının gerektiği durumlarla sınırlandırmaktayız. İİAB rezeksiyon veya cerrahi palyasyon adayları için uygun değildir.

Laparoskopi günümüzde yeni bir evreleme yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Laparoskopi ile yapılan biyopsi, kontrastlı BT, MRI ve anjiyografi ile değerlendirilmiş hastaların yüzde 25 ila 35'inde rezeksiyonu imkansız hale getiren daha önce şüphelenilmemiş metastatik odaklar tespit etmiştir. Yanlış negatif değerlendirme laparoskopi esnasında karaciğer incelemesinin tam olarak yapılmaması sonucu ortaya konulmuştur (143, 144). Laparoskopik USG gibi yeni teknolojilerin gelişi, aynı zamanda laparoskopistlerin artmakta olan deneyimi, yanlış negatif değerlendirme insidansını azaltabilir.

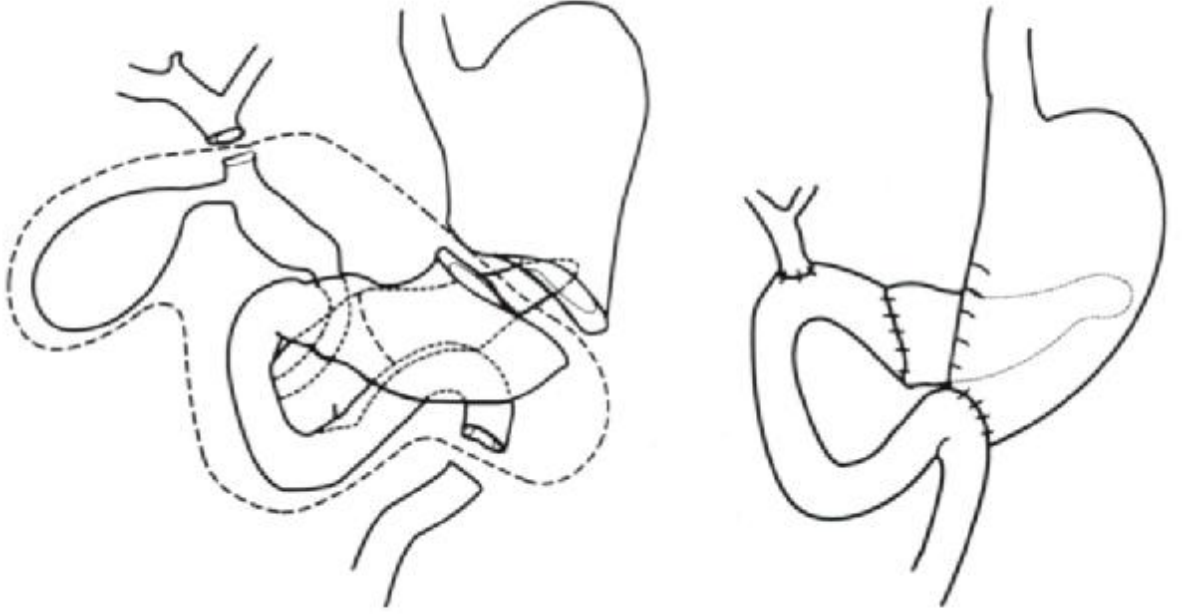
Pankreas kanserli hastalarda yapılan peritoneal lavajın sitolojik incelemesinde kullanılan yöntemlerdendir. Pozitif peritoneal sitoloji, ileri evre kanser ile ilişkilidir ve bu da kötü prognoz göstergesidir (145, 146). Ancak malign hücrelerin bulunmayışı rezektabilite ile korole değildir. Bu nedenle, pozitif peritoneal sitolojinin anrezektabilite ve kısa sağ kalım ile korelasyon göstermesi mümkünken, negatif sitoloji rezektabiliteyi belirlememekle beraber prognostik açıdan da önemi yoktur.

2.10 Pankreas Kanserinde Tedavi

2.10.1 Küratif Tedavi

Pankreas kanserli hastalar için günümüzde iyileşme şansını yalnızca panreatik rezeksiyon sağlamaktadır. Ameliyat öncesi sofistike evreleme metotlarına rağmen preoperatif değerlendirmede rezektabl bulunmuş pankreas başı adenokarsinomlu hastaların çoğunda (yüzde 60 ila 70'inde) laparotomi sırasında rezeksiyonu imkansız hale getiren metastatik veya lokal invazif odaklara rastlanmaktadır. Önceleri pankreas kanseri için yapılan radikal pankreatektomilerde ameliyat sırasındaki mortalite oranı yüzde 25 ila 30'lara varıyor olsaydı da, cerrahi teknikteki, anesteziideki ve preoperatif ve postoperatif bakımdaki gelişmelerle birlikte büyük merkezlerdeki artmış deneyim sayesinde bu merkezlerdeki mortalite oranı azalarak yüzde beşin altına inmiştir.

Ameliyat, rezeksiyon sınırları dışında metastaz olmadığından emin olmak için dikkatli bir intraabdominal eksplorasyon ile başlar (147, 148). Tüm abdominal kavite peritoneal metastazlar veya karaciğere hematojen metastazlar açısından dikkatle taranır. Rezektabilitateye bölgesel lenf nodu gruplarında ve süperiyör mezenterik arter ve ven tutulumu olmaması durumunda karar verilir. Öngörülen rezeksiyon sınırları dışında tutuluma dair bir kanıt bulunmaması durumunda standart rezeksiyon uygulanır.



Şekil 9: Whipple Rezeksiyonu. (A) Klasik pankreatikoduodenektominin anatomik sınırları. Kesikli çizgilerle belirlenen alanda mide antrumu, duodenumun tamamı ve jejunumun proksimal 10 cm'lik kısmı, pankreas başı, safra kesesi ve distal safra yolu bulunmaktadır. (B) Rekonstruksiyon pankreatikojejunostomi, hepatikojejunostomi ve gastrojejunostomiye içerir.

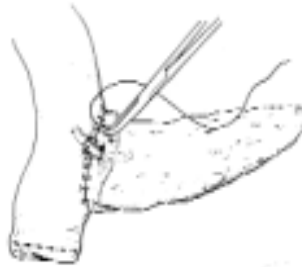
Pankreatikoduodenektomi (Whipple ameliyatı), pankreas başı duktal adenokarsinomu için günümüzde tercih edilen prosedürdür (Şekil 9). Bu prosedür midenin distal üçüncü kısmının, duodenumun, pankreas başının, safra kesesinin ve ana safra yolunun en-blok rezeksiyonunu içerir. Gastrointestinal devamlılık pankreatikojejunostomi, hepatikojejunostomi ve gastrojejunostomi ile sağlanır. Bazı cerrahlar daha güvenli olduğuna inandıkları için pankreatikogastrostomiye tercih ederler (Şekil 10). Son yıllarda ameliyat sırasındaki mortalite oranında bariz bir azalma elde edilmiş olsa da, postoperatif komplikasyon oranı hâlâ yüksektir, bu oran yüzde 25 ila 50 arasında değişmektedir (149). Gecikmiş gastrik boşalma ve pankreatikojejunostomiden anastomoz sızıntısı sonra en sık görülen ciddi komplikasyonlardır (148). Somatostatin

pankreatik anastomotik sızıntıların insidansını ve ciddiyetini azaltabilir. İntraabdominal enfeksiyon, safra sızıntısı, gastrointestinal kanama ve intraabdominal hemoraji daha nadir görülmekle beraber bu sebepler perioperatif mortalitenin yüzde 80'inden sorumludurlar (150). Potansiyel geç dönem yan etkiler arasında boşaltım bozukluğu ile endokrin ve/veya ekzokrin pankreatik yetmezlikler sayılabilir. 70 yaş üstü hastalarda morbidite ve mortalite oranları biraz daha yüksek (sırasıyla % 31 ve % 9) ancak yine de kabul edilebilir orandadır.

Pilor koruyucu pankreatikoduodenektomi (Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy=PPPD) son dönemde dikkatleri üzerine çekmiştir (151). PPPD, klasik pankreatikoduodenektomiden pilor dahil tüm midenin ve duodenumun 2-3 cm'lik proksimal kısmının korunması ile ayrılır. Bu modifikasyon normal gastrik fonksiyonun korunmasında teorik avantaja sahip olsa da, bu faydalar kesin olarak ortaya konabilmiş değildir. Bu operasyonu savunan kişiler postoperatif gastrik temizlenme gecikmesi, boşaltım ve anastomik ülserasyon insidanslarının düştüğünü iddia etseler de, bu faydalar tam olarak geçerli değildir. Ek olarak, ameliyat süresinde, kan kaybında ve hastanede yatış süresinde azalmalar olabilir (152). PPPD'nin uygun bir operasyon olarak uygulanabilirliği tartışmalıdır çünkü bu operasyonun sınırlı cerrahi marjinleri kür oranlarını tehlikeye atabilmektedir (153). Buyüzden bu tekniğin kararında cerrahi tecrübe şarttır.



A-Uç uca invaginasyon



B-Uç yan duktojejunostomi



C- Pankreatikogastrostomi

Şekil 10: Pankreatikojunostomi tipleri (A-B-C).

Uzun dönem sağ kalımı arttırması umudu ile total pankreatektomi, panreatikoduodenektomiye bir alternatif olabileceği düşüncesiyle denenmiştir. Panreatikoduodenektomide olduğu gibi total pankreatektomide de midenin distal kısmı, duodenum, safra kesesi ve ana safra yolunun distal ucunun rezeksiyonunu içerir. Bununla beraber pankreasın tamamı, dalak ve geniş sınırlarla peripankreatik doku da en-blok olarak çıkarılır. Total pankreatektomi pankreatik kalıntı marjinlerindeki rezidüel tümörden, pankreas kesildiğinde oluşan tümör saçıntısından ve pankreas

içindeki tümör multisentritesinden (vakaların yüzde 30'una kadarında görülebilmektedir) kaynaklanan sorunlara çözüm sağlamaktadır. Buna ek olarak, pankreatikojunal anastomoz ile ilişkili komplikasyonların da önüne geçilmektedir. Ameliyat sırasındaki ölüm oranları pankreatikoduodenektomi ile kıyaslanabilir olsa da, sağ kalım açısından kayda değer bir fayda görülmemiştir. Bütün hastalar tam endokrin ve ekzokrin yetersizliği geçirmekte ve sıklıkla bu hastalar insülin rezistansı geliştirmekte ve glisemik kontrol çok zor olabilmektedir (154). Buna ek olarak apankreatik durumun uzun dönem ciddi metabolik sekellerinin farkına varılmakta ve total pankreatektominin tavsiye edilebilirliğinden şüphe duyulmaktadır (154). Bu operasyonu pankreatik kalıntıda tümör varlığına dair delil bulunması veya teknik sebeplerden ötürü pankreatikojunostominin güvenle uygulanamayacağı seçilmiş vakalarda tercih etmekteyiz (155).

Küratif rezeksiyon ardından kaydedilmiş beş yıllık sağ kalma oranları yapılan rezeksiyondan bağımsız olarak yüz güldürücü değildir, ortalama olarak yüzde beş ile on arasında değişmektedir. Ancak son dönemlerde bazı merkezler küratif rezeksiyon sonrası beş yıllık sağ kalımının gözle görülür şekilde artarak yüzde 20-25'lere vardığına dair cesaret verici sonuçlar yayınlanmıştır (147, 151, 156). Sonuçlardaki bu gelişmelerin sebepleri bilinmese de, daha iyi preoperatif evreleme, gelişmiş operatif teknikler ve postoperatif adjuvan kemoradyasyon terapisi, yanlış histoloji (örneğin adacık hücre tümörünün ya da fibröz pankreatitin yanlış değerlendirilmesi) veya tümör biyolojisindeki değişime bağlı olabileceği düşünülmektedir (157-159). Tüm merkezler bu gelişmiş sonuçları verememektedir ve sağ kalımdaki bu düzelme iddialarının doğrulanması gerekmektedir. Rezeksiyon sonrası kötü prognoz göstergeleri arasında az diferansiye histopatolojik grade, lenfatik metastaz varlığı, tümör boyutunun 2,5 cm'den büyük olması ve nükleer anöplodi sayılabilir.

En-blok splenektomili radikal distal pankreatektomi tümör pankreasın gövde veya kuyruğunda ve rezektabl olduğu nadir vakalarda uygulanmaktadır (160, 161). Tüm pankreas karsinomlarının yüzde 15'inde adenokarsinomlar bu bölgelerde yerleşmiştir. Bu lezyonlar nadiren biliyer veya gastrointestinal obstrüksiyona neden olurlar. Bunun bir sonucu olarak tümör anrezektabl oluncaya kadar semptomlar genelde belirlenemez ve tümörün pankreasın gövde veya kuyruğunda yerleştiği hastaların yüzde yedisinden azı küratif rezeksiyon adayı olabilirler. Prognoz genelde kötüdür ve hastaların çok az bir kısmı bir veya iki yıl arası yaşayabilirler.

2.10.2 Palyasyon

Tanı sırasında tüm pankreas kanserli hastaların yaklaşık yüzde 90'ında tümör anrezektabldır. Bu hastalara yaklaşım konusunda problemler yaşanmaktadır çünkü semptomlar için uygulanacak optimal palyasyon genellikle zordur. Obstrüktif sarılık, duodenal obstrüksiyon ve sırt ağrısı yaklaşım gerektiren en sık semptomlardır. Palyasyon ister operatif ister non operatif olarak uygulansın, asıl amaç bu semptomlarda rahatlama sağlanmasıdır.

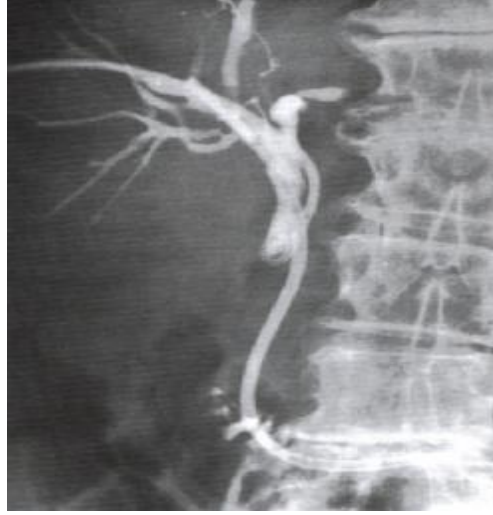
2.10.2.1 Operatif Palyasyon

Palyasyon için geliştirilen operatif prosedürler arasında biliyeroenterik drenaj, gastrojejunostomi ve kimyasal splanknikektomi sayılabilir. Biliyer obstrüksiyonu rahatlatmak için seçilecek prosedür hepatikojejunostomi veya kolesistojejunostomiden biri olmalıdır. Duodenal obstrüksiyon anrezektabl pankreatik kanserli hastaların yüzde 15 ila 30'unda görülmektedir, bu yüzden az riskli hastalarda duodenal obstrüksiyon henüz gelişmemiş olsa da, biliyeroenterik by-pass'a eşlik eden yön değiştirici gastrojejunostomi yapılması değerlendirilmelidir. Gastrojejunostomi operatif mortaliteyi arttırmamakta ve olası duodenal obstrüksiyon durumunda yeniden operasyon ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır. İntraoperatif kimyasal splanknikektomi çoğu merkezde rutin olarak uygulanmasa da, palyatif operasyona girecek hastalarda çölyotomi sırasında kolayca uygulanabilen bu işlem göz önünde bulundurulmalıdır (162, 163). Yakın zamanda yapılmış olan kimyasal splanknikektomi ile plaseboyu karşılaştıran randomize deneye göre splanknikektomi kanser ilişkili ağrıda belirgin bir düşüşe neden olmuş ve operatif morbiditede artış gözlenmemiştir. İlgi çekici bir şekilde bilinmeyen sebeplerde sağ kalım süresi de uzamıştır.

2.10.2.2 Non Operatif Palyasyon

Biliyer obstrüksiyon olan alana biliyer endoprotez yerleştirilmesi safra kanalını açık tutacak ve safranin duodenuma boşaltılabilmesini sağlayacaktır (Şekil 11). Stentlerin endoskopik yerleştirilmesi perkütan transhepatik yolla yerleştirilmesine tercih edilmektedir çünkü endoskopik yerleştirmede hepatik delinme söz konusu değildir, dolayısıyla buna eşlik eden hemoraji, hemobili ve safra sızıntısı gibi riskler de bulunmamaktadır. Perkütan yolla yerleştirme ancak endoskopik olarak biliyer boşaltımın sağlanamadığı hastalarda yapılmalıdır. Duodenal obstrüksiyon gelişen ve operatif gastroenterostomi yapılamayan hastalara, hastalıklarının terminal döneminde

havalandırma ve dekompresyon için perkütan endoskopik gastrostomi tüpü (PEG) yerleştirilebilir. PEG hastaların oral yolla beslenmesine müsaade etmemesine rağmen, gastrik distansiyona ait semptomların hafifletilmesinde etkilidir ve hastalığın terminal döneminde hasta konforunu belirgin ölçüde arttırabilir.



Şekil 11: Distal ana safra yolu obstrüksiyonunda non operatif palyasyon amaçlı yerleştirilmiş endobiliyer stent.

Perkütan kimyasal splanknikektomi pankreas kanseri ile ilişkili ağrının non operatif tedavisi için rutin olarak kullanılmaktadır. Bu prosedür çoğu hastanın ağrılarını tatmin edici biçimde azaltmakta ve oral narkotik ilaç ihtiyacını azaltmaktadır. Son zamanlarda, torakoskopi ile yapılan transtorasik splanknikektomi yaklaşımı ağrı kontrolü için kullanılmaktadır ve ilk sonuçlar cesaret vericidir (164).

2.10.2.3 Operatif ve Non Operatif Palyasyonun Kıyaslanması

Birçok randomize çalışma operatif ve non operatif dekompresyon arasındaki kıyas götürür sağ kalım sürelerin gözler önüne sermiştir. Non operatif palyasyonun prosedür ilişkili morbidite ve mortalite oranı daha az, başlangıçtaki hastanede yatış süresi daha kısa olsa da, bu yöntemin temel sınırlayıcısı stentin safra çamuru ve debris ile tıkanmaya meyilli olmasıdır (165, 166). Stent tıkanması hastaların yüzde 35'inde görülebilmekte ve stent tıkanıklığına sekonder gelişen kolanjitin tedavisi amacıyla hastaneye yeniden yatış hayat kalitesini düşürmekte ve bu durum operatif palyasyondaki morbiditeyi aşabilmektedir. Bu komplikasyondan kaçınmak için iki-üç aylık aralıklarla rutin stent değişimi önerilmektedir. Kendiliğinden genişleyen metal

stentler üzerinde yapılan son çalışmalar bu stentlerin polietilenden yapılanlara kıyasla daha iyi bir açıklık sağladığı ve rekürrent sarılık ve kolanjit sıklığını azalttığını ortaya koymuştur.

Operatif ve non operatif palyasyon arasında seçim yapmak zor olabilir. Genellikle ameliyat için uygun, iyi bir performans haline sahip olan ve uzun bir süre hayatta kalması beklenen (≥ 6 ay) hastalara cerrahi palyasyon uygulanmalıdır. Sağlık durumu kötü olan veya uzun süre sağ kalması beklenmeyen (Böylece tekrar tekrar stent değişimine ihtiyaç olmayacaktır) hastalar için non operatif palyasyon düşünülmelidir (167).

2.10.3 Kemoterapi ve Radyasyon Terapisi

Pankreas kanserli hastalarda tek ajanlı kemoterapinin rolü, ister küratif rezeksiyondan sonra adjuvan tedavi olarak verilsin, ister anrezektabl kanserlerde palyatif amaçlı verilsin, gerekçesizliğini korumaktadır. İlerlemiş pankreas kanseri tedavisinde denenen 30'dan fazla anti kanser ilaçtan sadece 5-Fluorourasil (5-FU) yüzde 20'yi aşan belirgin bir yanıt oranı sergilemiştir. Ne var ki bu yanıt kısmidir ve sağ kalım süresine herhangi bir katkı sağlamamaktadır (168). Kemoterapi rejimlerinin kombinasyonları – 5-FU, doksorubisin ve mitomisin C (FAM) veya streptozotosin, mitomisin C ve 5-FU (SMF) gibi – 5-FU'nun tek başına kullanıldığında elde edilenlere benzer yanıtlar vermişler fakat daha fazla toksisiteye ve maliyete neden olmuşlardır. Bu nedenle pankreas kanseri için tek başına kemoterapi kullanımı yüz güldürücü sonuçlar vermemektedir.

Aksine, hastalıkları rezektabl ve lokal anrezektabl olan hastalarda radyasyon terapisi ve 5-FU'nun kombine kullanımının sağ kalım oranını arttırdığı gösterilmiştir. Bir kontrollü prospektif çalışmada Gastrointestinal Tümör Çalışma Grubu (Gastrointestinal Tumor Study Group = GITSG) küratif rezeksiyonun ardından eksternal ışın radyasyon terapisi ve intravenöz 5-FU kombinasyonu alan hastaların ortalama hayatta kalma sürelerinin, yalnızca rezeksiyon yapılanlara oranla belirgin ölçüde artmış olduğunu göstermişlerdir (20 aya karşı 11 ay). Bu çalışmada aynı zamanda rezeksiyonla birlikte kombine kemoterapi ve radyasyon terapisi alan gruptaki iki yıllık sağ kalım oranının yüzde 42 iken, yalnızca rezeksiyon yapılan hastalarda bu oranın yüzde 15'te kaldığı da gösterilmiştir (169). Benzer şekilde adjuvan ışın terapisi ve 5-FU'nun ortalama iki yıllık hayatta kalma oranlarını iki katına çıkardığı başka bir merkezde daha gösterilmiştir. Başlangıç safhasındaki çalışmalar neoadjuvan

kemoradyoterapinin klinik olarak anrezektabl kabul edilen tümörlerin evresini düşürebildiğini, bu sayede ileride yapılacak rezeksiyona olanak sağladığını göstermektedir (170). Ne var ki neoadjuvan terapinin sağ kalma süresi ile ilişkisi belirlenmemiştir.

Palyatif tedavide radyasyon terapisi ve radyosensitizer olarak düşük doz 5-FU kullanımı lokal olarak anrezektabl pankreas kanserli hastaların hayatta kalma süresini uzatmıştır (171, 172). GITSG aynı zamanda multiajanlı kemoterapiyi (SMF) kombine kemoradyasyon (5-FU ile birlikte radyasyon terapisi ve takiben SMF) ile kıyaslamıştır (173). Ortalama sağ kalım süresi kombine kemoradyoterapide yalnızca kemoterapiye kıyasla daha uzun bulunmuştur (42 haftaya karşı 32 hafta) (174). İntraoperatif radyasyon terapisinin rolü açığa kavuşturulmaktadır. Lokal olarak anrezektabl pankreas kanserli hastalara eksternal ışın radyasyon terapisini takiben intraoperatif radyasyon terapisi uygulanmasının lokal kontrolü arttırdığı gösterilmiş, ancak bu uygulamanın sağ kalım süresini uzatmadığı belirlenmiştir. Günümüzde kombine kemoterapi ve radyasyon terapisi uygulanan anrezektabl kanserli hastaların ortalama sağ kalım süresi 12 aydan azdır (175, 176).

2.11 Rekürrens Paternleri

Pankreas kanseri lokal olarak pankreas yatağında ya da karaciğerde nüksetmeye meyillidir. Uzak metastazlar ortaya çıkabilse de bunlar klinik açıdan genellikle önem teşkil etmezler. Klinik açıdan daha önemli nüksler arasında progresif sarılıkla seyreden karaciğer tutulumu ve ölüme neden olabilen hepatik yetmezlik, gastrointestinal obstrüksiyonla seyreden lokal nüks veya çölyak ve süperiyor mezenterik akslar çevresindeki sinirlerin retroperitoneal tutulumu sayılabilir. Sürekli devam eden dayanılmaz sırt ağrısı, hastalığın ilerleyişinin en kısıtlayıcı semptomudur. Bu sırt ağrısının agresif palyasyonu hastayla ilgilenen kurumun en önemli rolü olmalıdır.

Başlangıçta geniş spektrumlu narkotik olmayan analjeziklerin (örneğin NSAI, Tylenol) daha sonra eklenen narkotiklerin ve diğer destekleyici ilaçların (örneğin trisiklik antidepresanlar, entiepileptikler vs.) özgürce kullanımının üzerinde durulmalıdır. Ağrı yönetimi merkezleriyle yapılan fikir alışverişi faydalı olabilir; böyle özelleşmiş merkezler perkütan splanknikektomi (çölyak pleksus blokajı) yapabilirler ki bu genelde iyi sonuçlar verir ve gerek duyulursa ileride tekrarlanabilir. Daha nadir vakalarda ileri evre pankreas kanserli hastalara, epidural veya intratekal bölgedeki viseral aferent sinirlere doğrudan çok güçlü analjeziklerin verilmesi için farklı türlerde

kalıcı infüzyon pompaları yerleştirilebilmektedir. Palyasyon ihtiyacı kısa olsa da (genellikle üç aydan kısa), bu ağrının efektif bir şekilde giderilmesi, bu şanssız hastaların hayat kalitesini arttıracaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Numunelerin Temini

Çalışmanın kendilerine anlatıldığı ve çalışmaya gönüllü olarak katılacak olan, Genel Cerrahi bölümünde operasyona alınan 28 pankreas kanserli hastadan, tedavi protokolleri gereği operasyonda alınan materyalden tümörlü ve sağlam dokular alınarak, azot tankına konuldu. Ayrıca Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen toplam 90 pankreas kanserli hastadan kan örneği alındı ve DNA izolasyonu yapılma aşamasına kadar – 20 °C de saklandı. Polimorfizm çalışması için kendisinde ve birinci derece yakınlarında kanser hastası öyküsü olmayan 83 gönüllüden kan alındı. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik kurulundan 24.05.2010 tarihinde 5/2010-5 karar numarası ile araştırma için onay alınmıştır.

3.2. DNA ve RNA'ların elde edilmesi

3.2.1. Kandan DNA Elde Edilmesi

I. gün: EDTA'lı tüpe alınan kanların oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra üzerlerine hacimleri kadar saf su eklendi. İyice altüst edildikten sonra 4000 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı kısım atıldı. Bu işlem üç kez tekrar edildi. Üçüncü santrifüjün ardından, atılan sıvı kısmın yerine her bir tüpe 3 mL üreli parçalama çözeltisi eklendi. Ardından 400 µL %20'lik SDS ve 100 µL 10mg/mL proteinaz K eklenerek 37 °C'de 1 gece için inkübasyona bırakıldı .

II. gün: İnkübasyondan çıkarılan örneklerle 2 mL 5M NaCl eklendi ve 10-15 dakika altüst edildi. Üzerlerine 8 mL kloroform konularak 4000 devir/dakika'da 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan 3 kısımdan üstteki kısım temiz bir tüpe alınarak, üzerine hacmi kadar soğuk %96'lık etil alkol eklendi. Alkol ilavesi ile çöken DNA'lar pipet ucu ile 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınarak üzerlerine 1000 µL %70'lik etil alkol eklendi. Tüpler 13000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek DNA'ların tüpün dibine yapışması sağlandı. Bu işlem 3 kez tekrar edildi. En son santrifüj işleminden sonra, alkol dikkatli bir şekilde döküldü. Tüplerin dibine yapışması sağlanan DNA'lar kurumaya bırakıldı ve üzerlerine steril su eklendi, bir gün +4°C'de bekletilerek çözünmesi sağlanan DNA'lar saklanmak üzere -20°C'lik derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.2. Dokudan DNA Elde Edilmesi

Sıvı azot içerisindeki örneklerden 40 mg alınarak homojenizatör (Kinematica, Gmdh, Switzerland) ile parçalandı. Homojenizatör her kullanımdan sonra, bulaşmayı önlemek için doku örneği kalmayacak şekilde; %50 seyreltilmiş çamaşır suyu ile 3 defa, saf su ile 1 defa, %96'lık alkol ile 1 defa ve en son tekrar saf su ile yıkanarak temizlenmiştir. Parçalanmış olan tümör dokuları ve normal dokulardan High Pure Template Preparation Kit (Roche, Cat. No. 11 796 828 001, Mannheim, Germany) kullanılarak DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Aynı örneklerden High Pure RNA Tissue Kit (Roche, Cat. No. 12 033 674 001, Mannheim, Germany) kullanılarak RNA'lar elde edilmiştir.

1,5 ml. tüpe konulan 40 mg. parçalanmış doku üzerine 200 µl Doku Çözme Tamponu (Tissue Lysis Buffer) ve 40 µl Proteinaz K eklenerek inkubasyona bırakıldı, 55°C'de 1 saat bekletilen çözelti üzerine 200 µl Binding Buffer eklendi ve 70°C'de 10 dakika bekletildi. 10 dakika bekletilen çözelti üzerine 100 µl izopropanol eklenip karıştırıldı. Hazırlanan çözelti filtreli tüpe ilave edilerek 8.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtre tüpü üzerine 500 µl Inhibitor Removal çözeltisi konuldu ve 1 dakika 8.000 xg'de santrifüj edildi. Daha sonra filtre tüpü üzerine 500 µl Wash Buffer eklendi ve tekrar 800 xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Yıkama tamponunun tamamen uzaklaştırılması için 8.000 xg'de tekrar santrifüj edildi. Daha sonra filtre tüpü temiz bir toplama tüpü ile birleştirildi ve 200 µl daha önceden 70°C'ye ısıtılmış olan Elution Buffer eklendi ve 8000 xg'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpüne aktarılmış olan DNA'lar bu aşamadan sonra – 20°C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Dokudan RNA Elde Edilmesi

Dondurulmuş dokudan elde edilen 25 mg'lık parçalanmış doku 1,5 ml'lik bir tüpe alındı ve üzerine 400 µl Lysis/Binding Buffer eklendi ve 2 dakika 13.000 xg'de santrifüj edildi. Santrifüj aşamasından sonra üstteki sıvı alınarak üzerine 200 µl etanol eklendi ve iyice karıştırıldı. Örnekler filtre tüp üzerine konuldu ve 30 saniye 13.000 xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında filtreli tüp üzerine 90 µl DNase Incubation Buffer ve 10 µl DNase I ile hazırlanan çözelti eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 500 µl Wash Buffer I filtre tüpü üzerine konuldu ve 15 saniye 8.000 xg'de santrifüj edildi. Daha sonra 300 µl yıkama tamponu II`den ilave edildi ve 13.000 xg'de 2 dakika santrifüj edildi. Filtreli tüp 1,5 ml'lik steril bir tüple birleştirildi ve filtreli

tüpün üzerine 100 µl Elution Buffer eklendi. 1 dakika 8.000xg'de santrifüj edildikten sonra RNA'lar 1,5 ml.'lik tüplere alınıp kullanılmak üzere -85 C'de saklandı.

3.2.4. cDNA Sentezi

Precision qScript Reverse Transcription kit kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. -85°C'de saklanan Rna'lar cDNA eldesi için oda ısısında bekletilerek çözündürüldü. RNA miktarları ayarlanarak H₂O, RNA ve Oligo dT primeri karıştırılarak 65°C'de 5 dakika inkube edildi. 10 µl'lik bu mixin üzerine ikinci mix hazırlanır ve eklenir. İkinci miks; 20 µl'lik mix 5 dakika 25°C, 20 dakika 55°C'de ve 15 dakika 75°C'de inkubasyona bırakılır. Elde edilen cDNA'lar -20 de saklanır (Tablo 4).

Tablo 4: cDNA karışımı

Eklenen Kimyasal Madde	Miktar (µL)
qScript 10X Buffer	2
dNTP mix (10mM)	1
DTT (100mM)	2
RNAse/DNAse free water	4
qScript enzim	1
Toplam:	10 µl

3.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)

CDC25A polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) ve Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) yöntemleri kullanılarak belirlendi. CDC25A geninin 3. ekzonun Ser88Phe 5'-TAT TTG TTG CCT GAC TTA-3' (Forward) ,5 '-CTC CAG TCC AGT GTA TGA-3' (Reverse) 253 bç'lik bölgesi, rs3731482 5'-GGA AGA AAG GGG TCC ACA A-3' (Forward), 5 '-CAA TGA AAA CTC CCA GCA GAA-3' (Reverse) 263 bç'lik bölgesi, rs3731485 5'-AGC CTA GCT GCC ATT CGG-3' (Forward) , 5'-TTC GCT GTT CTC CCA CCC-3' (Reverse) primerleri kullanılarak 218 bç'lik bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Kullanılan primer çiftlerinin en verimli çalışabilecekleri erime sıcaklıklarının tespit edilmesi için 1 örnek DNA seçildi ve gradient PCR yapılarak uygun sıcaklık belirlendi.

PCR için 14,9 µL steril deiyonize su, 2,5 µL Buffer, 2 µL 25 mM MgCl₂, 2,5 µL 2 mM dNTP karışımı, 0,5 µL 100 mM F primeri, 0,5 µL 100 mM R primeri, 0,1 µL

5 U/μL Taq DNA polimeraz kullanılarak 25 μL'lik miks hazırlandı. Kandan ve dokudan izole edilen DNA'lardan 2μL kullanılarak MJ Research PTC-200 PCR cihazı ile PCR yapıldı.

Ser88Phe için ilk denatürasyon 94 °C'de 5 dakika, Denatürasyon 94 °C'de 30 saniye, bağlanma 52,7 °C'de 45 saniye, Uzama 72 °C'de 30 saniye 34 tekrar, Son uzama 72 °C'de 2 dakika PCR tepkime koşulları uygulandı.

RS3731482 için ilk denatürasyon 94 °C'de 5 dakika, Denatürasyon 94 °C'de 30 saniye, bağlanma 59,2 °C'de 40 saniye, uzama 72 °C'de 30 saniye 34 tekrar, son uzama 72 °C'de 2 dakika PCR tepkime koşulları uygulandı.

RS3731485 için ilk denatürasyon 94 °C'de 5 dakika, denatürasyon 94 °C'de 30 saniye, bağlanma 59,2 °C'de 45 saniye, uzama 72 °C'de 30 saniye 34 tekrar, son uzama 72 °C'de 2 dakika PCR tepkime koşulları uygulandı.

3.4. RFLP (Restriction fragment length polymorphism)

Bütün PCR ürünleri SNP analizine özgü spesifik restriksiyon kesim enzimleri kullanılarak kesim yapıldı.

Ser88Phe kesim bölgesi (Tablo 5) olan Tfi I restriksiyon enzimi kullanılarak kesildi. 0,2 μl Tfi I restriksiyon enzimi, 1 μl Tfi I restriksiyon enzimi tamponu, 10 μl PCR ürünü, 4 μl bidistile su kullanılarak 10 μl reaksiyon hacmi kesim tüplerine eklendi ve 37 °C 16 saat enzim aktivasyonu için bekletildi. Enzim inaktivasyonu için 65 °C de 20 dakika bekletildi.

Tablo 5: Ser88Phe kesim bölgesi.

G↓CGG
CGC↑C.

RS3731482 kesim bölgesi (Tablo 6) olan Tru II restriksiyon enzimi kullanılarak kesildi.

Tablo 6: RS3731482 kesim bölgesi.

T↓T AA
AA T↑T.

0,1 μl Tru II restriksiyon enzimi, 1 μl Tru II restriksiyon enzimi tamponu, 10 μl PCR ürünü, 4 μl bidistile su kullanılarak 10 μl reaksiyon hacmi kesim tüplerine eklendi

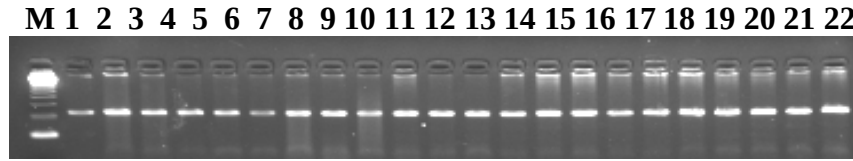
ve 37 °C 16 saat enzim aktivasyonu için bekletildi. Enzim inaktivasyonu için 80 °C de 20 dakika bekletildi. RS3731485 kesim bölgesi (Tablo 7) olan BfaI restriksiyon enzimi kullanılarak kesildi.

Tablo 7: RS3731485 kesim bölgesi.

C↓T	AG
G A	T↑C

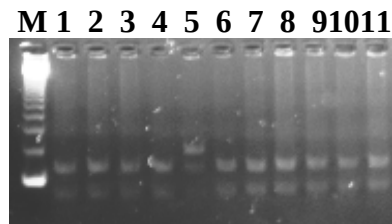
0,1 µl BfaI Restriksiyon enzimi, 1 µl BfaI Restriksiyon enzimi tamponu, 10 µl PCR ürünü, 4 µl Bidistile su kullanılarak 10 µl Reaksiyon hacmi kesim tüplerine eklendi ve 37 °C 16 saat enzim aktivasyonu için bekletildi. Enzim inaktivasyonu için 65 °C de 20 dakika bekletildi.

PCR ürünlerinin kesilip kesilmediklerini kontrol etmek için agaroz jel elektroforezi kullanıldı (şekil 12-14). Örnekler yüzde 2 oranında hazırlanmış olan agaroz jelde 100 voltta 40 dakika kadar yürütüldü ve etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülendi.



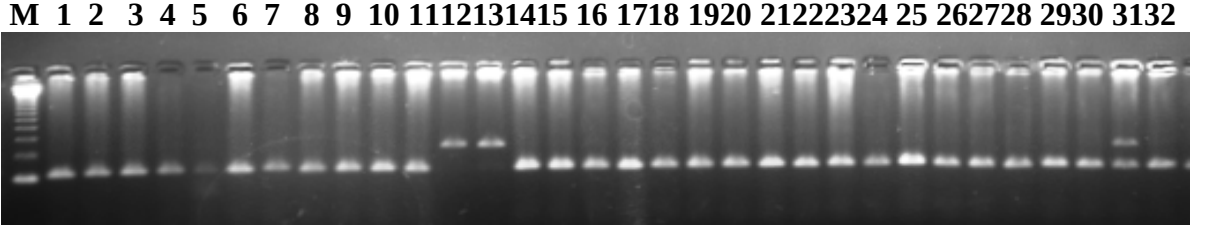
Şekil 12: CDC25A geni RS3731482 PCR-RFLP mutasyon analizi:

1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22 wild type TT.



Şekil 13: CDC25A geni RS3731485 PCR-RFLP mutasyon analizi: 1,2,3,4,6,7,8,9,10,11

wild type CC, 5 mutant GG.



Şekil 14: CDC25A geni Ser88Phe (263C/T) PCR-RFLP mutasyon analizi:

1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,32 wild type CC, 31 heterozigot CT, 12, 13 mutant TT

3.5. Gen ekspresyonu

CDC25a gen bölgesinin PCR yöntemiyle gen ekspresyonu tayinleri yapılmıştır. Housekeeping olarak GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase housekeeping gen) 5'-AGA CCA CAG TCC ATG CCA TCA C-3' (Forward), 5'-GGT CCA CCA CCC TGT TGC TGT -3' (Reverse), primerleri kullanılarak 450 bp'lik bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Kullanılan primerin en verimli çalışabildikleri erime sıcaklıklarının tespit edilmesi için 1 örnek CDNA seçildi ve gradient PCR yapılarak uygun sıcaklık belirlendi.

PCR için 8,9 µL steril deiyonize su, 1,5 µL Buffer, 0,9 µL 25 mM MgCl₂, 1,5 µL 2 mM dNTP karışımı, 0,3 µL 100 mM F primeri, 0,3 µL 100 mM R primeri, 0,1 µL 5 U/µL Taq DNA polimeraz kullanılarak 25 µL 'lik miks hazırlandı. Dokudan izole edilen RNA'lar cDNA'ya çevrilerek 1,5µL kullanıldı. MJ Research PTC-200 PCR cihazı ile PCR yapıldı. İlk denatürasyon 95 °C' de 5 dakika, Denatürasyon 95 °C' de 30 saniye, bağlanma 65 °C' de 30 saniye, uzama 72 °C' de 30 saniye 29 tekrar, son uzama 72 °C' de 2 dakika PCR tepkime koşulları uygulandı.

CDC25a gen bölgesinin 5'-GCT GCA GGG TCT GGG CAG TGA T -3' (Forward), 5'-TCT GTT GAC TCG GAG GAG CCC A -3' (Reverse) primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı.

PCR için 4,76 µL steril deiyonize su, 1 µL buffer, 0,8 µL 25 mM MgCl₂, 1 µL 2 mM dNTP karışımı, 0,2 µL 100 mM F primeri, 0,2 µL 100 mM R primeri, 0,04 µL 5 U/µL Taq DNA polimeraz kullanılarak 25 µL 'lik miks hazırlandı. Dokudan izole edilen RNA'lar cDNA'ya çevrilerek 1,5µL kullanıldı. MJ Research PTC-200 PCR cihazı ile PCR yapıldı. İlk denatürasyon 94 °C' de 5 dakika, denatürasyon 94 °C' de 30 saniye, bağlanma 63 °C' de 40 saniye, uzama 72 °C' de 30 saniye 39 tekrar, son uzama 72 °C' de 2 dakika PCR tepkime koşulları uygulandı.

3.6. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS paket programı ve GraphPad InStat programı kullanıldı. Veriler ortalama ve % olarak ifade edildi. Genotip dağılımı ve allel sıklıkları gruplar arasında Fisher'in kesin ki-kare analizi kullanılarak karşılaştırıldı. $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı ($p < 0,05$).

4.BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi anabilim dalında pankreas kanseri tanısı ile opere edilen 28 hasta ve Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 90 hasta, toplam 118 pankreas kanserli hasta alındı. Kontrol grubu olarakta 83 tane önceden bilinen kronik bir hastalığı olmayan ve birinci derece akrabalarında kanser hastası olmayan sağlıklı gönüllüler dahil edildi. Kontrol grubundaki 83 gönüllünün % 43.3' ü (36) kadın, % 55.6'sı (47) erkekti. Pankreas kanseri tanısı olan grubun % 44.1' i (52) kadın, %55.9' u (66) erkek hastalardan oluşmakta idi. Hasta grubu yaş ortalamamız 64.2 (kadınlarda 63.4, erkeklerde 65), kontrol grubunda yaş ortalamamız 56.3 (kadınlarda 57, erkeklerde 55.6) idi (Tablo 8).

Tablo 8: Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

	KADIN/YAŞ	ERKEK/YAŞ	TOPLAM/YAŞ
HASTA	52/63.4	66/65	118/64.2
KONTROL	36/57	47/55.6	83/56.3
TOPLAM	88	113	201

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalarda görülen semptomlar değerlendirildiğinde, en sık sarılık ve kilo kaybı nedeniyle kliniğe başvurduğu görüldü (Tablo 9).

Tablo 9: Hastaların başvuru sebepleri.

	KADIN	ERKEK	TOPLAM
Sarılık	28	31	59
Kilo kaybı	13	14	27
Karın ağrısı	7	6	13
Kaşıntı	8	3	11
Diğer	3	5	8
TOPLAM	59	59	118

Çalışmaya dahil ettiğimiz 118 hastanın %59.3'ünde (70 hasta) bir veya birden fazla ek hastalık mevcut idi. (70 hastada toplam 110 ek hastalık) En sık görülen; ek hastalıkların %59'unu oluşturan diabetes mellitus (DM) idi. Kardiyovasküler hastalıkların %68'i(17 hasta) hipertansiyon (HT), %32'si (8 hasta) kronik arter hastasıydı (KAH). Solunum sistemi hastalıklarının hepsi kronik obstrüktif akciğer hastasıydı (Tablo 10).

Tablo 10: Hastalardaki ek hastalıkların dağılımı.

EK HASTALIKLAR	SAYI
DM	65
KVS	25
SOLUNUM SİS	11
NÖROLOJİK	8
ÜRİNER	1
TOPLAM	110

Çalışmaya dahil ettiğimiz 118 hastada, tümör belirteçleri olarak CA 19-9 ve CEA düzeyleri açısından incelendiğinde hastaların %18.6'sında (22 hasta) CA 19-9 ve CEA düzeylerinin normal olduğu, %54.2'sinde (64 hasta) CA 19-9 yüksek, CEA normal olduğu, %27.1'inde (32 hasta) CA 19-9 ve CEA düzeyinin yüksek olduğu bulundu (Tablo 11).

Tablo 11: Hastaların tümör belirteçlerinin düzeyleri açısından dağılımı.

TÜMÖR BELİRTEÇLERİ	SAYI	%
CA 19-9 ve CEA NORMAL	22	18.6
CA 19-9 YÜKSEK + CEA NORMAL	64	54.2
CA 19-9 ve CEA YÜKSEK	32	27.1

Çalışmaya dahil ettiğimiz 118 hastada, görüntüleme yöntemleri olarak USG, Abdomen BT, ERCP, MRCP kullanıldı. En sık Abdomen BT ve USG kullanıldı (Tablo 12).

Tablo 12: Hastalarda pre operatif kullanılan görüntüleme yöntemlerinin dağılımı.

GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMİ	SAYI	%
USG	118	100
ABD BT	118	100
ERCP	70	59.3
MRCP	34	28.8

Çalışmaya dahil edilen 118 hasta, patoloji raporlarına göre değerlendirildiğinde, patolojik tip açısından hepsi adenokarsinom olarak alındı(Taplo13).

Tablo 13: Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı.

	SAYI	%
Adenokarsinom	118	100

Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için C/C, C/T, T/T genotip frekansları açısından sınıflandırıldığında kanserli grubun %97.5'i (115 hasta) C/C genotipli, %0.8'i (1 hasta) C/T genotipli, %1.7'ünün (2 hasta) T/T genotipli, kontrol grubunun %97.6'sının (80 hasta) C/C genotipli, %2.4'ünün (2 hasta) C/T genotipli, %0.0'sinin (0 hasta) T/T genotipli olduğu görüldü. Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için C, T allel frekansları açısından sınıflandırıldığında kanserli grubun %97.9'unda C alleli, %2.1'inde T alleli olduğu, kontrol grubunun %98.8'inde C alleli, %1.2'sinde T alleli olduğu görüldü. Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için C/C, C/T, T/T genotip frekanslarına ve C ve T allel frekanslarına göre karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı.($p>0.05$ Tablo14)

Tablo 14: Hasta ve kontrol gruplarında, CDC25A geni SER88PHE polimorfizmi için genotip ve allel frekansları dağılımı.

Genotip/ Allel	Kontrol (n=82) n (%)	Hasta (n=118) n (%)	P	OR (95% CI)
Ser/Ser (C/C)	80 (97.6)	115 (97.5)		
Ser/Phe (C/T)	2 (2.4)	1 (0.8)	0.571	0.348 (0.031-3.904)
Phe/Phe (T/T)	0 (0.0)	2 (1.7)	0.515	3.485 (0.165-73.615)
Ser (C)	162 (98.8)	231 (97.9)		
Phe (T)	2 (1.2)	5 (2.1)	0.705	1.753 (0.336-9.152)

Fisher'in kesin ki kare testi, OR, odds ratio, P>0.05

Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için C/C, C/G, G/G genotip frekansları açısından sınıflandırıldığında kanserli grubun %94.9'unun (112 hasta) C/C genotipli, %2.5'inin (3 hasta) C/G genotipli, %2.5'inin (3 hasta) G/G genotipli, kontrol grubunun %92.2'sinin (71 hasta) C/C genotipli, %5.2'sinin (4 hasta) C/G genotipli, %2.6'sının (2 hasta) G/G genotipli olduğu görüldü. Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için C, G allel frekansları açısından sınıflandırıldığında kanserli grupta %96.2 oranında C alleli, %3.8 oranında G alleli olduğu, kontrol grubunda %94.8 oranında C alleli, %5.2 oranında G alleli olduğu görüldü. Pankreas kanserli grupla kontrol grubu CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için C/C, C/G, G/G genotip frekanslarına ve C ve G allel frekanslarına göre karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05 Tablo15).

Tablo 15: Hasta ve kontrol gruplarında, CDC25A geni RS3731485 polimorfizmi için genotip ve allel frekansları dağılımı.

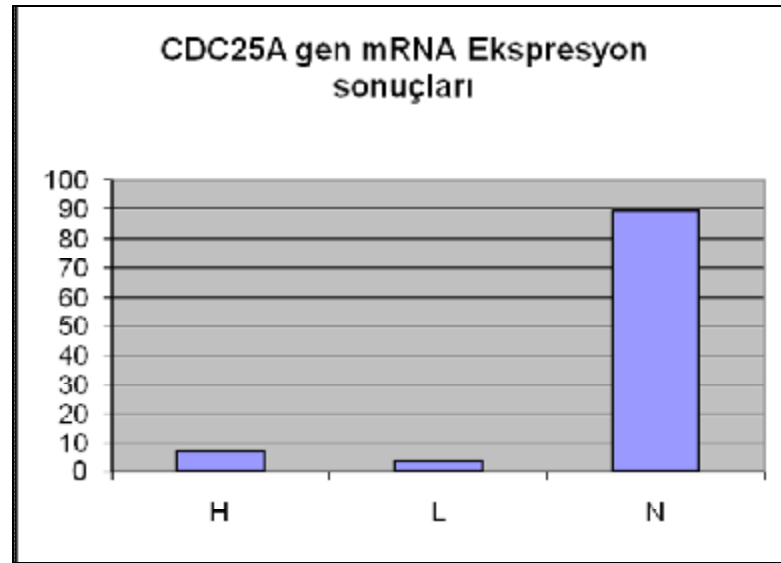
Genotip/ Allel	Kontrol (n=77) n (%)	Hasta (n=118) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	71 (92.2)	112 (94.9)		
C/G	4 (5.2)	3 (2.5)	0.437	0.475 (0.103-2.118)
G/G	2 (2.6)	3 (2.5)	1.000	0.951 (0.155-5.835)
C	146 (94.8)	227 (96.2)		
G	8 (5.2)	9 (3.8)	0.614	0.724 (0.273-1.918)

Fisher'in kesin ki kare testi; OR, odds ratio; P>0.05

Çalışmaya dahil ettiğimiz pankreas kanseri tanısı ile opere edilen 28 hastanın, operasyon sırasında çıkarılan materyalinden alınan normal ve tümörlü dokulardan CDC25A gen ekspresyon düzeyi çalışıldı. Referans aralığı >1.5 ise artmış, <0.5 ise azalmış, $0.5-1.5$ aralığı ise normal olarak alındı. Çalışmanın sonucunda ekspresyon düzeyleri açısından 28 hastanın %7,14'ünde (2 hasta) arttığı, %3,57'sinde (1 hasta) azaldığı, %89,28'inde (25 hasta) normal olduğu görüldü. Tüm hastalarda ortaya çıkan değerler şu şekildeydi (Tablo 16, Şekil 15).

Tablo 16: Çalışmaya alınan pankreas kanserli vakalardaki normal ve tümörlü dokunun gen CDC25A gen ekspresyon düzeyleri($0.5 < \text{normal} < 1.5$).

	EXPRESYON	DÜZEY
1. HASTA	1,36	N
2.HASTA	0,49	N
3.HASTA	0,98	N
4.HASTA	0,90	N
5.HASTA	0,68	N
6.HASTA	0,53	N
7.HASTA	0,94	N
8.HASTA	1,77	H
9.HASTA	0,63	N
10.HASTA	0,62	N
11.HASTA	0,94	N
12.HASTA	1,46	N
13.HASTA	0,93	N
14.HASTA	0,57	N
15.HASTA	0,83	N
16.HASTA	1,61	H
17.HASTA	1,17	N
18.HASTA	0,52	N
19.HASTA	1,12	N
20.HASTA	0,36	L
21.HASTA	0,77	N
22.HASTA	0,89	N
23.HASTA	0,71	N
24.HASTA	1,19	N
25.HASTA	0,82	N
26.HASTA	0,63	N
27.HASTA	1,28	N
28.HASTA	0,78	N



Şekil 15: Çalışmaya alınan pankreas kanserli vakalardaki normal ve tümörlü dokunun gen CDC25A gen ekspresyon yüzdeleri.

Elde edilen ekspresyon değerlerine yapılan istatistiksel çalışmada; kontrol gurubu ile pankreas kanseri gurubu arasında CDC25A gen ekspresyonunun anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$) (Tablo 17).

Tablo 17: Mann-Whitney U testi kullanıldı ($p>0,05$).

	N	T	P
CDC25A/GAPDH	3039,5	4718,5	0,0782

5. TARTIŞMA

Birçok çalışma PDAC’de, aralarında K-ras protoonkogeni ve p53, Smad4/DPC4 ve p16/CDKN2A gibi tümör süpresör gen mutasyonlarının bulunduğu farklı genetik ve epigenetik değişiklikleri göstermiştir (177). Ayrıca, büyüme faktörlerinin ve büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı ekspresyonu, bu tümörlerin büyük bir kısmında görülmekte ve apoptozis, invazyon ve metastaz düzenleyici yollarda PDAC’ler bir çok değişiklikler sergilemektedirler (178-180). PDAC, kontrolsüz hücre siklusu progresyonu, sikle siklus arrestine ve apoptozise direnç ile karakterizedir, bunlar kısmen K-ras ve p53 protoonkogenindeki mutasyonlara, kısmen de Smad4/DPC4 ve p16/CDKN2A tümör süpresör gen mutasyonlarına bağlanmıştır (180). CDC25A’nın overekspresyonu pek çok insan kanserinde gösterilmiştir, bu da akla bu fosfatazların malign transformasyonun gelişiminde ve patogenezinde rolleri olabileceğini getirmektedir. Bu nedenle bu çalışmada PDAC’de CDC25A gen ekspresyon ve polimorfizmini araştırarak, bu genin hücre siklus progresyonundaki rollerini değerlendirmeye çalıştık.

Hücre siklus kontrol mekanizmasının deregülasyonunun hücrelerin malign değişimlerinde kilit bir rol oynadığı düşünülmüştür (181). Hücre siklusunu düzenleyen genlerdeki değişimlere insan kanserlerinde sıklıkla rastlanmaktadır (182) ve hücre siklusu progresyonunu yansıtan hücre proliferasyonu kanser hücrelerinin agresif büyüme şekline katkıda bulunmaktadır. İki tane kritik kontrol noktası tanımlanmıştır ve bunlar G1-S fazı ve G2M fazı değişimlerinde bulunmaktadır. Hücre siklusu sistemindeki başlıca bileşenler siklinler ve onlara karşılık gelen siklin bağımlı kinazlardır (CDK). CDK/siklin kompleksleri, hücre siklusunun farklı fazlarını düzenlemek için sırayla aktifleşir ve deaktive olurlar. PDAC’de hücre siklus deregülasyonunun ilerleyişiyle birçok gen mutasyonu ilişkilidir, bunlar arasında antiapoptotik yanıtlar ve G1-S fazında beklemeyi önleyen tümör süpresör geni p53, hücre proliferasyonunun devamını ve hücre ölümsüzlüğünü sağlayan K-ras mutasyonları (177) ve retinoblastoma (RB) ve p53 yollarını bozmak suretiyle kontrolsüz hücre siklusu progresyonuna yol açan iki tümör süpresörü (INK4a ve ARF) kodlayan CDKN2A mutasyonları sayılabilir (183).

CDC25A fosfatazları CDK fosfatazlarının yeni bir ailesidir, görevleri hücre siklusunun farklı kontrol noktalarında CDK’ları defosforile ederek CDK/siklin komplekslerini aktifleştirmektir (184, 185). CDC25A G1 fazının sonlarında eksprese edilir ve CDK2/siklin E kompleksini aktive ederek G1/S geçişini kontrol eder (186).

CDC25B ve C ise G2 fazı ve G2/M geçişi için oldukça önemlidir (187, 188). PDAC’de CDC25A fosfatazlarının ekspresyonu literatürde sadece bir çalışmada 48 hastada değerlendirilmiş ve diğer malignite çalışmalarının aksine artmamamış olarak bulunmuştur (12). Biz ise çalışmamızda daha kapsamlı olarak CDC25A nın 28 hastada dokuda gen ekspresyonunu ve 118 hastada ise kan değerlendirilmelerinde gen polimorfizmini değerlendirdik. Bir nceki çalışma ile uyumlu olarak CDC25A nın ekspresyon ve polimorfizm değerlendirilmesinin normal sınırlarda kalarak artmadığı görüldü. Aksine, CDC25A nın normal ve kanser dokuları arasında anlamlı bir farklılık göstermemesi diğer tümör türleri üzerine yapılan daha önceki çalışmalarda bulunan verilerle uyum göstermemektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Pankreas kanserinde hücre bölünmesinde kontrol basamağı görevi gören CDC25 gen ailesinden olan CDC25A'nın herhangi bir etkisi bulunamamıştır. Ancak, yapılan bazı pankreas kanseri CDC25 gen ailesi ekspresyon sonuçları; CDC25B'nin pankreas kanserinde etkili olduğunu göstermiştir (12).

Bu sonuçlar göstermektedir ki CDC25 gen ailesinden olan CDC25A pankreas kanserinde aktif olarak görev alan bir gen değildir. Ancak, CDC25A geninin pankreas kanserinde normal sınırlar içinde çıkmış olması, bu genin pankreas kanserinde etkisinin olmadığını göstermez. Bu durumun daha iyi anlaşılması için CDC25A geninin düzenlenmesinde rol alan genetik yolağın incelenmesi, CDC25A geninin pankreas kanserindeki gerçek rolünü ortaya konmasını sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin.* 2004; 54: 8–29.
2. Warshaw AL, Fernandez-del Castillo C. Pancreatic carcinoma. *N Engl J Med.* 1992; 326: 455–465.
3. Allison DC, Piantadosi S, Hruban RH, Dooley WC, Fishman EK, Yeo CJ, Lillemoe KD, Pitt HA, Lin P, Cameron JL. DNA content and other factors associated with ten-year survival after resection of pancreatic carcinoma. *J Surg Oncol.* 1998; 67: 151–159.
4. Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sohn TA, Campbell KA, Sauter PK, Coleman J, Abrams RA, Hruban RH. Pancreaticoduodenectomy with or without distal gastrectomy and extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma, part 2: randomized controlled trial evaluating survival, morbidity, and mortality. *Ann Surg* 2002;236:355–366.
5. Boutros R, Lobjois V and Ducommun B. 2007. CDC25 phosphatases in cancer 2007; 7; 495-507.
6. Eckstein JW. Cdc25 as a potential target of anticancer agents. *Investigational New Drugs.* 2000; 18: 149-156.
7. Gasparotto D, Maestro R, Piccinin S, Vukosavljevic T, Barzan L, Sulfaro S and Boiocchi M. Overexpression of CDC25A and CDC25B in Head and Neck Cancers. *Cancer Research.* 1997; 57: 2366-2368.
8. Kudo Y, Yasui W, Ue T, Yamamoto S, Yokozaki H, Nikai H and Tahara E. Overexpression of Cyclin-dependent Kinase-activating CDC25B Phosphatase in Human Gastric Carcinomas. *Jpn. J. Cancer Res.* 1997; 88: 947-952.

9. Hernandez S, Bessa X, Bea S, Hernandez L, Nadal A, Mallofre C, Muntane J, Castells A, Fernandez PL, Cardesa A and Campo E. Differential Expression of cdc25 Cell-Cycle-Activating Phosphatases in Human Colorectal Carcinoma. *Laboratory Investigation*. 2001; 81: 465-473.
10. Cangi MG, Cukor B, Soung P, Signoretti S, Moreira Jr.G, Ranashinge M, Cady B, Pagano M and Loda M. Role of the Cdc25A phosphatase in human breast cancer. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000; 106: 753-761.
11. Ito Y, Yoshida H, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kuma K and Miyauchi A. Expression of cdc25A and cdc25B Phosphatase in Breast Carcinoma. *Breast Cancer*. 2004; 11: 295-300.
12. Guo Y, Kleeff J, Li J, Ding J, Hammer J, ZhaoY, Giese T, Korc M, Buchler MW, Friess H. Expression and functional significance of CDC25B in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*. 2004; 23: 71–81.
13. Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. *Basic Histology*. 9th Ed. Appleton & Lange. 1998; 45.
14. Şeftalioğlu A. Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. Üçüncü Baskı. 1998; 94.
15. Skandalakis JKE, Gray SW, et al.: *Surgical anatomy of the pancreas*, in Howard JM, Jordan GL, Rebel HA (eds): *Surgical Diseases of Pancreas* .Philadelphia, Lea & Febier. 1987; pp: 11-36
16. Boring CC, Squires TS, Tong T, Montgomery S: *Cancer statistics*. *CA Cancer J Clin*. 1994; 44: 7-26.
17. Muir C, Waterhouse J, Mack T, et al: *Cancer Incidence in Five Continents*, (IARC Scientific Publication No. 88). Lyon, France, International Agency for Research on Cancer. 1988; 5; 78-79.

18. Ivy EJ, Sarr MG, Reiman HM: Nonendocrine cancer of the pancreas in patients under age forty years. *Surgery*. 1990; 108: 481-487.
19. Stolzenberg-Solomon, R.Z., Graubard, B.I., Chari, S., Limburg, P., Taylor, P.R., Virtamo, J., and Albanes, D. Insulin, glucose, insulin resistance, and pancreatic cancer in male smokers. *JAMA*. 2005; 294: 2872–2878.
20. Pour PM: Induction of exocrine pancreatic, bile duct, and thyroid gland tumors in offspring of Syrian hamsters treated with N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine during pregnancy. *Cancer Res* 1986; 46: 3663-3666.
21. Fontham ET, Correa P: Epidemiology of pancreatic cancer. *Surg Clin North Am*. 1989; 69: 551-567.
22. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al: Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer: International Pancreatitis Study Group. *New Engl J Med*. 1993; 328: 1433-1437.
23. Gold EB, Cameron JL: Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *New Engl J Med*. 1993; 328: 1485-1486.
24. Scarpa A, Capelli P, Mukai K, et al: Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations. *Am J Pathol*. 1993; 142: 1534-1543.
25. Bardi G, Johansson B, Pandis N, et al: Karyotypic abnormalities in tumours of the pancreas. *Br J Cancer*. 1993; 67: 1106-1112.
26. Petersen, G.M. and Hruban, R.H. Familial pancreatic cancer. *J. Natl. Cancer Inst*. 2003; 95: 180–181.
27. Whitcomb, D.C., Gorry, M.C., Preston, R.A., Furey, W., Sossenheimer, M.J., Ulrich, C.D., Martin, S.P., Gates Jr., L.K., Amann, S.T., Toskes, P.P., et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nat. Genet*. 1996; 14: 141–145.

28. Thompson, D. and Easton, D.F. Cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; 94: 1358–1365.
29. Wilentz, R.E., Geradts, J., Maynard, R., Offerhaus, G.J., Kang, M., Goggins, M., Yeo, C.J., Kern, S.E., and Hruban, R.H. Inactivation of the p16(INK4A) tumor-suppressor gene in pancreatic duct lesions: Loss of intranuclear expression. *Cancer Res.* 1998; 58: 4740–4744.
30. Lynch, H.T., Smyrk, T., Kern, S.E., Hruban, R.H., Lightdale, C.J., Lemon, S.J., Lynch, J.F., Fusaro, L.R., Fusaro, R.M., and Ghadirian, P. Familial pancreatic cancer: A review. *Semin. Oncol.* 1996; 23: 251–275.
31. Eberle, M.A., Pfitzer, R., Pogue-Geile, K.L., Bronner, M.P., Crispin, D., Kimmey, M.B., Duerr, R.H., Kruglyak, L., Whitcomb, D.C., and Brentnall, T.A. A new susceptibility locus for autosomal dominant pancreatic cancer maps to chromosome 4q32–34. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 70: 1044–1048
32. Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P., DiMagno, E.P., Elitsur, Y., Gates Jr., L.K., Perrault, J., and Whitcomb, D.C. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *J. Natl. Cancer Inst.* 1997; 89: 442–446
33. Neglia, J.P., FitzSimmons, S.C., Maisonneuve, P., Schoni, M.H., Schoni-Affolter, F., Corey, M., and Lowenfels, A.B. The risk of cancer among patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis and Cancer Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 494–499.
34. Sharer, N., Schwarz, M., Malone, G., Howarth, A., Painter, J., Super, M., and Braganza, J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 645–652.
35. Malats, N., Casals, T., Porta, M., Guarner, L., Estivill, X., and Real, F.X. Cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) DeltaF508 mutation and 5T allele in patients with chronic pancreatitis and exocrine pancreatic cancer. Pankreas II Study Group. *Gut.* 2001; 48: 70–74.

36. Matsubayashi, H., Fukushima, N., Sato, N., Brune, K., Canto, M., Yeo, C.J., Hruban, R.H., Kern, S.E., and Goggins, M. Polymorphisms of SPINK1 N34S and CFTR in patients with sporadic and familial pancreatic cancer. *Cancer Biol. Ther.* 2003; 2: 652–655.
37. McWilliams, R., Highsmith, W.E., Rabe, K.G., de Andrade, M., Tordsen, L.A., Holtegaard, L.M., and Petersen, G.M. Cystic fibrosis transmembrane regulator gene carrier status is a risk factor for young onset pancreatic adenocarcinoma. *Gut.* 2005; 54: 1661–1662.
38. Lohr, M., Maisonneuve, P., and Lowenfels, A.B. K-Ras mutations and benign pancreatic disease. *Int. J. Pancreatol.* 2000; 27: 93–103.
39. Beachy, P.A., Karhadkar, S.S., and Berman, D.M. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. 2004; 432: 324–331.
40. Warshaw, A.L. and Fernandez-del Castillo, C. Pancreatic carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326: 455–465.
41. Li, D., Xie, K., Wolff, R., and Abbruzzese, J.L. Pancreatic cancer. *Lancet.* 2004; 363: 1049–1057.
42. Jaster, R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol. Cancer.* 2004; 3: 26.
43. Brugge, W.R., Lauwers, G.Y., Sahani, D., Fernandez-del Castillo, C., and Warshaw, A.L. Cystic neoplasms of the pancreas. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 1218–1226.
44. Maitra, A., Fukushima, N., Takaori, K., and Hruban, R.H. Precursors to invasive pancreatic cancer. *Adv. Anat. Pathol.* 2005, 12: 81–91.
45. Klimstra, D.S. and Longnecker, D.S. K-ras mutations in pancreatic ductal proliferative lesions. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 1547–1550.

46. Moskaluk, C.A., Hruban, R.H., and Kern, S.E. p16 and K-ras gene mutations in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1997; 57: 2140–2143.
47. Heinmoller, E., Dietmaier, W., Zirngibl, H., Heinmoller, P., Scaringe, W., Jauch, K.W., Hofstadter, F., and Ruschoff, J. Molecular analysis of microdissected tumors and preneoplastic intraductal lesions in pancreatic carcinoma. *Am. J. Pathol.* 2000; 157: 83–92.
48. Hruban, R.H., Wilentz, R.E., and Kern, S.E. Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 1821–1825.
49. Wilentz, R.E., Iacobuzio-Donahue, C.A., Argani, P., McCarthy, D.M., Parsons, J.L., Yeo, C.J., Kern, S.E., and Hruban, R.H. Loss of expression of Dpc4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: Evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression. *Cancer Res.* 2000; 60: 2002–2006.
50. Luttges, J., Galehdari, H., Brocker, V., Schwarte-Waldhoff, I., Henne-Bruns, D., Kloppel, G., Schmiegel, W., and Hahn, S.A. Allelic loss is often the first hit in the biallelic inactivation of the p53 and DPC4 genes during pancreatic carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 1677–1683.
51. Maitra, A., Adsay, N.V., Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., De Marzo, A., Cameron, J.L., Yeo, C.J., and Hruban, R.H. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod. Pathol.* 2003; 16: 902–912.
52. Campbell, S.L., Khosravi-Far, R., Rossman, K.L., Clark, G.J., and Der, C.J. 1998; 456-457.
53. Malumbres, M. and Barbacid, M. RAS oncogenes: The first 30 years. *Nat. Rev. Cancer.* 2003; 3: 459–465.
54. Klimstra, D.S. and Longnecker, D.S. K-ras mutations in pancreatic ductal proliferative lesions. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 1547–1550.

55. Rozenblum, E., Schutte, M., Goggins, M., Hahn, S.A., Panzer, S., Zahurak, M., Goodman, S.N., Sohn, T.A., Hruban, R.H., Yeo, C.J., et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res.* 1997; 57: 1731–1734.
56. Rodriguez-Viciana, P., Warne, P.H., Vanhaesebroeck, B., Waterfield, M.D., and Downward, J. Activation of phosphoinositide 3-kinase by interaction with Ras and by point mutation. *EMBO J.* 1996; 15: 2442–2451.
57. Cheng, J.Q., Ruggeri, B., Klein, W.M., Sonoda, G., Altomare, D.A., Watson, D.K., and Testa, J.R. Amplification of AKT2 in human pancreatic cells and inhibition of AKT2 expression and tumorigenicity by antisense RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93: 3636–3641.
58. Ruggeri, B.A., Huang, L., Wood, M., Cheng, J.Q., and Testa, J.R. Amplification and overexpression of the AKT2 oncogene in a subset of human pancreatic ductal adenocarcinomas. *Mol. Carcinog.* 1998; 21: 81–86.
59. Altomare, D.A., Tanno, S., De Rienzo, A., Klein-Szanto, A.J., Tanno, S., Skele, K.L., Hoffman, J.P., and Testa, J.R. Frequent activation of AKT2 kinase in human pancreatic carcinomas. *J. Cell. Biochem.* 2003; 88: 470–476.
60. Schlieman, M.G., Fahy, B.N., Ramsamooj, R., Beckett, L., and Bold, R.J. Incidence, mechanism and prognostic value of activated AKT in pancreas cancer. *Br. J. Cancer.* 2003; 89: 2110–2115.
61. Ng, S.S.W., Tsao, M.S., Chow, S., and Hedley, D.W. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances gemcitabine- induced apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Cancer Res.* 2000; 60: 5451–5455.
62. Perugini, R.A., McDade, T.P., Vittimberga Jr., F.J., and Callery, M.P. Pancreatic cancer cell proliferation is phosphatidylinositol 3-kinase dependent. *J. Surg. Res.* 2000; 90: 39–44.

63. Shah, S.A., Potter, M.W., Hedeshian, M.H., Kim, R.D., Chari, R.S., and Callery, M.P. PI-3_ kinase and NF-_B crosssignaling in human pancreatic cancer cells. *J. Gastrointest. Surg.* 2001; 5: 603–612.
64. Sclabas, G.M., Fujioka, S., Schmidt, C., Evans, D.B., and Chiao, P.J. NF-_B in pancreatic cancer. *Int. J. Gastrointest. Cancer.* 2003; 33: 15–26.
65. Ghosh, S., May, M.J., and Kopp, E.B. NF-_B and Rel proteins: Evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 1998; 16: 225–260.
66. Karin, M. and Ben-Neriah, Y. Phosphorylation meets ubiquitination: The control of NF-_B activity. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 621–663.
67. Hayden, M.S. and Ghosh, S. Signaling to NF-_B. *Genes & Dev.* 2004; 18: 2195–2224.
68. Orłowski, R.Z. and Baldwin Jr., A.S. NF-_B as a therapeutic target in cancer. *Trends Mol. Med.* 2002, 8: 385–389.
69. Wang, W., Abbruzzese, J.L., Evans, D.B., Larry, L., Cleary, K.R., and Chiao, P.J. The nuclear factor-_ B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin. Cancer Res.* 1999; 5: 119–127.
70. Chandler, N.M., Canete, J.J., and Callery, M.P. Increased expression of NF-_ B subunits in human pancreatic cancer cells. *J. Surg. Res.* 2004; 118: 9–14.
71. Gomez del Pulgar, T., Benitah, S.A., Valeron, P.F., Espina, C., and Lacal, J.C. Rho GTPase expression in tumourigenesis: Evidence for a significant link. *Bioessays.* 2005; 27: 602–613.
72. Wennerberg, K., Rossman, K.L., and Der, C.J. The Ras superfamily at a glance. *J. Cell Sci.* 2005; 118: 843–846.

73. Suwa, H., Ohshio, G., Imamura, T., Watanabe, G., Arii, S., Imamura, M., Narumiya, S., Hiai, H., and Fukumoto, M. Overexpression of the rhoC gene correlates with progression of ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Br. J. Cancer*. 1998; 77: 147–152.
74. Rozenblum, E., Schutte, M., Goggins, M., Hahn, S.A., Panzer, S., Zahurak, M., Goodman, S.N., Sohn, T.A., Hruban, R.H., Yeo, C.J., et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res*. 1997; 57: 1731–1734.
75. Hustinx, S.R., Leoni, L.M., Yeo, C.J., Brown, P.N., Goggins, M., Kern, S.E., Hruban, R.H., and Maitra, A. Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: Evidence of homozygous deletion in a noninvasive precursor lesion. *Mod. Pathol*. 2005; 18: 959–963.
76. Goldstein, A.M., Fraser, M.C., Struewing, J.P., Hussussian, C.J., Ranade, K., Zametkin, D.P., Fontaine, L.S., Organic, S.M., Dracopoli, N.C., Clark Jr., W.H., et al. Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4 mutations. *N. Engl. J. Med*. 1995; 333: 970–974.
77. Whelan, A.J., Bartsch, D., and Goodfellow, P.J. Brief report: A familial syndrome of pancreatic cancer and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor-suppressor gene. *N. Engl. J. Med*. 1995; 333: 975–977.
78. Goldstein, A.M., Struewing, J.P., Chidambaram, A., Fraser, M.C., and Tucker, M.A. Genotype–phenotype relationships in U.S. melanoma-prone families with CDKN2A and CDK4 mutations. *J. Natl. Cancer Inst*. 2000; 92: 1006–1010.
79. Lynch, H.T., Brand, R.E., Hogg, D., Deters, C.A., Fusaro, R.M., Lynch, J.F., Liu, L., Knezetic, J., Lassam, N.J., Goggins, M., et al. Phenotypic variation in eight extended CDKN2A germline mutation familial atypical multiple mole melanoma– pancreatic carcinoma-prone families: The familial atypical mole melanoma–pancreatic carcinoma syndrome. *Cancer*. 2002; 94: 84–96.

80. Goldstein, A.M., Fraser, M.C., Struewing, J.P., Hussussian, C.J., Ranade, K., Zametkin, D.P., Fontaine, L.S., Organic, S.M., Dracopoli, N.C., Clark Jr., W.H., et al. Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4 mutations. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333: 970–974.
81. Borg, A., Sandberg, T., Nilsson, K., Johannsson, O., Klinker, M., Masback, A., Westerdahl, J., Olsson, H., and Ingvar, C. High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 1260–1266.
82. Bardeesy, N., Aguirre, A., Chu, G., Cheng, K., Lopez, L., Hezel, A.F., Feng, B., Brennan, C., Weissleder, R., Mahmood, U., et al. Both p16Ink4a and the p19Arf-p53 pathway constrain progression of pancreatic adenocarcinoma in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2006; 103: 5947–5952.
83. Rozenblum, E., Schutte, M., Goggins, M., Hahn, S.A., Panzer, S., Zahurak, M., Goodman, S.N., Sohn, T.A., Hruban, R.H., Yeo, C.J., et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res.* 1997; 57: 1731–1734.
84. Boschman, C.R., Stryker, S., Reddy, J.K., and Rao, M.S. Expression of p53 protein in precursor lesions and adenocarcinoma of human pancreas. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 1291–1295.
85. Maitra, A., Adsay, N.V., Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., De Marzo, A., Cameron, J.L., Yeo, C.J., and Hruban, R.H. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod. Pathol.* 2003; 16: 902–912.
86. Gorunova, L., Hoglund, M., Andren-Sandberg, A., Dawiskiba, S., Jin, Y., Mitelman, F., and Johansson, B. Cytogenetic analysis of pancreatic carcinomas: Intratumor heterogeneity and nonrandom pattern of chromosome aberrations. *Genes Chromosomes Cancer.* 1998; 23: 81–99.

87. Harada, T., Okita, K., Shiraishi, K., Kusano, N., Kondoh, S., and Sasaki, K. Interglandular cytogenetic heterogeneity detected by comparative genomic hybridization in pancreatic cancer. *Cancer Res.* 2002; 62: 835–839.
88. Hahn, S.A., Schutte, M., Hoque, A.T., Moskaluk, C.A., da Costa, L.T., Rozenblum, E., Weinstein, C.L., Fischer, A., Yeo, C.J., Hruban, R.H., et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996; 271: 350–353.
89. Massague, J., Blain, S.W., and Lo, R.S. TGF β signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell.* 2000; 103: 295–309.
90. Luttges, J., Galehdari, H., Brocker, V., Schwarte-Waldhoff, I., Henne-Bruns, D., Kloppel, G., Schmiegell, W., and Hahn, S.A. Allelic loss is often the first hit in the biallelic inactivation of the p53 and DPC4 genes during pancreatic carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 1677–1683.
91. Maitra, A., Adsay, N.V., Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., De Marzo, A., Cameron, J.L., Yeo, C.J., and Hruban, R.H. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Mod. Pathol.* 2003; 16: 902–912.
92. Tascilar, M., Skinner, H.G., Rosty, C., Sohn, T., Wilentz, R.E., Offerhaus, G.J., Adsay, V., Abrams, R.A., Cameron, J.L., Kern, S.E., et al. The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7: 4115–4121.
93. Biankin, A.V., Morey, A.L., Lee, C.S., Kench, J.G., Biankin, S.A., Hook, H.C., Head, D.R., Hugh, T.B., Sutherland, R.L., and Henshall, S.M. DPC4/Smad4 expression and outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 4531–4542.
94. Friess, H., Yamanaka, Y., Buchler, M., Berger, H.G., Kobrin, M.S., Baldwin, R.L., and Korc, M. Enhanced expression of the type II transforming growth factor β receptor in human pancreatic cancer cells without alteration of type III receptor expression. *Cancer Res.* 1993; 53: 2704–2707.

95. Hemminki, A., Markie, D., Tomlinson, I., Avizienyte, E., Roth, S., Loukola, A., Bignell, G., Warren, W., Aminoff, M., Hoglund, P., et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature*. 1998; 391: 184–187.
96. Jenne, D.E., Reimann, H., Nezu, J., Friedel, W., Loff, S., Jeschke, R., Muller, O., Back, W., and Zimmer, M. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat. Genet.* 1998; 18: 38–43.
97. Giardiello, F.M., Brensinger, J.D., Tersmette, A.C., Goodman, S.N., Petersen, G.M., Booker, S.V., Cruz-Correa, M., and Offerhaus, J.A. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*. 2000; 119: 1447–1453.
98. Cooper, H.S. Benign epithelial polyps of the intestines. In *Pathology of the gastrointestinal tract*. 1998; pp: 819–853.
99. Su, G.H., Hruban, R.H., Bansal, R.K., Bova, G.S., Tang, D.J., Shekher, M.C., Westerman, A.M., Entius, M.M., Goggins, M., Yeo, C.J., et al. Germline and somatic mutations of the STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene in pancreatic and biliary cancers. *Am. J. Pathol.* 1999; 154: 1835–1840.
100. Sahin, F., Maitra, A., Argani, P., Sato, N., Maehara, N., Montgomery, E., Goggins, M., Hruban, R.H., and Su, G.H. Loss of Stk11/Lkb1 expression in pancreatic and biliary neoplasms. *Mod. Pathol.* 2003; 16: 686–691.
101. Murphy, K.M., Brune, K.A., Griffin, C., Sollenberger, J.E., Petersen, G.M., Bansal, R., Hruban, R.H., and Kern, S.E. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: Deleterious BRCA2 mutations in 17. *Cancer Res.* 2002; 62: 3789–3793.
102. Barton, C.M., Hall, P.A., Hughes, C.M., Gullick, W.J., and Lemoine, N.R. Transforming growth factor and epidermal growth factor in human pancreatic cancer. *J. Pathol.* 1991; 163: 111–116.

103. Korc, M., Chandrasekar, B., Yamanaka, Y., Friess, H., Buchler, M., and Beger, H.G. Overexpression of the epidermal growth factor receptor in human pancreatic cancer is associated with concomitant increases in the levels of epidermal growth factor and transforming growth factor. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 1352–1360.
104. Lemoine, N.R., Jain, S., Hughes, C.M., Staddon, S.L., Maillet, B., Hall, P.A., and Kloppel, G. Ki-ras oncogene activation in preinvasive pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 1992; 102: 230–236
105. Friess, H., Yamanaka, Y., Kobrin, M.S., Do, D.A., Buchler, M.W., and Korc, M. Enhanced erbB-3 expression in human pancreatic cancer correlates with tumor progression. *Clin. Cancer Res.* 1995; 1: 1413–1420.
106. Friess, H., Wang, L., Zhu, Z., Gerber, R., Schroder, M., Fukuda, A., Zimmermann, A., Korc, M., and Buchler, M.W. Growth factor receptors are differentially expressed in cancers of the papilla of Vater and pancreas. *Ann. Surg.* 1999; 230: 767–774.
107. Li, J., Kleeff, J., Giese, N., Buchler, M.W., Korc, M., and Friess, H. Gefitinib. A selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, inhibits pancreatic cancer cell growth, invasion, and colony formation. *Int. J. Oncol.* 2004; 25: 203–210.
108. Bruns, C.J., Solorzano, C.C., Harbison, M.T., Ozawa, S., Tsan, R., Fan, D., Abbruzzese, J., Traxler, P., Buchdunger, E., Radinsky, R., et al. Blockade of the epidermal growth factor receptor signaling by a novel tyrosine kinase inhibitor leads to apoptosis of endothelial cells and therapy of human pancreatic carcinoma. *Cancer Res.* 2000; 60: 2926–2935.
109. Bergmann, U., Funatomi, H., Yokoyama, M., Beger, H.G., and Korc, M. Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: Evidence for autocrine and paracrine roles. *Cancer Res.* 1995; 55: 2007–2011.
110. Ouban, A., Muraca, P., Yeatman, T., and Coppola, D. Expression and distribution of insulin-like growth factor-1 receptor in human carcinomas. *Hum. Pathol.* 2003; 34: 803–808.

111. Stoeltzing, O., Liu, W., Reinmuth, N., Fan, F., Parikh, A.A., Bucana, C.D., Evans, D.B., Semenza, G.L., and Ellis, L.M. Regulation of hypoxia-inducible factor-1, vascular endothelial growth factor, and angiogenesis by an insulinlike growth factor-I receptor autocrine loop in human pancreatic cancer. *Am. J. Pathol.* 2003; 163: 1001–1011.
112. Nair, P.N., De Armond, D.T., Adamo, M.L., Strodel, W.E., and Freeman, J.W. Aberrant expression and activation of insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) are mediated by an induction of IGF-1R promoter activity and stabilization of IGF-1R mRNA and contributes to growth factor independence and increased survival of the pancreatic cancer cell line MIA PaCa-2. *Oncogene.* 2001; 20: 8203–8214
113. Maloney, E.K., McLaughlin, J.L., Dagdigian, N.E., Garrett, L.M., Connors, K.M., Zhou, X.M., Blattler, W.A., Chittenden, T., and Singh, R. An anti-insulin-like growth factor I receptor antibody that is a potent inhibitor of cancer cell proliferation. *Cancer Res.* 2003; 63: 5073–5083.
114. Min, Y., Adachi, Y., Yamamoto, H., Ito, H., Itoh, F., Lee, C.T., Nadaf, S., Carbone, D.P., and Imai, K. Genetic blockade of the insulin-like growth factor-I receptor: A promising strategy for human pancreatic cancer. *Cancer Res.* 2003; 63: 6432– 6441.
115. Corso, S., Comoglio, P.M., and Giordano, S. Cancer therapy: Can the challenge be MET. *Trends Mol. Med.* 2005; 11: 284–292.
116. Ebert, M., Yokoyama, M., Kobrin, M.S., Friess, H., Lopez, M.E., Buchler, M.W., Johnson, G.R., and Korc, M. Induction and expression of amphiregulin in human pancreatic cancer. *Cancer Res.* 1994; 54: 3959–3962.
117. Di Renzo, M.F., Poulson, R., Olivero, M., Comoglio, P.M., and Lemoine, N.R. Expression of the Met/hepatocyte growth factor receptor in human pancreatic cancer. *Cancer Res.* 1995; 55: 1129–1138.

118. Furukawa, T., Duguid, W.P., Kobari, M., Matsuno, S., and Tsao, M.S. Hepatocyte growth factor and Met receptor expression in human pancreatic carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 1995; 147: 889–895.
119. Paciucci, R., Vila, M.R., Adell, T., Diaz, V.M., Tora, M., Nakamura, T., and Real, F.X. Activation of the urokinase plasminogen activator/urokinase plasminogen activator receptor system and redistribution of E-cadherin are associated with hepatocyte growth factor-induced motility of pancreas tumor cells overexpressing Met. *Am. J. Pathol.* 1998; 153: 201–212.
120. Cross, M.J. and Claesson-Welsh, L. FGF and VEGF function in angiogenesis: Signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends Pharmacol. Sci.* 2001; 22: 201–207.
121. Sato, N., Mizumoto, K., Nakamura, M., Nakamura, K., Kusumoto, M., Niiyama, H., Ogawa, T., and Tanaka, M. Centrosome abnormalities in pancreatic ductal carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 1999; 5: 963–970.
122. Mahlamaki, E.H., Hoglund, M., Gorunova, L., Karhu, R., Dawiskiba, S., Andren-Sandberg, A., Kallioniemi, O.P., and Johansson, B. Comparative genomic hybridization reveals frequent gains of 20q, 8q, 11q, 12p, and 17q, and losses of 18q, 9p, and 15q in pancreatic cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 1997; 20: 383–391.
123. Gorunova, L., Hoglund, M., Andren-Sandberg, A., Dawiskiba, S., Jin, Y., Mitelman, F., and Johansson, B. Cytogenetic analysis of pancreatic carcinomas: Intratumor heterogeneity and nonrandom pattern of chromosome aberrations. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 23: 81–99.
124. Armengol, G., Knuutila, S., Lluís, F., Capella, G., Miro, R., and Caballin, M.R. DNA copy number changes and evaluation of MYC, IGF1R, and FES amplification in xenografts of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2000; 116: 133–141.

125. Schleger, C., Arens, N., Zentgraf, H., Bleyl, U., and Verbeke, C. Identification of frequent chromosomal aberrations in ductal adenocarcinoma of the pancreas by comparative genomic hybridization (CGH). *J. Pathol.* 2000; 191: 27–32.
126. Sirivatanauksorn, V., Sirivatanauksorn, Y., Gorman, P.A., Davidson, J.M., Sheer, D., Moore, P.S., Scarpa, A., Edwards, P.A., and Lemoine, N.R. Non-random chromosomal rearrangements in pancreatic cancer cell lines identified by spectral karyotyping. *Int. J. Cancer* 2001; 91: 350–358.
127. Harada, T., Okita, K., Shiraishi, K., Kusano, N., Kondoh, S., and Sasaki, K. Interglandular cytogenetic heterogeneity detected by comparative genomic hybridization in pancreatic cancer. *Cancer Res.* 2002; 62: 835–839.
128. Adsay, N.V., Merati, K., Basturk, O., Iacobuzio-Donahue, C., Levi, E., Cheng, J.D., Sarkar, F.H., Hruban, R.H., and Klimstra, D.S. Pathologically and biologically distinct types of epithelium in intraductal papillary mucinous neoplasms: Delineation of an ‘intestinal’ pathway of carcinogenesis in the pancreas. *Am. J. Surg. Pathol.* 2004; 28: 839–848.
129. Gysin, S., Lee, S.H., Dean, N.M., and McMahon, M. Pharmacologic inhibition of $\text{RAF} \rightarrow \text{MEK} \rightarrow \text{ERK}$ signaling elicits pancreatic cancer cell cycle arrest through induced expression of p27Kip1. *Cancer Res.* 2005; 65: 4870–4880.
130. Nowak, N.J., Gaile, D., Conroy, J.M., McQuaid, D., Cowell, J., Carter, R., Goggins, M.G., Hruban, R.H., and Maitra, A. Genome-wide aberrations in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2005; 161: 36–50.
131. Boutros R, Lobjois V and Ducommun B. CDC25 phosphatases in cancer cells. *Nature.* 2007; 7: 495-507.
132. Eckstein JW. Cdc25 as a potential target of anticancer agents. *Investigational New Drugs.* 2000; 18: 149-156.

133. Lock LF, Wickramasinghe D, Ernst MK, Gilbert DJ, Copeland NG, Jenkins NA and Donovan PJ. The Cdc25 genes map to Mouse Chromosomes 2, 9, and 18. *Mammalian Genome*. 1996; 7: 771-772.
134. Beahrs OH, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ: *Manual for Staging of Cancer*, 4th edition. Philadelphia, JB Lippincott. 1992; 876-878.
135. Schmieg W: Tumor markers in pancreatic cancer: Current concepts. *Hepatogastroenterology*. 1989; 36: 446-449.
136. Courney MT, Mark BE, Daniel RB, Kenneth LM, Sabiston textbook of surgery. Philadelphia. WB Saunders Company. 2010; 17: 1667-1674.
137. Beretta E, Malesci A, Zerbi A, et al: Serum CA 19-9 in the postsurgical follow-up of patients with pancreatic cancer. *Cancer*. 1987; 60: 2428-2431.
138. Rothlin MA, Joller H, Largiadere F: CA 242 is a new tumor marker for pancreatic cancer. *Cancer*. 1993; 71: 701-707.
139. Niederau C, Grendell JH: Diagnosis of pancreatic carcinoma: Imaging techniques and tumor markers. *Pancreas*. 1992; 7: 66-86.
140. Palazzo L, Roseau G, Gayet B, et al: Endoscopic ultrasonography in the diagnosis and staging of pancreatic adenocarcinoma: Results of a prospective study with comparison to ultrasonography and CT scan. *Endoscopy*. 1993; 25: 143-150.
141. Rosch T, Braig C, Gai T, et al: Staging of pancreatic and ampullary carcinoma by endoscopic ultrasonography: Comparison with conventional sonography, computed tomography, and angiography. *Gastroenterology*. 1992; 102: 188-199.
142. Murugiah M, Windsor JA, Redhead DN, et al: The role of selective visceral angiography in the management of pancreatic and periampullary cancer. *World J Surg*. 1993; 17: 796-800.

143. Warshaw AL, Tepper JE, Shipley WU: Laparoscopy in the staging and planning of therapy for pancreatic cancer. *Am J Surg.* 1986; 151: 76-80.
144. Warshaw AL, Gu ZY, Wittenberg J, Waltman AC: Preoperative staging and assessment of resectability of pancreatic cancer. *Arch Surg.* 1990; 125: 230-233.
145. Warshaw AL: Implications of peritoneal cytology for staging of early pancreatic cancer. *Am JSurg.* 1991; 161: 26-29.
146. Heeckt P, Safi F, Binder T, Buchler M: Free intraperitoneal tumor cells in pancreatic cancer: Significance for clinical course and therapy. *Chirurg.* 1992; 63: 563-567.
147. Dalton RR, Sarr MG, van Heerden JA, Colby TV: Carcinoma of the body and tail of the pancreas: Is curative resection justified. *Surgery.* 1992; 111: 489-494.
148. Miedema BW, Sarr MG, van Heerden JA, et al: Complications following pancreaticoduodenectomy: Current management. *Arch Surg.* 1992; 127: 945- 950.
149. Takao S, Shimazu H, Maenohara S, et al: Modified pancreaticogastrostomy following pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg.* 1993; 165: 317-321.
150. Buchler M, Friess H, Klempa I, et al: Role of octreotide in the prevention of postoperative complications following pancreatic resection. *Am J Surg.* 1992; 163: 125-130.
151. Spencer MP, Sarr MG, Nagorney DM: Radical pancreatectomy for pancreatic cancer in the elderly: Is it safe and justified. *Ann Surg.* 1990; 212: 140-143.
152. Pitt HA, Grace PA: Cancer of the pancreas: Pylorus-preserving resection of the pancreas. *Baillieres Clin Gastroenterol.* 1990; 4: 917-930.

153. Klinkenbijl JH, van der Schelling GP, Hop WC, et al: The advantages of pylorus-preserving pancreatoduodenectomy in malignant disease of the pancreas and periampullary region. *Ann Surg.* 1992; 216: 142-145.
154. Van Heerden JA, McIlrath DC, Ilstrup DM, Weiland LH: Total pancreatectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas: An update. *World J Surg.* 1988; 12: 658-662.
155. Dresler CM, Fortner JG, McDermott K, Bajorunas DR: Metabolic consequences of (regional) total pancreatectomy. *Ann Surg.* 1991; 214: 131- 140.
156. Livingston EH, Welton ML, Reber HA: Surgical treatment of pancreatic cancer: The United States experience. *Int J Pancreatol.* 1991; 9: 153-157.
157. Pellegrini CA, Heck CF, Raper S, Way LW: An analysis of the reduced morbidity and mortality rates after pancreaticoduodenectomy. *Arch Surg.* 1989; 124: 778-781.
158. Trede M, Schwall G, Saeger HD: Survival after pancreatoduodenectomy: 118 consecutive resections without an operative mortality. *Ann Surg.* 1990; 211: 447-458.
159. Cameron JL, Crist DW, Sitzmann JV, et al: Factors influencing survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Am J Surg.* 1991; 161: 120-125.
160. Porschen R, Remy U, Bevers G, et al: Prognostic significance of DNA ploidy in adenocarcinoma of the pancreas: A flow cytometric study of paraffin-embedded specimens. *Cancer.* 1993; 71: 3846-3850.
161. Herrera MF, van Heerden JA, Katzmann JA, et al: Evaluation of DNA nuclear pattern as a prognostic determinant in resected pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann Surg.* 1992; 215: 120-124.
162. Sarr MG, Cameron JL: Surgical management of unresectable carcinoma of the pancreas. *Surgery.* 1982; 91: 123-133.

163. Lillemoe KD, Sauter PK, Pitt HA, et al: Current status of surgical palliation of periampullary carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*. 1993; 176: 1-10.
164. Lee MJ, Mueller PR, vanSonnenberg E, et al: CT-guided celiac ganglion block with alcohol. *AJR Am J Roentgenol*. 1993; 161: 633-636.
165. Dowsett JF, Russell RCG, Hatfield ARW, et al: Malignant obstructive jaundice: A prospective randomized trial of by-pass surgery versus endoscopic stenting. *Gastroenterology*. 1989; 96: 128.
166. Hyoty MK, Nordback IH: Biliary stent or surgical bypass in unresectable pancreatic cancer with obstructive jaundice. *Acta Chir Scand*. 1990; 156: 391-196.
167. Davids PH, Groen AK, Rauws EA, et al: Randomised trial of self-expanding metal stents versus polyethylene stents for distal malignant biliary obstruction. *Lancet*. 1992; 340: 1488-1492.
168. Arbuck SG: Chemotherapy for pancreatic cancer. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1990; 4: 953-968.
169. Gastrointestinal Tumor Study Group: Further evidence of effective adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection of pancreatic cancer. *Cancer*. 1987; 59: 2006-2010.
170. Foo ML, Gunderson LL, Nagorney DM, et al: Patterns of failure in grossly resected pancreatic ductal adenocarcinoma treated with adjuvant irradiation +/- 5-fluorouracil. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993; 26: 483-489.
171. Evans DB, Rich TA, Byrd DR, et al: Preoperative chemoradiation and pancreaticoduodenectomy for adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Surg*. 1992; 127: 1335-1339.
172. Yeung RS, Weese JL, Hoffman JP, et al: Neoadjuvant chemoradiation in pancreatic and duodenal carcinoma: A phase II study. *Cancer*. 1993; 72: 2124-2133.

173. Moertel CG, Frytak S, Hahn RG, et al: Therapy of locally unresectable pancreatic carcinoma: A randomized comparison of high dose (6000 rads) radiation alone, moderate dose radiation (4000 rads + 5-Fluorouracil) and high dose radiation + 5-Fluorouracil: The Gastrointestinal Tumor Study Group. *Cancer*. 1981; 48: 1705-1710.
174. Gastrointestinal Tumor Study Group: Treatment of locally unresectable carcinoma of the pancreas: Comparison of combined-modality therapy (chemotherapy plus radiotherapy) to chemotherapy alone. *J Natl Cancer Inst*. 1988; 80: 751-755.
175. Roldan GE, Gunderson LL, Nagorney DM, et al: External beam irradiation for locally advanced pancreatic cancer. *Cancer*. 1989; 61: 1110-1116.
176. Dobelbower RR, Bronn DG: Radiotherapy in the treatment of pancreatic cancer. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1990; 4: 969-983.
177. Bardeesy N and DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2: 897–909.
178. Kleeff J and Korc M. Up-regulation of transforming growth factor (TGF)-beta receptors by TGF-beta1 in COLO-357 cells. *J. Biol. Chem*. 1998; 273: 7495–7500.
179. Koliopanos A, Friess H, Kleeff J, Shi X, Liao Q, Pecker I, Vlodavsky I, Zimmermann A and Buchler MW. Heparanase expression in primary and metastatic pancreatic cancer. *Cancer Res*. 2001; 61: 4655–4659.
180. Ozawa F, Friess H, Tempia-Caliera A, Kleeff J and Buchler MW. Growth factors and their receptors in pancreatic cancer. *Teratog. Carcinog. Mutagen*. 2001; 21: 27–44.
181. Tsai RY and McKay RD. A nucleolar mechanism controlling cell proliferation in stem cells and cancer cells. *Genes Dev*. 2002; 16: 2991–3003.
182. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science*. 1996; 274: 1672–1677.

183. Lal G, Liu L, Hogg D, Lassam NJ, Redston MS and Gallinger S. Patients with both pancreatic adenocarcinoma and melanoma may harbor germline CDKN2A mutations. *Genes Chromosomes Cancer*. 2000; 27: 358–361.
184. Galaktionov K and Beach D. Specific activation of cdc25 tyrosine phosphatases by B-type cyclins: evidence for multiple roles of mitotic cyclins. *Cell*. 1991; 67: 1181–1194.
185. Sebastian B, Kakizuka A and Hunter T. Cdc25M2 activation of cyclin-dependent kinases by dephosphorylation of threonine-14 and tyrosine-15. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993; 90: 3521–3524.
186. Hoffmann I, Draetta G and Karsenti E. Activation of the phosphatase activity of human cdc25A by a cdk2-cyclin E dependent phosphorylation at the G1/S transition. *EMBO J.* 1994; 13: 4302–4310
187. Hoffmann I, Clarke PR, Marcote MJ, Karsenti E and Draetta G. Phosphorylation and activation of human cdc25-C by cdc2--cyclin B and its involvement in the self-amplification of MPF at mitosis. *EMBO J.*, 1993; 12: 53–63.
188. Lammer C, Wagerer S, Saffrich R, Mertens D, Ansorge W and Hoffmann I. The cdc25B phosphatase is essential for the G2/M phase transition in human cells. *J. Cell Sci.*, 1998; 111: 2445–2453.