



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

**PANKREAS KANSERİ İLE UGT1A3 VE UGT1A7
GEN EKSPRESYONLARI ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Latif YILMAZ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet A. BALIK**

Mart 2014

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

**PANKREAS KANSERİ İLE UGT1A3 VE UGT1A7
GEN EKSPRESYONLARI ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Latif YILMAZ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet A. BALIK**

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

PANKREAS KANSERİ İLE UGT1A3 VE UGT1A7
GEN EKSPRESYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

DR LATİF YILMAZ

10.03.2014

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof.Dr. Levent ~~YILMAZ~~
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Prof. Dr. AHMET A. BALIK
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
2. Prof. Dr. Ahmet A. BALIK
3. Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
4. Doç. Dr. Sacit A. ÇOBAN
5. Yrd. Doç. Dr. İlyas BAŞKONUS

I. ÖNSÖZ

Bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıları ve tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet A. BALIK hocama saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, azim, deneyim, meslek sevgisi ile bana örnek olan ve eğitimime büyük emeği geçen Genel Cerrahi A.D. öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. Avni GÖKALP, Sn. Prof. Dr. Necdet AYBASTI, Sn. Prof. Dr. Göktürk MARALCAN, Sn. Doç. Dr. Sacid ÇOBAN, Sn. Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ, Sn. Yrd. Doç. Dr. İlyas BAŞKONUŞ, Sn. Yrd. Doç. Dr. Ersin BORAZAN hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

İhtisas sürem boyunca güzel bir uyum içinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi, hemşire ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez aşamasında da bana her türlü manevi desteği veren ve her zaman yanımda olan sevgili eşim Asiye'ye ayrıca hayatıma farklı bir mutluluk katan biricik oğlum Berkay'a, evlatları olmaktan onur duyduğum, hiçbir karşılık beklemeden maddi ve manevi desteklerini her zaman arkamda hissettiğim aileme ayrı ayrı sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Latif YILMAZ
Gaziantep 2014

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III.ÖZET.....	V
IV. ABSTRACT.....	VI
V. KISALTMALAR.....	VII
VI. TABLO LİSTESİ.....	VIII
VII .ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Pankreasın Anatomisi.....	4
2.2. Pankreatik Kanallar.....	7
2.3. Pankreasın Embriyoloji.....	8
2.4. Pankreasın Histolojisi ve Fizyolojisi.....	8
2.5. Pankreas Kanseri.....	11
2.5.1. İnsidans.....	12
2.5.2. Etyopatogenez.....	12
2.5.3. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Öncüleri.....	13
2.5.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Genetik.....	16
2.6. Pankreas Tümörlerinin Histopatolojik ve Fenotipik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması.....	18
2.6.1 Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom.....	19
2.6.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Varyantları....	20
2.6.3. Pankreas İnfiltraif Duktal Adenokarsinom Makroskopik Görünümü.....	21
2.6.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Görünümü.....	21
2.7. Tümör Yayılımı, Evrelemesi ve Derecelendirmesi.....	23

2.8. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Prognoz	25
2.8.1. Prognostik Faktörler.....	25
2.9. Pankreas Kanserinde Semptom Ve Bulgular.....	25
2.10. Laboratuvar Değerlendirilmesi.....	27
2.11. Biyomoleküler Belirleyiciler.....	27
2.12. Tanısal Görüntüleme.....	28
2.12.1. Ultrasonografi (USG).....	28
2.12.2. Bilgisayarlı Tomografi (BT).....	29
2.12.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi (MRCP).....	31
2.12.4. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi (ERCP) ve Stentler.....	31
2.12.5. Perkütan Transhepatik Kolanjiografi (PTK).....	32
2.12.6. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET).....	32
2.12.7. Anjiyografi.....	32
2.12.8. Endoskopik Ultrasonografi.....	33
2.12.9. Laparoskopi.....	33
2.13. Ameliyat Öncesi veya Ameliyat Esnasında Biyopsi Endikasyonu....	34
2.14. Ameliyat Endikasyonu.....	35
2.15. Periapuller Bölge Tümörlerinde Uygulanan Cerrahi Prosedürler...	36
2.15.1. Potansiyel küratif rezeksiyon.....	37
2.15.2. Genişletilmiş Lenfadenektomi.....	37
2.15.3. Pankreatikoduodenektomiye Alternatifler.....	37
2.15.4. Cerrahi Palyasyon.....	38
2.15.5. Cerrahi Dışı Palyasyon.....	39
2.15.6. Cerrahinin Sonuçları.....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
3.1. Numunelerin Temini.....	42
3.2. RNA izolasyonu.....	42
3.3. cDNA eldesi.....	43
3.4. Real Time PCR ile UGT1A3 ve UGT1A7 Gen İfadesinin Tespiti.....	43
3.5. İstatistiksel Analiz.....	45

4. BULGULAR.....	46
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
7. KAYNAKLAR.....	64

III. ÖZET

PANKREAS KANSERİ İLE UGT1A3 VE UGT1A7 GEN EKSPRESYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Latif YILMAZ

Uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof Dr. Ahmet A. BALIK

Mart 2014, 84 sayfa

Pankreas kanserlerinin ölüm oranlarının yüksek olması nedeniyle önemli sorun teşkil etmektedir. Bu yüzden ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. UGT1A gen ailesinin kanser oluşumunda koruyucu etkisi olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur. Bu nedenle araştırmamızda pankreas kanserlerine ait hücrelerin UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ifade düzeyleri incelenmesi ile pankreas kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, pankreas kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesi amaçlanmaktadır. Bu prospektif çalışma etik kurul onayı ile pankreas kanserli hastalarda yapıldı. Ameliyatta alınan tümörlü ve sağlam dokularda mRNA ve cDNA seviyeleri çalışıldı. Real Time PCR ile UGT1A3 ve UGT1A7 gen ifadelerinin tespiti yapıldı. $2^{-\Delta C_t}$ metodu kullanılarak bu genlerin ifade düzeyleri beta-aktin ifade düzeyleri ile kıyaslandı. Çalışmaya 13 kadın (%30,2), 30 erkek (%69,8) hasta dahil edildi. Yaş ortalaması 61,5 idi. Hastaların 40'ının patolojisi adenokarsinom olarak tespit edildi. UGT1A3 gen ekspresyonu $2^{-\Delta C_t}$ değeri normal dokuda 0,00512, tümörlü dokuda 0,00916 ölçüldü. UGT1A3 gen ekspresyon düzeyi tümörlü dokuda artmış olarak saptandı ($p<0,05$). Bu değerler sayısal olarak değerlendirildiğinde UGT1A7 gen ekspresyonu $2^{-\Delta C_t}$ değeri normal dokuda 0,0167, tümörlü dokuda 0,01858 olarak ölçüldü. UGT1A7 gen ekspresyon düzeyi de tümörlü dokuda istatistiksel olarak artmış bulundu ($p<0,05$). Ayrıca tümör çapı arttıkça UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyon düzeyleri aynı oranda artmaktadır ($p<0,05$). Bu çalışma ile pankreas tümöründe UGT1A3 ve UGT1A7 mRNA ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyonlarının tümörlü dokularda artmış olması dikkat çekiciydi. Çünkü literatürde pankreas dışında yapılan diğer kanserli dokularda UGT1A gen ailesi ekspresyonları genellikle kanserli dokularda azalmış bulunmaktadır. Normal pankreas hücrelerinde UGT1A3 ve UGT1A7 ekspresyonunun kanserli dokuya göre daha az bulunması ve tümör çapı arttıkça UGT1A3 ve UGT1A7 ekspresyonunun kanserli dokuda orantılı olarak artması, ekspresyonun artışının pankreasın enzimatik yapısından ziyade kansere bağlı hücresel değişiklikten kaynaklandığını desteklemektedir.

Bu çalışma; Türk popülasyonunda pankreas kanserli hücrelerde UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyonu olduğunu göstermiş olup bu genlerin pankreas kanserinden koruyucu etkisi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: UGT1A3 ve UGT1A7 genleri, gen ekspresyonu, pankreas kanseri

IV. ABSTRACT

IDENTIFICATION OF UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE UGT1A3 AND UGT1A7 GENETIC EXPRESSION IN PANKREATIC CANCER

Latif YILMAZ, M.D.

Residency Thesis, Department of General Surgery

Supervisor: Ahmet A. BALIK, M.D. Prof Dr.

March 2014, 84 Pages

Pancreatic cancers are very important malignities because of their high mortality rates. Thus, it is important to be able to evaluate the cells that will become cancer in future and to know the protective genetic factors. In many studies, it has been shown that UGT1A gene family has protective effects on cancer development. Therefore the aim of this study is to evaluate the rate of UGT1A3 and UGT1A7 gene expression, to search the molecular bases of pancreatic cancer's genetic treatment and to make early diagnose of pancreatic cancers possible before occurrence of any mass in pancreas. This study was performed after the approval of ethical committee, on patients with pancreatic cancer. mRNA and cDNA levels were measured in normal and tumor tissues which were collected intraoperatively. UGT1A and UGT1A7 gene expressions were determined with real time PCR with $2^{-\Delta Ct}$ method, we compared expressions rates of this genes with beta-actin's. Thirteen female (%30.2) and 30 male (%69.2) patients were included. Main age was 61.5. Pathological diagnosis of 40 patients was adenocarcinoma. $2^{-\Delta Ct}$ value of UGT1A3 gene expression was 0.00512 in normal tissue and 0.00916 in tumor tissue. UGT1A3 gene expression level was higher in tumor tissues ($p<0.05$). According to calculation of this findings, $2^{-\Delta Ct}$ level of UGT1A7 gene expression was 0.0167 in normal tissues and 0.01858 in tumor tissues. UGT1A7 gene expression level was also statistically higher ($p<0.05$). Additionally there was a correlation between tumor's size and levels of UGT1A7 and UGT1A3 gene expressions. With this study, it is shown that pancreatic tumors have UGT1A7 and UGT1A3 mRNA expression. Upregulation of UGT1A7 and UGT1A3 expressions in tumor tissues was remarkable. According to literature, UGT1A gene family's expression was downregulated in non-pancreatic tumor tissues. Lower measuring of UGT1A7 and UGT1A3 expressions in normal tissues and the proportional increase of UGT1A7 and UGT1A3 expressions in tumor tissues with the size of tumor show us that expressions's increase are not because of enzymatic activities of pancreas but related with cellular changes due to cancer.

This study showed that UGT1A3 and UGT1A7 exspressions exist in pancreatic cancer cells in turkish population and there can be a probable protective effect of this genes against pancreatic cancer.

Keywords: UGT1A3 and UGT1A7 genes, genetic expression, pancreatic cancer

V. KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Ark.	: Arkadaşları
BaP	: Benzo(a)piren
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CA	: Karbonhidrat antijen
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
DPC4	: Pankreatik kanser lokus 4 delesyon
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi
HCC	: Hepatocellüler Karsinom
K-ras	: Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
MRCP	: Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NNK	: (4-Metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon
PanIN	: Pankreatik intraepitelyal neoplazi
PAS	: Periodik Asit Schiff
PCR	: Polimeراز Zincir Reaksiyonu
PDAK	: Pankreas duktal adenokarsinomu
PET	: Positron Emisyon Tomografi
PNİ	: Perinöral invazyon
PTK	: Perkütan Transhepatik Kolanjiografi
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TP53	: Tümör protein 53
TSA	: Tansiyonin IIA
UDP	: Üridine di-phosphate
UGT	: UDP-Glukuronosyl Transferase
USG	: Ultrasonografi

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1	: Pankreas kanserinde etyolojik ve risk etkenleri.....	13
Tablo 2	: PanIN histolojik spektrumu.....	14
Tablo 3	: Pankreas kanserinde sıklıkla değişime uğrayan genler.....	16
Tablo 4	: a)Pankreas kanserlerinin epitelyal tümörlerinin fenotipik özelliklerine göre sınıflandırılması.....	19
	b)Pankreas kanserinin histolojik sınıflandırılması(DSÖ).....	19
Tablo 5	: Pankreas tümörlerinin genel özellikleri.....	20
Tablo 6	: PDAK için modifiye edilmiş 2000 yılı DSÖ derecelendirme şeması.....	23
Tablo 7	: Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom TNM sınıflandırması.....	24
Tablo 8	: Pankreas kanserlerin bulgu ve semptomları.....	26
Tablo 9	: Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	46
Tablo 10	: Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı.....	46
Tablo 11	UGT1A3 gen ekspresyon düzeyleri.....	47
Tablo 12	: Pankreasın normal ve tümörlü dokularında UGT1A3 geninin T testi ile ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	49
Tablo 13	: UGT1A3 geni 2 – Δ Ct N-T değerinin tümör çapları ile ilgisinin T testi ile değerlendirilmesi.....	49
Tablo 14	UGT1A7 gen ekspresyon düzeyleri.....	50
Tablo 15	: Pankreasın normal ve tümörlü dokularında UGT1A3 geninin T testi ile ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	52
Tablo 16	UGT1A3 geni 2 – Δ Ct N-T değerinin tümör çapları ile ilgisinin T testi ile değerlendirilmesi.....	52

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Pankreasın anatomisi.....	4
Şekil 2	: Pankreasın lenfatik drenajı.....	6
Şekil 3	: Pankreasın kanalları.....	7
Şekil 4	: Pankreasın histolojisi. Lobüler görünüm (HEX40).....	9
Şekil 5	: Pankreasın yerleşimi ve yapısı.....	10
Şekil 6	: Pankreasın anatomisi a) Pankreatik asinüslerin dağılımı, b) Asinüs yapısı, c) Pankreatik hücrelerin dağılımı.....	11
Şekil 7	: a) PanIN-1A, b) PanIN-1B, c) PanIN-2, d) PanIN-3 histomorfolojik görünüm.....	15
Şekil 8	: Normal duktal epitelin PanIN'lerden PDAK'a doğru aşamalı olarak sitogenetik ilerlemesi.....	15
Şekil 9	: Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom, iyi diferansiye (HEX100).....	22
Şekil10	: Real time pcr ile UGT1A3, UGT1A7 ve B- Aktin gen ifadesi sonuçlarının grafiği.....	44
Şekil 11	: Pankreas normal hücre ve kanserli hücrelerde UGT1A3 geninin rölatif katsayı değerleri (Fold Change) ($2^{-\Delta Ct}$ metot) (Total).....	48
Şekil 12	: Pankreas kanserli hücrelerde UGT1A3 geninin rölatif katsayısındaki değişiklikler) ($2^{-\Delta Ct}$ metot) (Normal-Tümör).....	48
Şekil 13	: Pankreas normal hücre ve kanserli hücrelerde UGT1A7 geninin rölatif katsayı değerleri (Fold Change) ($2^{-\Delta Ct}$ metot) (Total).....	51
Şekil 14	: Pankreas kanserli hücrelerde UGT1A3 geninin rölatif katsayısındaki değişiklikler) ($2^{-\Delta Ct}$ metot) (Normal-Tümör).....	51

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreatik kanser, tanı ve tedavisinde yaşanan güçlükler nedeniyle ölüm oranı en yüksek olan kanser tiplerinden biridir. Kanserlerde tanı ve tedavi protokollerinin belirlenmesinde, moleküler patogenezinin anlaşılması önemli yer tutmaktadır (1).

Pankreas kanseri, gastrointestinal kanser ile ilişkili ölümlerin en yaygın nedenidir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kanser nedenli ölümlerin en sık dördüncü nedenidir (2). Aynı şekilde, 5 yıllık sağ kalım oranı ileri evre hastalıkta hastanın geç prezentasyonu nedeniyle %5'den azdır, bu yüzden de terapötik girişimi zordur (3). Potansiyel küratif tedavi için tek metot cerrahi rezeksiyondur, ancak bu hastaların sadece %10-20'sine uygulanabilir (4). Pankreatikoduonektomi (Whipple prosedürü) uygulanan hastalardaki 5 yıllık sağ kalım iyileşmiş ve %20'ye yaklaşmıştır (5). Önemli olarak çapı 2 cm'den küçük olan kanserler pankreasa sınırlı olduğunda ve erken safhada tespit edildiğinde, 5 yıllık sağ kalım %46'ya yaklaşabilir (5). Bu amaç için, ortalama veya yüksek riskteki hastalardaki preneoplastik lezyonlar (pankreatik intraepitelyal neoplazi veya PanIN) da dahil çok erken safhadaki pankreas kanserinin tespiti, pankreas kanserine bağlı ölüm oranının 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. Güncel olarak bazı çalışmalarda kanserlerle UGT1A gen ailesi ekspresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Örneğin; UGT1A7 gen ailesi ekspresyonunun kolorektal kanserlerde azalmış aktivitesi saptanmış ve bu nedenle sporadik kolon kanserli vakalarda potansiyel yeni bir risk faktörü olabileceği vurgulanmış (6), viral orjinli siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle pozitif, alkolik siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle negatif ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (7). UGT1A10 ve UGT2B7 gen alelleri ekspresyonunun meme kanserli dokularda normal dokulara göre azalmış olduğu tespit edilmiş (8).

UGTler tarafından katalizlenen glukuronidasyon reaksiyonu bir çok endojen bileşiğin, çeşitli ilaçların, xenobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli bir süreçtir.

Glukuronidasyon inaktif hidrofilik glukuronidlerin idrar ve safra yolu ile vücuttan eliminasyonunu kolaylaştırır (9,10). Glukuronidasyonun genel olarak, toksisite yaptığı veya kanserojen olduğu gösterilmiş bir çok endojenin, besinsel maddelerin, klinik olarak uygulanan ilaçların ve tabii ki bir çok çevresel kimyasalın aktivitelerinin azaltılması veya sonlandırılması şeklinde koruyucu yahut inaktive edici bir fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir (10). Bununla birlikte glukuronidasyon, biyoaktif ve hatta östrojen, morfin, retinoidler, safra asitleri ve heterosiklik aromatik aminleri gibi toksik bileşiklerin bile oluşması ile de sonuçlanabilir (11,12).

UGTler primer aminoasit sekanslarının benzerliğine göre iki aile olarak sınıflandırılmıştır, UGT1 ve UGT2. İnsanlarda UGT1 geni, 2-q37 kromozumu üzerindeki gen lokusu tarafından kodlanan RNA transkripsiyonu kodlar (13,14). UGTler hidrofobik substratların renal veya safra yoluyla kolaylıkla elemine edilebilen inaktif hidrofobik β -D-glukopiranosiduronik asitlere (glukuronidler) dönüşümü katalizlerler. Glukuronidasyon için hedef substratlar üriner yan ürünlerin, steroid ve bilürubin gibi endojen metabolitlerin, bir çok terapötik ilacın ve polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlarla heterosiklik aminler gibi bir çok çevresel mutajenlerin bileşimlerinden meydana gelir (14). Bu enzimler hücrel savunmada kritik bir rol oynarlar ve hücrel detoksifikasyon ile ilgili proteinlerin major grubunu oluşturdıkları düşünülmektedir.

İnsanlarda, UGT1A lokus geninin dokuya özel ürünlerin ekspresyonu ispatlanmıştır (15,16). UGT1A7, UGT1A8 ve UGT1A10 karaciğer dokusunda sentezlenmezler ve farklı olarak özofagus (17), mide (15), ince barsaklar (18) ve kolon (19) gibi intestinal sistem organlarınca düzenlendikleri gösterilmiştir. Ek olarak, UGT1A genlerinin regülasyonu ve fonksiyonları gastrointestinal karsinogenezis ile ilişkilendirilmiştir (14, 17, 18, 20). İnsan kanserlerinin analizleri tümör dokularında UGT ekspresyonunun farklı düzenlemelerini göstermiştir (18, 20). Gastrik mukozada, bireyler arasında UGT aktivitesinde varyasyonlara yol açan UGT1A regülasyonu bir kanser risk faktörü olarak belirtilmiş iken (18) özofagus kanserinde UGT1A7 transkripsiyonunun down regülasyonu tüm özofageal benzo(α)piren metabolit glukuronidasyonunda düşüş ile koreledir (17). UGT1A7'nin klonlanması veya karakterize edilmesi, onun polisiklik aromatik hidrokarbonların ve tabii ki üriner heterosiklik aminlerin glukuronidasyonundaki kapasitesini göstermiştir ki her ikisi de kanserojen olarak

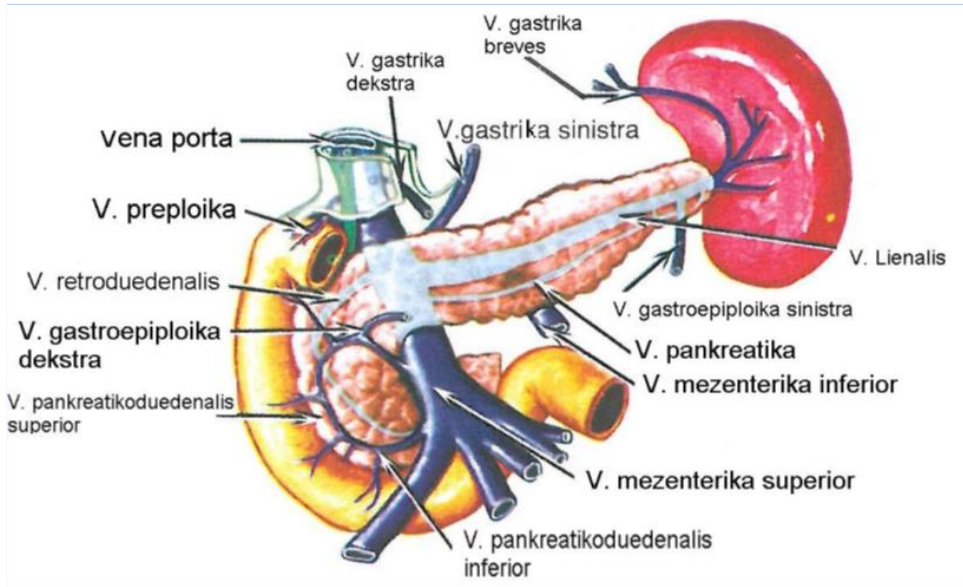
bilinmektedirler. Bu bulgular bizim, UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ekspresyonundaki veya fonksiyonel özelliklerindeki oynamaların potansiyel kanser riski için gösterge olabileceğinden şüphelenmemize neden olmuştur. Bundan dolayı, pankreas kanseri ile ilişkisini incelemek amacı ile hedef genler olarak belirlenmiştir.

Pankreas kanserlerinin mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle önemli yer teşkil etmektedir. Bu yüzden ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. Araştırmamızda pankreas kanserlerine ait hücrelerin UGT1A gen ailesinin ifade düzeyleri incelenmesi ile pankreas kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, pankreas kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreasın Anatomisi

Pankreas anatomik olarak retroperitoneal bölgede duodenum ve dalak arasında transvers olarak uzanan anterior pararenal kompartmanda yer alan endokrin ve ekzokrin bir organdır. (21-25,29). Pankreas, epigastrik bölgede lomber vertebra lar ventralinde mide dorsalinde yer almaktadır. Önde sağdan sola doğru; transvers kolon ve transversmezokolon, bursa omentalis ve mide ile komşudur. Arkada sağdan sola doğru; koledok, v. porta hepatis ve v. lienalis, v. kava inferior, v. mezenterika superior, aort, sol böbrek ve dalak hilusu yer alır (22-24,29) (Şekil 1).



Şekil 1. Pankreasın anatomisi

Yetişkinlerde pankreas genellikle 15-20 cm uzunluğundadır ve 70-120 gr ağırlığındadır (21-26,29). Erkeklerde kadınlara göre biraz daha büyüktür (23,26). Yenidoğanda pankreas 2-3 gr ağırlığındadır ve 1 yaşında 7 gr'a ulaşır. Bezin ağırlığı 40 yaştan sonra düzenli şekilde azalarak 90'lı yaşlarda ortalama 70 gr'a kadar düşer (26). Normal pankreas hafif lobüle görünümündedir (22,25-27,29). Parankim içine uzanan

septumlarla lobüllere ayrılmış görünümündedir (24). Ön yüzey pürüzsüz ve periton ile kaplıdır diğer 3 yüzeyleri ise ince, gevşek fibröz bağ doku ile kuşatılmıştır. Ayrı bir kapsülü bulunmaz (26). Pankreas baş, uncinat proçes, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere beş anatomik birimden meydana gelir (22,26). Bununla birlikte birçok kaynak baş, gövde ve kuyruk şeklinde ele almaktadır (21,24,29).

Organın büyük kısmını baş kısmı oluşturur. Pankreas başı superior mezenterik arter ve venin sağında yer alır. Duodenumun 2. ve 3. parçasına medial yüzü boyunca ileri derecede fiksedir. Başın boyun ile birleşme yeri ön yüzde üstte portal venden, altta superior mezenterik vene çizilen hayali hattır. Vasküler sulkus, pankreatikoduodenektomi örneklerinde pankreasın yönünü belirlemede yardımcıdır (22,26,29).

Pankreasın uncinat proçesi başın arka yüzeyinin sol alt parçasında, genellikle portal ven ve superior mezenterik damarların arkasında, aort ve inferior vena kavanın önünde yer alır. Sagital kesitte uncinat proçes superior mezenterik arter ile aort arasında, sol renal venin üzerinde, duodenumun 3. ve 4. parçasının altındadır. Uncinat proçes olmayabilir veya superior mezenterik damarları tamamen çevreleyebilir (28,29).

Pankreasın boyun kısmı portal ven ve superior mezenterik veni örten 1.5-2.5 cm uzunluğunda kısımdır. Hemen pilor ve duodenumun birinci kısmının arkasında yer alır. Sağda, gastroduodenal arter, anterior superior pankreatikoduodenal arteri verir ve bu arter boyunun ve başın üst bölümünün kanlanmasını sağlar. Posteriorunda superior mezenterik ven, splenik ven ve portal ven ile komşudur (28,29).

Gövde kısmı, birinci lumbar vertebrayı çaprazlar. Üst kenarı çölyak aks ve splenik arterle komşuluk halindedir. Alt tarafta duodenum dördüncü kısmı, Treitz ligamanı ile komşudur. Posteriorunda aorta, superior mezenterik arter, splenik ven, sol surrenal bez ve sol böbrek bulunur. Splenik vene pankreastan birçok küçük ven dökülür. Transvers mezokolon da önde pankreas gövdesiyle ilişki halindedir (28,29).

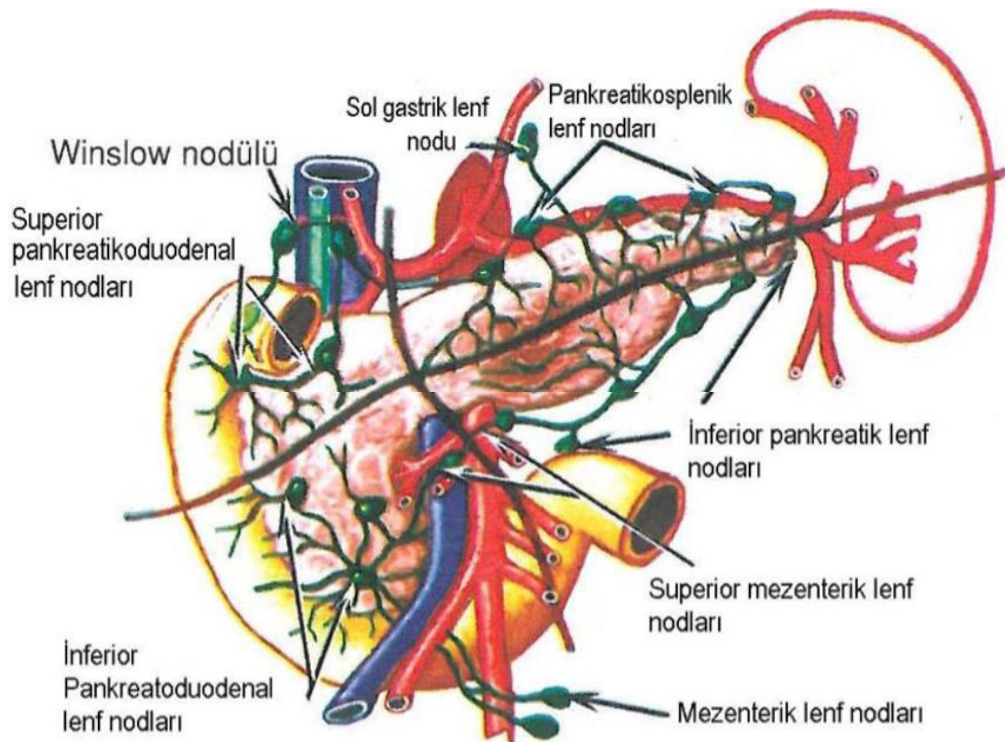
Kuyruk kısmen mobildir ve ucu dalağın visseral yüzeyine uzanır. Splenik arter, splenik venin başlangıcı ile birlikte splenorenal ligamanın iki tabakası ile sarılmıştır. Bu ligamanın dış tabakası gastrosplenik ligamanın posterior tabakasından meydana gelir (28,29).

Pankreas ve safra duktuslarının duodenum içindeki kısımları ince düz kas fasikülleri ile çevrelenmiştir (Oddi sfinkteri) ve bunlar çevreleyen duodenumun hem muskularis mukozası hem de muskularis propriası ile devam eder (24,26).

Arterleri: A. lienalis pankreasın gövde ve kuyruk kısımlarını, a. pankreatikoduodenalis superior ve inferior da baş kısmını besler (22,23,29).

Venleri: Çoğu v. lienalis'e olmak üzere, v. porta hepatis ve v. mezenterika superiora açılır (22,23,25,29).

Lenf drenajı: Asinuslar çevresinden başlayan lenfatik kapillerler, kan damarları ile birlikte uzanır ve büyük bölümü superior pankreatik lenf nodu, inferior pankreatik lenf nodu ve splenik lenf noduna bir kısmı da pankreatikoduodenalis superior lenf nodu, pankreatikoduodenalis inferior lenf nodu ve superior mezenterik lenf noduna açılırlar (22,23,25,29) (Şekil 2).



Şekil 2. Pankreasın lenfatik drenajı

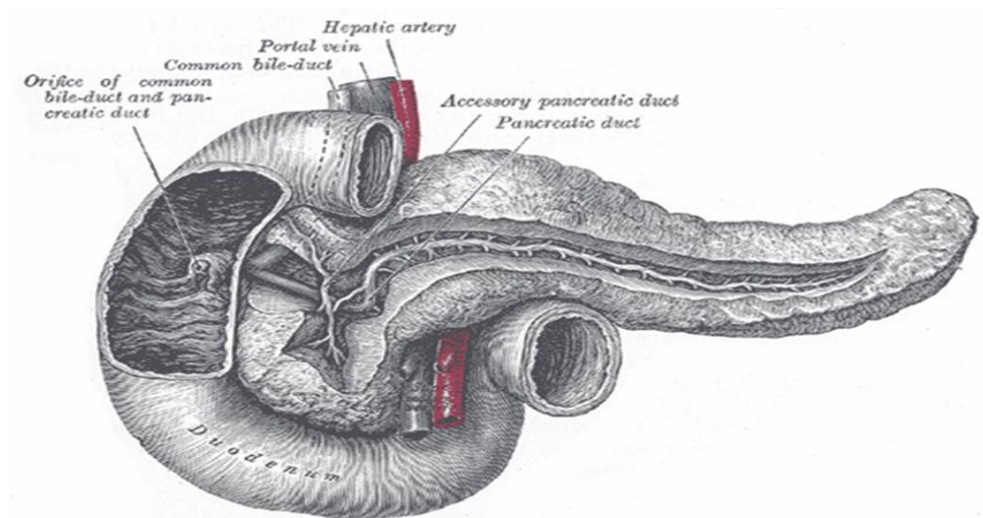
Sinirleri: Pankreastaki sinir ağında sempatik, parasempatik, duyu ve motor sinir demetleri vardır (22,23,29,30). Sempatik (postganglionik) ve parasempatik (preganglionik) lifler plexus coeliacus'tan ayrılarak plexus splenicus içinde pankreasa gelirler. Postganglionik olan sempatik lifleri n. splanchnicus'tan, preganglionik olan parasempatik lifleri ise n. vagus'tan gelir. Parasempatik lifler pankreas dokusu içinde

dağılmış durumdaki ganglionlarda nöron değiştirir. Parasempatik etki salgıyı artırır, sempatik etki ise salgıyı azaltır. Pankreastan kaynaklanan ağrı duyusu impulsları n. splanknikus içinde medulla spinalise gider. Süt salgılanmasında olduğu gibi, pankreasın salgı yapmasını da kısmen hormonlar kontrol eder (22,25,29). İçeriğin salınımını uyaran nöral uyarı vagal sinir yoluyla oluşur (24). Pankreas ağrısı n. splanknikus majör bölgesine yansır. Bu ağrı bütün epigastrik bölge ile bel bölgesinin üst çeyreğinde hissedilir (25).

2.2. Pankreatik Kanallar

Duktus pankreatikus majör (Wirsung kanalı) kuyruk bölümünden başlar ve yolu boyunca birçok dallar alarak bezin tüm uzunluğunca seyreder. Duodenumun ikinci bölümünün ortası hizasındaki papilla majör duodeniye duktus koledok ile birlikte açılır. Duktus pankreatikus bazen duodenuma ayrı olarak açılır. Duktus pankreatikus accessorius (Santorini kanalı), eğer mevcut ise pankreas başının üst bölümünü drene eder ve sonra ana pankreatik kanalın biraz üstünde papilla duodeni minör üzerinden duodenuma açılır. Ana pankreatik kanal (Wirsung kanalı) ve aksesuar kanal (Santorini kanalı) ana pankreas damarlarının önünde yer alır. İki pankreas kanalının gelişiminden dolayı pek çok varyasyonları vardır. Bu varyasyonların sıklığı aşağıda sıralanmıştır (çok nadirleri dışında) :

1. % 60 vakada her iki kanal duodenuma açılır.
2. %30 vakada, Wirsung kanalı tüm sekresyonu taşır, Santorini kör uçla sonlanır.
3. %10 vakada Santorini tüm sekresyonu taşır, Wirsung küçük veya yoktur (Şekil 3) (31).



Şekil 3. Pankreasın kanalları (31)

2.3. Pankreasın Embriyolojisi

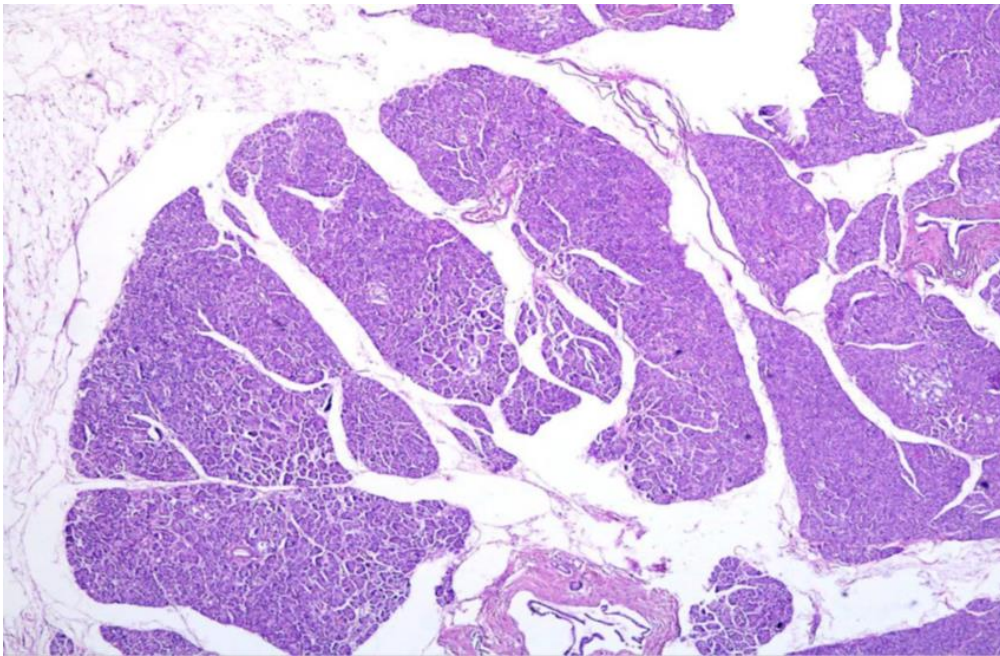
Pankreas gelişimine duodenumun iç yüzünü döşeyen endodermden ayrılan iki tomurcuk halinde başlar (22,24,27,29). Dorsal ve ventral olmak üzere iki taslakten gelişir. Dorsal ve ventral taslaklar, intrauterin hayatın 7. haftasında birleşirler (21,22,24,27,29). Dorsal pankreas tomurcuğu dorsal mezenter içinde, ventral pankreas tomurcuğu ise koledok yakınındadır. Duodenum sağa doğru rotasyon yaparak C şeklini alırken, ventral pankreas tomurcuğunda koledogun duodenuma açıldığı noktayla birlikte arkaya doğru hareket eder. Bu hareketiyle ventral tomurcuk dorsal tomurcuğun hemen altına ve arkasına gelir. Bir süre sonra dorsal ve ventral pankreas tomurcuklarının parankim ve duktus sistemleri birleşir (22,24,32). Ventral tomurcuktan uncinate çıkıntı ve pankreas başının arka ve alt kısmı oluşur. Pankreas başının önü, kuyruğu ve gövde kısımları da dorsal tomurcuktan gelişir (22,24,27,32).

Pankreas endodermal kökenlidir (24,33). Sindirim enzimleri üreten pankreatik ekzokrin hücreler, sindirim enzimlerini taşıyan pankreatik duktal hücreler, insülin, glukagon ve somatostatin üreten Langerhans adacıklarındaki pankreatik endokrin hücreler, pankreatik tomurcuğun endodermden diferansiye olur (34). Pankreasın büyümesinde ve diferansiyasyonunda mezoderm tabakası içerisindeki bağlantılar ve mezodermden eksprese edilen birkaç büyüme düzenleyici transkripsiyon faktörü önemli rol oynar (33,34). Wirsung duktusu dorsal pankreas duktusunun distali ve ventral pankreas duktusunun tümünün birleşmesiyle meydana gelir (32,34). Dorsal pankreas duktusunun proksimal kısmı ya tümüyle oblitere olur ya da aksesuar pankreas duktusu (Santorini) adı verilen küçük bir duktus halinde kalır. Ana pankreas duktusu, koledokla birlikte duodenuma majör papilladan, eğer varsa aksesuar duktus da minör papilladan açılır (21,32,34). İnsanların %10'unda ise dorsal ve ventral duktuslar hiç birleşmez ve duodenuma ayrı ayrı açılırlar (22,32). Fetal yaşamın 3. ayında pankreas parankiminden gelişen Langerhans adacıkları organın tümüne dağılır. İnsülin salgısı 5. ay civarında başlar. Glukagon ve somatostatin salgılayan hücreler de parankimal hücrelerden gelişir (32). Bezin bağ dokusu pankreas tomurcuğunun çevresindeki visseral mezodermden köken alır (32,34).

2.4. Pankreasın Histolojisi ve Fizyolojisi

Pankreas sindirim enzimleri ve hormonlar üreten iki bileşenden oluşan karışık dış salgı ve iç salgı bezidir (22,35). Enzimler asinüsler halinde düzenlenmiş dış salgı

kısının hücreleri tarafından depolanır ve salınır. Hormonlar Langerhans adacıklarından sentezlenir (27,35). Yetişkinde pankreasın %95'inin (%85'i asiner, %10'u duktal hücreler) ekzokrin hücrelerden oluştuğu, endokrin hücrelerin ise sadece %1-2'lik pankreas hacmini kapladığı tahmin edilmektedir (21,36). Mikroskopik olarak pankreas 1-10 mm'lik lobüller şeklinde dizilmiştir. Lobüller arasındaki parankimin tama yakını asini, duktus ve Langerhans adacıklarını da içeren pankreasın epitel elemanlarından meydana gelir (26). Asiner hücreler, geniş bazofilik sitoplazmalı, nükleusu bazalde yerleşmiş, polaritesi yüksek hücrelerdir. Asinilerin çoğu küresel olarak düzenlenmiş, tek asiner hücrelerden oluşur (21,24,26,27,29) (Şekil 4).



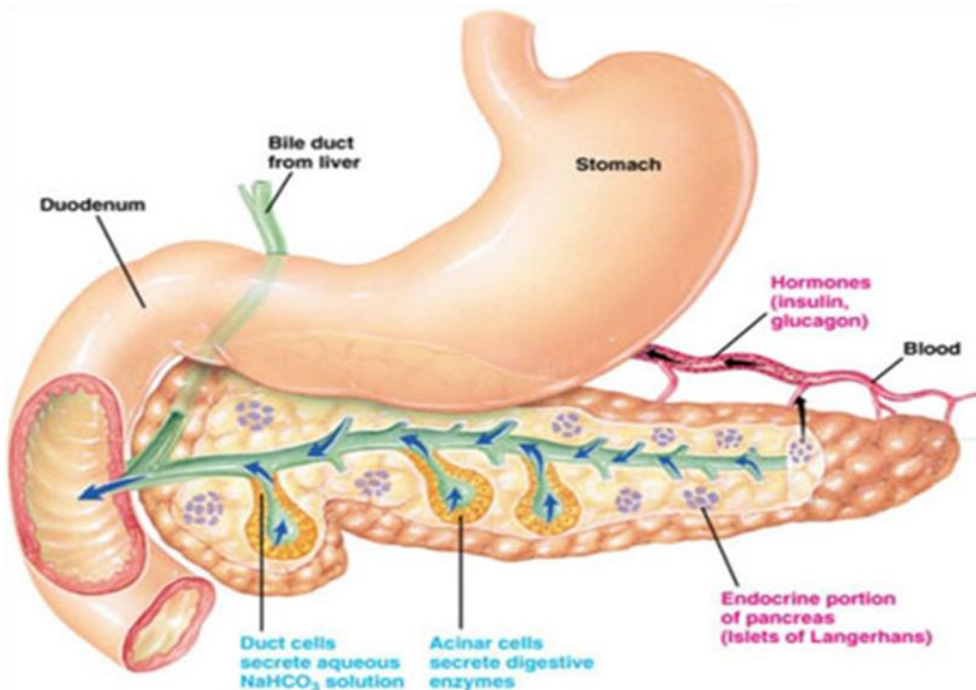
Şekil 4. Pankreasın histolojisi. Lobüler görünüm (HEX40)

Zimojen granülleri Periodik Asit Schiff (PAS) boyası ile pozitif boyanır ve diastaza dirençlidirler. Asiner hücrelerde, enzimatik olarak aktif lipaz varlığında pozitif olan bütirat esteraz boyalarla ortaya çıkarılabilir (26). Asiner hücrelerde tripsin, kimotripsin, lipaz, amilaz ve elastaz gibi pankreatik enzimler immünohistokimyasal olarak pozitifdir, CAM 5.2 antikor (sitokeratin 8 ve 18) pozitif iken AE1, sitokeratin 7, 19 ve 20 negatiftir. Asiner hücrelerde müsin üretilmez ve pankreatik kanser ilişkili antijen (DUPAN-2), karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijen (CA19.9) gibi glikoproteinler için immünohistokimyasal boyanma negatiftir. Son olarak, kromogranin ve sinaptofizin gibi endokrin belirleyiciler de negatiftir (26). Duktal sistem beş kısma ayrılır: Sentroasiner hücreler, interkalat duktuslar, intralobüler duktuslar, interlobüler

duktuslar (büyük ve küçük) ve ana duktuslar (26,27). Duktal hücreler, sitokeratin 7, 8, 18 ve 19 içerir; bu nedenle bazı sitokeratinlere karşı olan antikorların yanında, AE1, AE3 ve CAM 5.2 antikorları ile immünohistokimyasal olarak boyanır. Sitokeratin 20 ile boyanma yoktur. Enzim ve endokrin belirleyicilerle de boyanma yoktur (26,29).

Pankreasın endokrin kısmı, yetişkenlerde bezin hacimsel olarak sadece %1-2'sini oluşturur, fakat yenidoğanda bu oran yaklaşık %10'dur. İki tip adacık bulunur. Kompakt adacıklar; %90'ını oluşturur, genellikle 75 -225 µm boyutlarındaki sınırları keskin adacıkların yanısıra 50 µm kadar küçük veya 280 µm kadar büyük adacıklar da bulunabilir. Kompakt adacıklar baskın olarak bezin gövde ve kuyruk kısmında bulunur ve baş kısmında daha azdır. Diffüz adacık; embriyonik ventral lobdan türer ve bezin baş posteroinferior kısmı dışında başka yerde bulunmaz. Bu adacıklar kompakt adacıklardan sayıca çok daha azdır ve 450 µm kadar büyüklükte olabilirler (26).

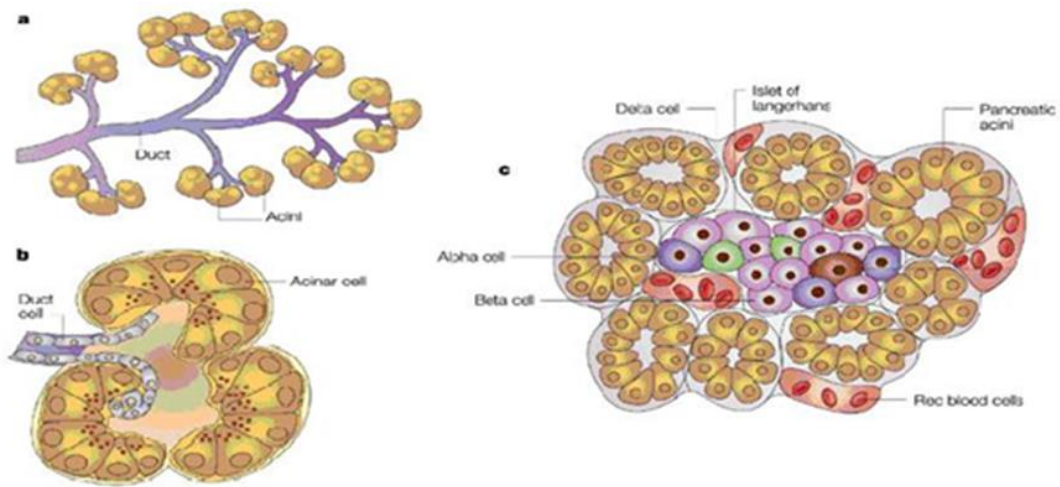
Pankreas vücuttaki iki ana fizyolojik işlemi düzenler (37,38). Pankreas ekzokrin ve endokrin salgı işlevlerini gerçekleştirerek hem sindirim hem de glukoz metabolizmasında rol alır (38). Yapısal olarak incelendiğinde pankreasın büyük bölümünün ekzokrin işlevini gerçekleştiren hücreler tarafından oluşturulduğu görülür, endokrin işlevi gören hücreler ekzokrin doku içerisine dağılmış olarak bulunurlar (Şekil 5) (38).



Şekil 5. Pankreasın yerleşimi ve yapısı (38)

Pankreasın ekzokrin işlevini gören kısmı; asinar ve kanal (duct) hücrelerinden oluşur (37,38). Asinar hücreler, sindirim enzimlerini üretmekte olan hücreler olup dallanmış kanal sisteminin uçlarında üzüm salkımı şeklinde kümeleşmişlerdir ve pankreatik dokunun büyük bir bölümünü teşkil etmektedirler (Şekil 6a, 6b) (37,38). Asinüsler içine biriken salgı lobcuklar içi kanalcıklar aracılığı ile “lobcuklar arası kanallara” boşaltılır (39). Lobcuklar ve asinüsler arasında bağ dokusu bulunmaktadır.

Pankreasın iç salgı bölümü “Langerhans adacıkları” denilen özel hücre ve damar kümeleri tarafından oluşturulmuştur (40). İnsan pankreasında bir milyondan fazla Langerhans adacığı bulunmaktadır(40). Langerhans adacıkları pankreasın dış salgı yapısının içinde adacıklar oluşturacak bir biçimde dağılmışlardır (38,40). Langerhans adacıklarında α , β ve δ olmak üzere üç ana tipte endokrin hücre bulunmaktadır (41). β -hücreleri Langerhans adacıklarındaki hücrelerin %80’ini oluşturur ve insülin hormonu salgırlar. α -hücreleri glukagon salgırlarken, δ -hücreleri de somatostatin salgılamaktadır (Şekil 6 c) (38,40).



Şekil 6. Pankreasın anatomisi a) Pankreatik asinüslerin dağılımı, b) Asinüs yapısı, c) Pankreatik hücrelerin dağılımı (38). Pankreas hem endokrin hem de ekzokrin salgı işlevlerine sahip olan bir organdır. Ekzokrin işlevler asinar ve kanal yapılarını oluşturan hücreler tarafından gerçekleştirilmektedir. Endokrin işlevler ise, pankreas dokusu içerisine dağılmış olan Langerhans adacıkları tarafından gerçekleştirilmektedir. Langerhans adacıklarında farklı salgı işlevlerine sahip alfa, beta ve delta hücreleri bulunmaktadır.

2.5. Pankreas Kanseri

Pankreas tümörlerinin hücresel fenotipi pankreasın üç ana epitel tipi olan duktal hücre, asiner hücre ve endokrin hücrelerdir. Çoğu ekzokrin pankreas karsinomu, duktal hücre fenotipi gösteren neoplazmlar sınıfına girer ve bu nedenle pankreatik duktal

adenokarsinom (PDAK) olarak adlandırılır. “Pankreas kanseri”, “pankreas karsinomu” veya “pankreas adenokarsinomun”dan bahsedildiğinde kastedilen bu tümör ve varyantları olan adenoskuamöz karsinom, andiferansiye karsinom (anaplastik veya sarkomatoid), müsinöz kistik olmayan karsinom (kolloid karsinom), taşlı yüzük hücreli karsinom, osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinomdur (42,43). PDAK’ların çoğundaki duktal hücre yapısı ve duktal hücrelerin proliferasyon gösterebilmeleri, tümörün duktal orijinli olduğunu düşündüren sebeplerdendir (29,36).

2.5.1. İnsidans

PDAK, dünyada en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 8. sıradadır (44). PDAK en ölümcül kanserlerden biridir (43,45). Olguların %80’i 60-80 yaşları arasındadır. Olguların yalnızca yaklaşık %10’u 50 yaş altındadır (21,43). Kırk yaşın altında çok nadir görülür (42). Daha genç yaşta ortaya çıkan PDAK, erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülürken, ileri yaşlarda kadın erkek arasındaki fark ortadan kalkar ve görülme oranları eşitlenir (24,42). Gelişmiş ülkelerde PDAK’ın yaş uyumlu yıllık görülme sıklığı 100.000 kişide 3,1 ile 20,8 olgu arasında değişmektedir (42). Amerika Birleşik Devletleri’nde yapılan ortak çalışmada 2004’te 30.000 kişide, 2006’da 32.300 kişide PDAK nedeniyle ölüm, 2006’da 33.730 yeni PDAK olgusu bildirilmiştir. PDAK’ın kadınlarda oranı giderek artmaktadır (21,27,43). Türkiye’de Sağlık Bakanlığı 2005 yılı kanser istatistiklerine göre PDAK 100.000 kişide 1,6-2 arasında görülmektedir.

2.5.2. Etyopatogenez

Pankreas kanserinin neden veya nedenlerini saptamak için birçok çalışma yapılmıştır. Kafein yada kahve nedenler arasında suçlanmış ancak daha geniş çalışmalarla patogeneizde rolü olmadığı gösterilmiştir. Sigara içimi ile pankreas kanseri arasında önemli bir korelasyon mevcuttur. Sigara içen kişilerde pankreas kanseri 2-3 kat daha fazla görülmektedir (46,47).

Diğer önemli bir faktör diyetdir. Taze sebze ve meyve tüketiminin fazla olduğu kişilerde pankreas kanseri daha az görülmektedir. Bunun nedeni olarak yüksek düzeyde proteaz inhibitörleri içeren bitkisel kaynaklı proteinlerin koruyucu etkisi gösterilmektedir (46). Ayrıca naftilamin, benzidin ve petrol ürünlerinin kullanıldığı bazı endüstri kuruluşlarında çalışanlarda pankreas kanseri daha sık görülmüştür (46).

Kronik pankreatitli hastalarda yaşam boyu risk artmıştır. Ancak, pankreatit pankreas kanserine oranla çok daha seyrek görülür ve bu nedenle olguların çoğunda neden bilinmemektedir. Alkolün pankreas kanserinden direk sorumlu olması çok düşük bir olasılıktır ancak, alkole bağlı kronik pankreatit oluşmuş bir pankreastan adenokarsinom gelişebilir. Alkol tüketimi ve kronik pankreatit ilişkisi kanıtlanmıştır, ancak alkol tüketiminin pankreas kanseri insidansında artışa neden olduğu gösterilememiştir (48).

Hereditör pankreatite son zamanlarda artan ilgi, nedeni ne olursa olsun kronik pankreatitin etyolojide önemli olabileceği fikrini desteklemiştir. Hereditör pankreatiti olan hastalarda yaşam boyu risk % 40'lara kadar çıkmaktadır (Tablo 1) (46,47).

Pankreas kanserinde kazanılmış veya kalıtılmış gen mutasyonları vardır. Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog (K-ras) onkojeninin aktivasyonu ile beraber tümör baskılayıcı genlerin (p53, DPC4, p16 ve BRCA2) inaktivasyonu pankreas kanseri gelişimi ile ilişkilidir. Pankreas kanserinde %10-20 oranında hereditör veya ailesel bir geçiş olduğu tahmin edilmektedir (49). Hereditör meme ve over karsinomu, hereditör nonpolipozis kolorektal kanser, Peutz Jeghers sendromu gibi bazı genetik sendromlar ile pankreas kanseri arasında ilişki gözlenmiştir (50,51). Pankreas kanseri ile çay tüketimi arasında ilişki bulunamamıştır (51,52).

Tablo 1. Pankreas kanserinde etyolojik ve risk etkenleri

DEMOGRAFİK FAKTÖRLER	HASTA İLE İLGİLİ FAKTÖRLER	ÇEVRE İLE İLGİLİ FAKTÖRLER
Yaş- 60 yaşın üzeri İrk-zencilerde Cinsiyet- erkekler	Diyabet Pankreatit Pernisiyöz anemi Endokrin tümörler Kalıtım	Sigara Alkol alımı Kahve Radyasyon Meslekler

2.5.3. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Öncüleri

PDAK'ın, pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanIN'ler) olarak adlandırılan mikroskopik, invaziv olmayan neoplastik epitelyal proliferasyonlardan geliştiği artık bilinmektedir. PanIN'ler küçük çaplı pankreas duktuslarından (genellikle çapı <5 mm) gelişir ve histolojik olarak üç tip olarak sınıflandırılır. Bu mikroskopik duktal epitelyal proliferasyonlar, düşük dereceli PanIN'den (PanIN-1) Orta dereceli PanIN (PanIN-2),

yüksek dereceli PanIN'e (PanIN-3) ve daha sonra kolorektal kanserlerdeki adenom-karsinom sekansına benzer olarak pankreas kanserine ilerler (29,44).

PanIN-1A: Bazalde lokalize nükleusları olan uzun kolumnar hücrelerden oluşan flat epitelyal lezyonlar ve bol miktarda supranükleer müsin bulunur (Şekil 7a). Çoğu PanIN-1A olgularının neoplastik doğası tam olarak ortaya konamamıştır, bu epitelyal değişiklikler “lezyon” terimi ile adlandırılabilir (PanIN/L1A).

PanIN-1B: Papiller, mikropapiller veya bazal psödostratifiye yapıya sahip epitelyal lezyonlardır, ancak diğer yönleriyle PanIN-1A'ya benzer (Şekil 7b).

PanIN-2: Flat olabilen ancak çoğunlukla papiller müsinöz epitelyal lezyonlardır (Şekil 7c). Bu lezyonlarda az da olsa PanIN-3'tekine benzer bazı nükleus anormallikleri olmalıdır.

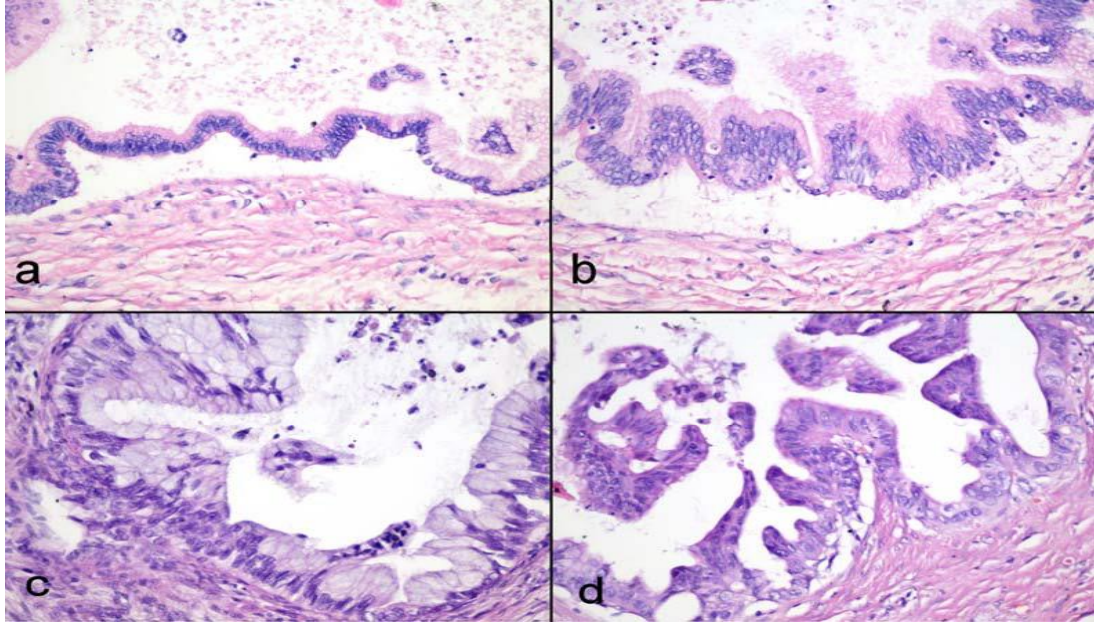
PanIN-3: Şiddetli hücrel atipisi olan genellikle papiller veya mikropapiller lezyonlardır. Bu lezyonlar sitonükleer seviyede karsinoma benzeyebilir ancak bazal membran invazyonu yoktur (42) (Şekil 7d) (Tablo 2) (43).

Tablo 2. PanIN histolojik spektrumu (43).

Lezyon Tipi	Histolojik derece	Histolojik özellikler	İlgili genetik yollar
PanIN-1	Düşük derece	Uzun kolumnar hücrelerden oluşan flat, mikropapiller veya papiller epitelyal lezyonlar. Minimal derecede atipi	K-ras aktivasyonu
PanIN-2	Orta derece	Bazı nükleer anormallikleri ve nadir mitozları olan çoğunlukla papiller epitelyal lezyonlar. Orta derecede atipi	p16 tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu
Pan IN-3	Yüksek derece	“Karsinoma in situ”; invaziv olmayan, karsinoma benzeyen sitonükleer anormallikleri olan papiller, mikropapiller epitelyal büyüme (bazal membran invazyonu yok)	*TP53 ve *DPC4 tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu

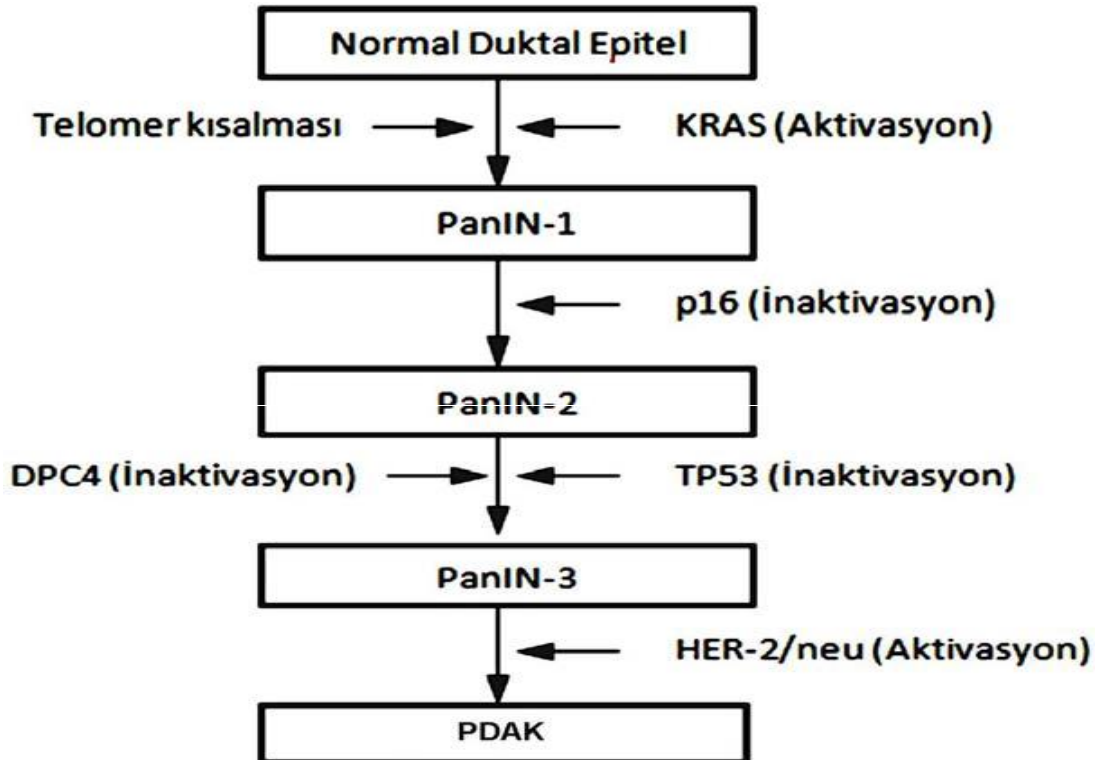
*TP53: Tümör Protein 53 *DPC4: Pankreatik kanser Lokus 4 delesyon

K-ras ile duyarlanmış hücrelerin olduğu farelerde pankreasda PanIN ve metaplazi gelişiminin arttığı gösterilmiştir (29,53). Genetiği değiştirilmiş farelerde yapılan deneylerde pankreatik duktuslarda PanIN oluşabilmesi için K-ras aktivasyonunun gerekli olduğu gözlenmiştir (54). Asiner neoplazmlarda K-ras'da genetik değişiklik yoktur (29,55).



Şekil 7. a) PanIN-1A, b)PanIN-1B, c)PanIN-2, d) PanIN-3 histomorfolojik görünüm

PanIN’de tümöre ilerlemenin bir dizi sıralı polikromozomal genetik mutasyon 54 geç dönem genetik olaylar sırasıyla şunlardır; K-ras aktivasyonu, p16/CDKN2A tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu, TP53 ve DPC4/SMAD4 tümör baskılayıcı genlerin mutasyonla fonksiyon kaybıdır (Şekil 8) (29,43).



Şekil 8. Normal duktal epitelin PanIN’lerden PDAK’a doğru aşamalı olarak sitogenetik ilerlemesi (43).

2.5.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Genetik

PDAK'ta, diğer kanserlerde olduğu gibi kromozomal değişikliklerden nokta mutasyonlarına kadar çok çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikler %10 olguda saptanmıştır (27,43,56). Artmış PDAK riskinin 5 genetik sendromla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bunlar BRCA2 kalıtsal mutasyon ile ailesel meme kanseri, p16 genindeki kalıtsal mutasyon ile ailesel atipik multipl mol melanom sendromu, STK11/LKB1 genindeki kalıtsal mutasyon ile Peutz-Jeghers sendromu, DNA tamir genlerinden birindeki mutasyon ile herediter nonpolipozis kolorektal kanser, katyonik tripsinojen genindeki kalıtsal mutasyon ile herediter pankreatittir (27,2956).

PDAK olgularında çeşitli kromozomal değişikliklerin saptandığı bildirilmektedir. Bu değişiklikler içerisinde en sık görülenler kromozom 1,4,6,9,12,17,18,21,Y ve nadir olarak da diğer kromozomal kayıplardır (38,52). PDAK'ların çoğu (%90) K-ras onkogen aktivasyonu gösterir (27,36,42,43). Jones ve ark. (58) yaptıkları çalışmada K-ras geninin, 24 PDAK olgusunun neredeyse tamamında (>%95) nokta mutasyon ile aktive olduğunu tespit etmiştir.

PDAK'ta mutasyonu saptanan en önemli tümör baskılayıcı genler CDKN2A/p16/MTS1 (%95), TP53 (%50-75), MADH/SMAD4/DPC4 (%55) genleridir. (36,56). Çok daha düşük sıklıkla değişime uğrayan genler, MKK4 geni, TGF- β reseptörleri R1 ve R2 genleri, BRCA2 geni ve LKB1/STK11 genleridir (42,43).

Pankreas kanserinde rol oynayan ve sık değişime uğrayan 4 gen bilinmektedir (Tablo 3)(57).

Tablo 3. Pankreas kanserinde sıklıkla değişime uğrayan genler (57)

Gen	Lokus	Değişimler
K-ras	12p12	%93
P53	17p13	%70
P16	9p21	%78
DPC4	18q21.1	%50

Kanserlerin çoğunun gelişiminde yaklaşık 10-20 yıllık bir dönem vardır ve bu dönem önleyici sağaltım için yeterli bir süreçtir. Güncel olarak bazı çalışmalarda kanserlerle UGT1A gen ailesi ekspresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Örneğin; UGT1A7 gen aleli ekspresyonunun kolorektal kanserlerde azalmış aktivitesi saptanmış ve bu nedenle sporadik kolon kanserli vakalarda potansiyel yeni bir risk faktörü olabileceği vurgulanmış (6), viral orjinli siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle pozitif, alkolik siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle negatif ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (7). UGT1A10 ve UGT2B7 gen alelleri ekspresyonunun meme kanserli dokularda normal dokulara göre azalmış olduğu tespit edilmiş (8). UGT1A7'nin gen ekspresyonu insan pankreasında predominant ksénobiyotik metabolize edici UGT olduğu tanımlanmıştır. Düşük mutajen detoksifikasyon yeteneği olan UGT1A7 geninin pankreas kanseri için bir faktörü olduğu düşünülmektedir.

UGTler tarafından katalizlenen glukuronidasyon reaksiyonu bir çok endojen bileşiğin, çeşitli ilaçların, ksénobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli bir süreçtir. Glukuronidasyon inaktif hidrofilik glukuronidlerin idrar ve safra yolu ile vücuttan eliminasyonunu kolaylaştırır (9,10). Glukuronidasyonun genel olarak, toksisite yaptığı veya kanserojen olduğu gösterilmiş bir çok endojenin, besinsel maddelerin, klinik olarak uygulanan ilaçların ve tabii ki bir çok çevresel kimyasalın aktivitelerinin azaltılması veya sonlandırılması şeklinde koruyucu yahut inaktive edici bir fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir (10). Bununla birlikte glukuronidasyon, biyoaktif ve hatta östrojen, morfin, retinoidler, safra asitleri ve heterosiklik aromatik aminleri gibi toksik bileşiklerin bile oluşması ile de sonuçlanabilir (11,12).

UGTler primer aminoasit sekanslarının benzerliğine göre iki aile olarak sınıflandırılmıştır, UGT1 ve UGT2. İnsanlarda UGT1 geni, 2-q37 kromozomu üzerindeki gen lokusu tarafından kodlanan RNA transkripsiyonu kodlar (13,14). UGTler hidrofobik substratların renal veya safra yoluyla kolaylıkla elemine edilebilen inaktif hidrofobik β -D-glukopiranosiduronik asitlere (glukuronidler) dönüşümü katalizlerler. Glukuronidasyon için hedef substratlar üriner yan ürünlerin, steroid ve bilirubin gibi endojen metabolitlerin, bir çok terapötik ilacın ve polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlarla heterosiklik aminler gibi bir çok çevresel mutajenlerin bileşimlerinden meydana gelir (14). Bu enzimler hücresel savunmada

kritik bir rol oynarlar ve hücrel detoksifikasyon ile ilgili proteinlerin major grubunu oluşturdıkları düşünülmektedir.

İnsanlarda, UGT1A lokus geninin dokuya özel ürünlerin ekspresyonu ispatlanmıştır (15,16). UGT1A7, UGT1A8 ve UGT1A10 karaciğer dokusunda sentezlenmezler ve farklı olarak özofagus (17), mide (15), ince barsaklar (18) ve kolon (19) gibi intestinal sistem organlarınca düzenlendikleri gösterilmiştir. Ek olarak, UGT1A genlerinin regülasyonu ve fonksiyonları gastrointestinal karsinogenezis ile ilişkilendirilmiştir (14, 17, 18, 20). İnsan kanserlerinin analizleri tümör dokularında UGT ekspresyonunun farklı düzenlemelerini göstermiştir (18, 20). Gastrik mukozada, bireyler arasında UGT aktivitesinde varyasyonlara yol açan UGT1A regülasyonu bir kanser risk faktörü olarak belirtilmiş iken (18) özofagus kanserinde UGT1A7 transkripsiyonunun baskılanması tüm özofageal benzo(α)piren metabolit glukuronidasyonunda düşüş ile koreledir (17). UGT1A7'nin klonlanması veya karakterize edilmesi, onun polisiklik aromatik hidrokarbonların ve tabii ki üriner heterosiklik aminlerin glukuronidasyonundaki kapasitesini göstermiştir ki her ikisi de kanserojen olarak bilinmektedirler. Bu bulgular bizim, UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ekspresyonundaki veya fonksiyonel özelliklerindeki oynamaların potansiyel kanser riski için gösterge olabileceğinden şüphelenmemize neden olmuştur. Bundan dolayı, pankreas kanseri ile ilişkisini incelemek amacı ile hedef genler olarak belirlenmiştir.

Pankreas kanserlerinin mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle önemli yer teşkil etmektedir. Bu yüzdendir ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. Araştırmamızda pankreas kanserlerine ait hücrelerin UGT1A gen ailesinin ifade düzeyleri incelenmesi ile pankreas kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, pankreas kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesi amaçlanmaktadır.

2.6.Pankreas Tümörlerinin Histopatolojik ve Fenotipik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerdiği “ pankreas tümörlerinin sınıflaması” aşağıda Tablo 4’de verilmiştir (59,60).

Tablo 4a. Pankreas kanserlerinin epitelyal tümörlerinin fenotipik özelliklerine göre sınıflandırılması (59)	Tablo 4b. Pankreas kanserinin histolojik sınıflandırılması (dünya sağlık örgütü) (59,60)
Duktal hücre Seröz kistadenom İntraduktal papiller müsinöz tümör Müsinöz kistik tümör Duktal adenokarsinom Adenoskuamöz karsinom Anaplastik karsinom Asiner hücre Asiner hücreli karsinom Kistadenokarsinom(asiner hücre) Pankreatoblastom Endokrin hücre Endokrin hücre Mikst fenotip Mikst ekzokrin-endokrin tümör Fenotipi bilinmeyen Solid psödopapiller tümör	Selim tümörler Seröz kistadenomlar Müsinöz kistadenom İntraduktal papiller-müsinöz kistadenom Olgun teratom Borderline tümörler Müsinöz kistik tümör(orta derecede displazi) İntraduktal papiller-müsinöz tümör(orta derecede displazi) Solid psödopapiller tümör Habis tümörler Ağır derecede duktal displazi-karsinoma in situ Duktal adenokarsinom Müsinöz kistik olmayan kanser Taşlı yüzük hücreli karsinom Adenoskuamöz karsinom Andiferansiye (anaplastik) karsinom Mikst duktal-endokrin karsinom Osteoklastik dev hücreli karsinom Seröz kistadenokarsinom Müsinöz kistadenokarsinom İntraduktal papiller müsinöz karsinom İnvaziv olmayan İnvaziv Asiner hücreli karsinom Asiner hücreli kistadenokanser Mikst asiner-endokrin kanser Pankreatoblastom Solid-yalancı papiller karsinom

2.6.1. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom

PDAK ve varyantları genellikle pankreasın baş bölgesinde gelişen “solid” karsinomlardır. Pankreasın diğer “solid” tümörleri arasında, asiner hücre karsinomu, pankreatoblastoma ve endokrin tümörler bulunur. Bunlar daha nadir bulunur ve sadece %4’ü teşkil eder. Solid neoplazmların ana grubunun aksine, pankreas tümörlerinin

kistik grubu, sadece borderline formları değil malign formlarıda dahil daha iyi prognoz ile karakterizedir. Seröz ve müsinöz kistik tümörler, solid psödopapiller tümörler ve intraduktal papiller müsinöz tümörler ile birlikte tüm ekzokrin epitelyal tümörlerin yaklaşık %6'sını oluşturur (Tablo 5) (29,42).

Hem müsinöz kistik tümörler hem de intraduktal papiller müsinöz tümörler biyolojik davranışları nedeniyle benign tümörler, borderline tümörler (veya malignite potansiyeli belirsiz tümörler) ve malign tümörler olarak sınıflandırılır. Ekzokrin pankreasın sarkomlar ve malign lenfomalar gibi primer epitelyal olmayan tümörleri oldukça nadirdir (42).

Tablo 5. Pankreas tümörlerinin genel özellikleri (42)

Tip	Sıklık (%)	Prognoz
“Solid tümörler”		
Duktal adenokarsinom ve varyantları	90	Kötü
Asiner hücreli karsinom	1	Kötü(a)
Pankreatoblastom	<1	Kötü(a)
Endokrin tümörler	2	Orta(b)
Epitelyal olmayan tümörler	Nadir	
“Kistik tümörler”		
İntraduktal papiller-müsinöz neoplazm	2	İyi
Müsinöz kistik neoplazm	1	İyi
Seröz kistik neoplazm	1	İyi
Solid psödopapiller neoplazm	<1	İyi
Diğer kistik tümörler	1	Orta(b)
Epitelyal olmayan lezyonlar ve tümörler	Nadir	Orta(b)

(a)Pediatrik olgularda ve tedavi (ameliyat, kemoterapi) sonucunda daha iyi prognoz

(b)Alttipe bağlı olarak

2.6.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Varyantları

PDAK'ın yaygın formunun yanısıra daha az yaygın olan birkaç histolojik alt tipi de bulunur. PDAK'la yakın ilişkili pankreatik karsinomlar; müsinöz kistik olmayan karsinom (kolloid karsinom), adenoskuamöz karsinom, andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid), taşlı yüzük hücreli karsinom ve osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom (29,43).

1) Müsinöz kistik-olmayan karsinom (kolloid karsinom): Pankreas malignitelerinin %1-3'ünü oluşturur. Tümör hacminin en az %50'sini oluşturan hücre dışı müsin varlığı kesin tanı bulgusudur (43,61). İyi diferansiyedir (29,55).

2) Adenoskuamöz karsinom: Pankreatik karsinomların %3-4'ünü oluşturur (55). Adenoskuamöz karsinom tanısı koyabilmek için tümörün en az üçte birinin skuamöz diferansiasyon göstermesi gereklidir (29,43).

3) Taşlı yüzük hücreli karsinom: Çok nadir görülür (22). Metastatik tümördeki taşlı yüzük hücrelerinin primerinin kolorektal, mide veya meme olma olasılığı pankreas olma olasılığından çok daha fazladır (43).

4) Andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid) karsinom: Dev hücreli karsinom ve sarkomatoid karsinomu içerir. Sarkomatoid karsinom, baskın olarak veya tümüyle iğsi hücrelerden oluşsa da epitelyal öncülerden köken aldığına inanılır (43). Pankreas karsinomlarının en agresif olanıdır (29,55).

5) Osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom: Epiteloid tümör hücreleri ile neoplastik olmayan dev hücreler birlikte bulunur (43).

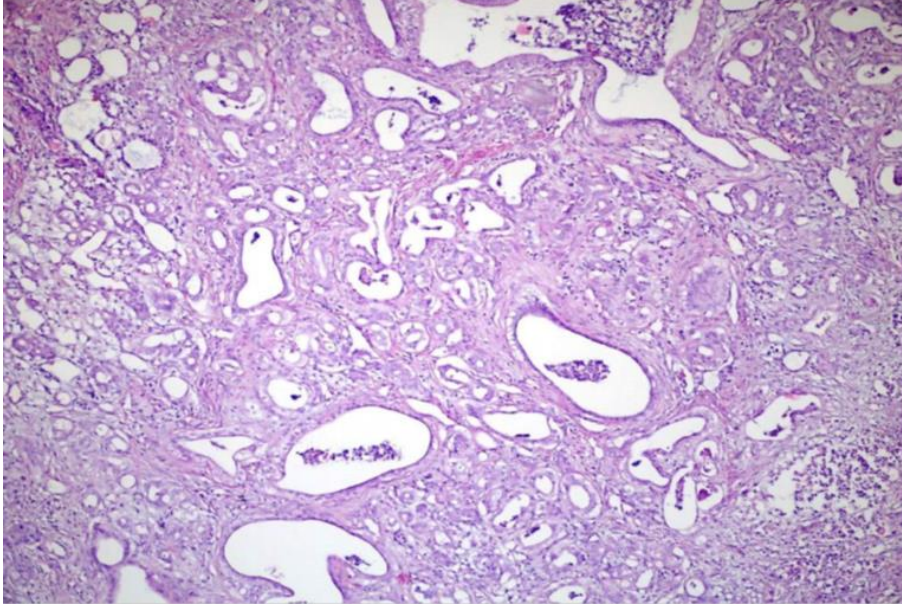
2.6.3. Pankreas İnfiltraif Duktal Adenokarsinom Makroskopik Görünümü

PDAK, pankreas baş kısmında ve diğer bölümlerinde yerleşmiş solid, sınırları belirgin olmayan, fibröz dokudan zengin, sert, sarımtırak, gri, genellikle çapı 2- 5 cm arasında olan tümörlerdir. Tanı genelde vakaların %85'inde tümör yaklaşık 5 cm'e ulaştığında konulur (24,27,29,42). Hemoraji, nekroz, kistik değişiklikler veya diffüz büyüme görülebilir (27,29,42). Nadir olgularda PDAK, heterotopik pankreas dokusunda gelişebilir (42). PDAK, olguların 2/3'ünde pankreas baş kısmından, 1/3'ünde ise gövde ve kuyruktan gelişir. Olguların %20'sinde multipl tümör vardır (27). Pankreas başından kaynaklanan tümörlerin 1/4'ünde duodenum duvarı invazedir. Etkilenmiş pankreas duktusları çoğunlukla dilate olmuştur ve nekrotik tümörle doludur. Bu dilatasyon tümör dokusundan uzakta da olabilir. Ekstrapankreatik yayılım sıktır ve eğer bu çok yaygınsa karsinomun pankreas orijinli olup olmadığını anlamak zordur (27). Yapılan bir çalışmada PDAK makroskopik olarak pankreas başında lokalize olan 28 olgunun sadece 14'ünün pankreas kökenli olduğu kanıtlanmış, 5'inin kökeni bulunamamış, geri kalan vakaların ampulla, safra kanalı ve duodenum orijinli olduğu tespit edilmiştir (27,29).

2.6.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Görünümü

Görünümü PDAK, iyi, orta ve kötü diferansiye PDAK olarak derecelendirilmektedir (62). Olguların çok az bir kısmında papiller büyüme paterni görülür (27,29). İyi diferansiye PDAK, belirgin gland yapısı, kübik-kolumnar, yuvarlak,

oval uniform nükleuslu ve dağınık kromatinli minimal nükleer pleomorfizm gösteren neoplastik hücrelerden oluşur (Şekil 9)(29).



Şekil 9. Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom, iyi diferansiye (HEX100)

Orta diferansiye PDAK, glandüler yapı daha az tanımlanır, inkomplet glandüler lümen nükleer pleomorfizm kadar yaygındır, nükleoller daha büyük ve düzensizdir, mitoz daha yaygındır. Kötü diferansiye PDAK'ta solid alanlar ve belirgin infiltratif hücreler vardır, belirgin gland yapısı yoktur. Kötü diferansiye PDAK, iyi diferansiye PDAK hücrelerinden daha az mûsin üretir, büyük bizar nükleus ile belirgin nükleer pleomorfizm vardır, atipik mitoz yaygındır(29,62).

İyi diferansiye PDAK'ta mikroskopik tanı çok zor olabilir, bu durumda sitolojik detaylara dikkat edilmelidir. Küçük büyütmede belirgin glandüler yapılar vardır, lümenleri daha geniştir, bir veya birkaç sıra silindirik veya kübik epitel ile döşelidir. Glandların şekli, dağılımı ve bunları çevreleyen desmoplastik stromadaki düzensizlikler haricinde PDAK'ı düşündürecek çok fazla bulgu yoktur. Büyük büyütmede glandları döşeyen epitelde malignite düşündürecek bulgular; belirgin nükleer pleomorfizm, polarite kaybı, belirgin nükleol ve mitotik aktivitedir. Olguların %90'ında perinöral invazyon (PNİ) vardır. PDAK'taki PNİ, intrapankreatik sinirlerden başlayıp ekstrapankreatik nöral pleksusa yayılım yapabilir ki bu cerrahi için zorlayıcı bir faktördür. PDAK'ların yarısında kan damarları, özellikle ven invazyonu görülmektedir (27). Orta ve kötü diferansiye PDAK'larda, histolojik yapı ilerleyici şekilde düzensiz

hale gelir, glandüler yapı belirgin değildir ve mukus salgısı azalmıştır. Hücre ve nükleus değişik boyutlardadır. Mitotik figürler dikkat çekicidir (42). Çoğu PDAK, iyi veya orta derecede diferansiyedir. Zaman zaman tümörler köpüksü gland yapısı, papiller uzantılar, büyük-duktus tipi morfoloji, mikropapiller yapı veya berrak hücre fenotipi gösterirler. Neoplastik glandlar pankreas parankimini infiltre ederek nonneoplastik duktuslar, asini ve adacıkların arasında dağınık halde izlenebilir. Bu infiltrasyon tipik şekilde belirgin desmoplastik bir reaksiyon ile ilişkilidir. Hücrelerin nükleusları genellikle polarizedir ve belirgin nükleoller bulunur. Duktusu tıkayan büyüme nedeniyle, tümör çevresi pankreas dokusunda ve hatta tüm gland boyunca, az veya çok şiddetli tıkaçıcı kronik pankreatit bulunur. Tümör çevresi dokunun orta büyüklükteki duktuslarında sıklıkla duktus epitelinin yerini, genellikle papiller yapılar ile birlikte, uzun kolumnar müsinöz hücrelerin aldığı görülür Bu lezyonlar tümöre özgü değildir (29,42).

2.7. Tümör Yayılımı, Evrelemesi ve Derecelendirmesi

PDAK için yaygın olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2000 histopatolojik derecelendirme sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemde glandüler diferansiyasyon, müsin üretimi, mitoz, nükleer özellikler kullanılmaktadır (60). Adsay ve ark. (63) bu derecelendirme sistemine skorumla ekleyerek modifiye DSÖ 2000 derecelendirme şemasını oluşturmuştur. Literatürde son yıllarda Adsay ve ark. modifiye derecelendirme şeması sıkça kullanılmaktadır (60). Derecelendirme verisi, biyolojik olarak en anlamlı ayrımın G1/G2 ve G3 arasında olduğunu göstermektedir. Derecelendirme, proliferatif indeksten daha kullanışlı bir değerlendirme olarak görünmektedir (29,60) (Tablo 6).

Tablo 6. PDAK için modifiye edilmiş 2000 yılı DSÖ derecelendirme şeması (29,60)

Derece (Skor aralığı)(a)	Glandüler Diferansiyasyon	Müsin Üretimi	Mitoz(b)	Nükleer özellikler
I (1-1.6)	İyi diferansiye	Yoğun	≤5	Hafif pleomorfizm, polar sıralanma
II (1.7-2.3)	Orta diferansiye duktus benzeri yapı ve tübüler glandlar	Düzensiz	6-10	Orta derecede pleomorfizm
III (2.3-3)	Az diferansiye glandlar, mukoeypidermoid ve pleomorfik yapı	Az	>10	Belirgin pleomorfizm ve büyük nükleus

a Tümör heterojen ise en yüksek tümör derecesi verilmelidir.

b Rastgele seçilen 10 büyük büyütme alanındaki (x40) mitoz sayısı

Rezeke edilmiş PDAK'ın standart şekilde ele alınması ve doğru şekilde evrenmesi için öneriler mevcuttur. PDAK, retroperitoneal dokulara ve primer büyüme bölgesine bağlı bir topografi ile, çeşitli lokal peripankreatik lenf nodu gruplarına erken yayılma gösterir. Bölgesel lenf nodlarının (hepatoduodenal ligamentten trunkus çölyakusa kadar) tutulumu olguların %50'sinde görülür ve "bitişik bölgesel" para-aortik lenf nodlarının tutulumu yaklaşık %10'unda görülür. Hematojen yol ile gerçekleşen karaciğer metastazları sıklıdır. Akciğerlere, plevra ve kemiğe metastazlar sadece ilerlemiş tümör evrelerinde, özellikle gövde ve kuyruk tümörlerinde görülür. Beyin metastazlar yaygın değildir (29,42).

PDAK'ın patolojik evrelendirmesi TNM sınıflandırmasına dayanır. pT primer tümörün boyutu ve çevre doku invazyonunun olup olmasına göre değerlendirilir (29,42) (Tablo 7).

Tablo 7. Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom TNM sınıflandırması (29,42).

Primer tümör (T)			
TX	Primer tümör değerlendirilemedi		
T0	Primer tümöre dair kanıt yok		
Tis	Karsinoma in situ		
T1	Pankreasta sınırlı tümör, en büyük boyutu 2 cm veya daha küçük		
T2	Pankreasta sınırlı tümör, en büyük boyutu 2 cm'den büyük		
T3	Tümör pankreas dışına yayılmış fakat pleksus çölyakus veya a.mezenterika superior tutulumu yok		
T4	Pleksus çölyakus veya a. mezenterika superiorda tümör tutulumu		
Bölgesel lenf nodları (N)			
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi		
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var		
Uzak metastazlar (M)			
MX	Uzak metastaz değerlendirilemedi		
M0	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
Evre gruplandırması [#]			
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
IIB	T1,T2,T3	N1	M0
Evre III	T4	Herhangi N	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.8. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Prognoz

PDAK serilerinin çoğunda 5 yıllık sağkalım %4 veya altındadır. Olguların %90'ı teşhisten sonra 1 yıl içerisinde ölürlere (45,64,65). PDAK'ta çoğu olgu (% 80-90) tanı zamanında rezeksiyona uygun değildir ve olgular nadiren 6 aydan uzun yaşarlar. Rezeksiyona uygun PDAK'ı olan olguların yaklaşık %80-90'ı 3 yıldan fazla yaşamazlar (42). Cerrahi sırasında PDAK pankreasta sınırlı olsa da 5 yıllık sağkalım %15-20'yi geçmez (45,64,65). Ancak, Japonya, ABD ve Avrupa'dan yakın zamanda bildirilen bazı serilerde daha iyi sağkalım verileri de vardır. PDAK'ın lokal olarak rekürrensi ameliyat ile alınmasının ardından sık görülür ve sağkalımı belirleyen faktörlerden biridir (42,64).

2.8.1. Prognostik Faktörler

1. **Tümör evresi:** En önemli prognostik faktördür (27).
2. **Mikroskopik derece:** İyi diferansiye PDAK daha uzun sağkalım zamanı ile birlikte (27).
3. **Tümör boyutu:** Küçük tümörlerin (4.5 cm'den küçük çaplı), küratif operasyonlarında risk azdır, sağkalım uzundur ancak rezeksiyona uygun olmayan tümörlerde boyut sağkalıma etkili değildir (64).
4. **Kan damarı invazyonu ve rezeksiyonda retroperitoneal sınır pozitifliği:** Her ikisi de sağkalımı azaltır (27).
5. **DNA ploidi:** Bağımsız prognostik faktör sayılır (27).
6. **TGF- β 1 ekspresyonu:** İyi diferansiye tümörler ile ilişkilidir fakat bağımsız prognostik faktör değildir (27).
7. **Ağrı:** Rezeksiyona uygun pankreas kanseri olan olgularda ağrı prognostik bir faktördür.
9. **PNİ:** Önemli prognostik faktördür (65).

2.9. Pankreas Kanseriinde Semptom ve Bulgular

Pankreas tümörleri hiç semptom vermeden uzun süre bekleyen ve yayılarak büyüeyebilen sinsi tümörlerdir. Pankreas kanserine bağlı sarılığı olan hastaların bazen uzun süre sarılığın mekanik olduğu anlaşılmadan hepatit diye izlenmesi ilginçtir. Semptomlar tümörün pankreastaki lokalizasyonuna bağlı olarak farklılık gösterebilir. Pankreas başı ve uncinat çıkıntıda bulunan tümörler safra kanalı, duodenum ve pankreatik kanal obstrüksiyonu ile kendini gösterebilir. Semptomlar, açıklanamayan pankreatik atakları, ağrısız sarılık, bulantı-kusma, steatore ve kilo kaybıdır. Pankreas

dışına yayılmalarda peripankreatik sinir pleksusları invaze olduğundan hastalar üst abdominal ve sırt ağrısı tarifler ve peritoneal karsinomatosiz veya portal ven oklüzyonu geliştiğinde asit görülür. Şiddetli ağrısı olan hastaların bir bölümü ortopedi, nöroşirurji veya psikiyatri kliniklerinde bir süre araştırılmaktadır Pankreas boyun, gövde ve kuyruğunda gelişen kanserli hastalarda sarılık ve gastrik çıkış obstrüksiyonu genelde gelişmez. Bunların semptomları tümör çok büyüyünceye ve pankreas dışına yayılınca kadar açıklanamayan kilo kaybı ve üst abdominal karın ağrısı ile sınırlı kalır. Bazı hastalarda yeni başlangıçlı diabetes mellitus ilk semptom olabilir. Pankreas kanserinde tümöre bağlı hiperkoagulabilite sonucu gezici tromboflebitler (Trousseau sendromu) görülebilir. Tümörün yerleşim yerine göre pankreas kanserli hastalarda görülen klinik bulgular Tablo 8’de verilmiştir (66).

Tablo 8. Pankreas kanserlerin bulgu ve semptomları (66)

SIK	NADİR
Pankreas Başı Kanserleri	Pankreas Başı Kanserleri
Kilo kaybı Ağrı Sarılık Koyu renkli idrar Açık renkli gayta İştahsızlık	Bulantı Halsizlik Kaşıntı Kusma
Pankreas Gövde/kuyruk kanserleri	Pankreas Gövde/kuyruk kanserleri
Kilo kaybı Ağrı Halsizlik Bulantı İştahsızlık Kusma	Sarılık Koyu renkli idrar Açık renkli gayta Kaşıntı

Pankreas kanserinde fizik muayene bulguları da tümörün yerleşim yerine, boyutuna ve yayılım derecesine göre farklılıklar göstermektedir. Küçük tümörler palpasyonla ele gelmezken, büyük tümörler epigastrik bölgede gözle görülür bombelik oluşturabilirler. Distal safra yollarının tümörle tıkanması safra kesesinin belirgin distansiyonuna ve safra kesesinin kolayca palpe edilebilmesine neden olur. Bu bulgu Courvoisier bulgusu olarak isimlendirilir. Muayene ile saptanabilecek uzak metastaz bulguları; karaciğerdeki metastatik nodüller, metastatik subumbilikal nodüller (Sister Mary Joseph node), pelvik peritoneal depositler (Blummer’s shelf) ve sol supraklavikuler lenfadenopatilerdir (Virchow’s node). Peritoneal karsinomatozisi olan hastalarda malign asit; portal,

splenik, mezenterik venlerin tıkanıklığı olan hastalarda kollateraller ve özofageal varisler saptanabilecek diğer muayene bulgularındandır (66).

2.10. Laboratuvar Değerlendirilmesi

Rutin hematolojik ve biyokimyasal incelemeler tanıya yardımcı olmasa da, organ ve sistem işlev bozukluğu, koagülasyon anomalileri, gastrointestinal kan kaybını saptamak ve beslenme durumunu değerlendirmek için seçilmiş laboratuvar testleri kullanılır. Karaciğer fonksiyon testleri tıkanma sarılığının kalıbını ortaya koyabilir, fakat prognostik değeri düşüktür.

2.11. Biyomoleküler Belirleyiciler

Pankreas ve periampuller kanserlerin tanı ve taramasında kullanılan bir dizi serum tümör belirleyicisi mevcuttur. Bunlar karsinoembriyjenik antijen (CEA), karbonhidrat antijen (CA); CA 19-9, CA 125, CA 50, CA 242, CA 494, CA 17.1, TAG 72, SPAN-1, DUPAN-2, ve Elastaz-1' dir. Bu belirleyicilerin hiçbiri pankreas ve periampuller kanser tanısı için yeterli doğruluğa ve güvenilirliğe sahip değildir.

Bu belirleyiciler arasında CA 19-9 en özgül ve hassas olanı olup, pankreas adenokarsinomu için klinik kullanımda en önemli ve en yararlı tümör belirleyicisi durumundadır (67-70). Bu belirleyici pankreas ve safra sisteminden kaynaklanan tümörlerle çok yakından ilişkilidir. Bu nedenle bu bölge için kullanışlı bir belirleyicidir ancak pankreas adenokarsinomu ile safra yollarının alt kısımlarındaki tümörler arasında ayırıcı özelliği yoktur. Ancak, bu bölge tümörlerinin tedavisi benzer olduğundan klinik ayırım genelde önemsizdir. Karaciğer, safra yolları ve bazı selim pankreas hastalıklarının %10'unda ve gastrointestinal kanserlerde de yükselmesi nedeniyle pankreas kanseri için tarama testi olarak kullanılması uygun değildir.

CA 19-9 bir karbonhidrat antijeni olup hücre membran glikolipid ve mûsin glikoproteinine bağlıdır. CA 19-9 pankreas sıvısı, serum ve pankreas dokusunda immunohistokimyasal olarak belirlenir. CA 19-9 ilerlemiş pankreas kanserlerinde aşırı derecede yükselmiştir. Serum düzeylerindeki artış, maalesef tümöral dokunun kitlesel büyüklüğüne bağlıdır ve bu durum CA 19-9'un özellikle lokalize tümörlerde tanısal değerini düşürür. Aynı nedenle preklinik hastalığın tanısında tarama testi olarak kullanımı da anlamsızdır (68-70). CA 19-9'un yüksek (37 U/ml' nin üzeri) olarak saptandığı pankreas kanserleri genellikle semptomatiktir.

CA 19-9'un sınır değeri 100-120 U/ ml alınırsa bunun üzerindeki değerler, BT bulguları ile birlikte pankreas kanseri tanısında %99-100 pozitif belirleyici değere sahiptir. CA 19-9, artık genellikle ilerlemiş hastalığı olanlarda tedaviye yanıtı monitörize etmek için kullanılmaktadır. Ameliyat sonrası dönemde belirgin ve uzun süreli yükselme nüksün habercisidir (71-73). Ancak, ameliyat sonrası artmış serum CA 19-9 düzeyi, geçici yükselmeler olabileceği için her zaman nüks hastalığı göstermeyebilir (74). Rezeksiyondan sonra CA 19-9 seviyesi normale düşen hastaların, düşmeyen hastalara göre sağkalımının daha uzun olduğunu bildiren yayınlar vardır.

Diğer tümör belirleyicileri içerisinde CA 494'ün pankreas kanserini kronik pankreatitten ayırmada yararlı olacağı, yapılan araştırmalarda ileri sürülmektedir. Bir çalışmada immunoreaktif elastaz düzeyi ve testosteron/dihidrotestosteron oranının erkek hastalarda pankreas kanserinin erken evrede tanınmasında yol gösterici olacağı belirtilmektedir (68,69).

2.12. Tanısal Görüntüleme

Pankreas başı ve periampuller bölge tümöründen şüphelenilen her hastada öncelikle karaciğer, safra yolları ve pankreasın ultrasonografi (USG) ile değerlendirilmesi gerekir. USG kolay uygulanabilir olması ve önemli bilgiler vermesi nedeniyle pankreas başı ve periampuller bölge tümöründen şüphelenilen her hastada fizik muayenenin ayrılmaz bir parçası olmalıdır. Tanı ve evreleme için ise en değerli bilgiler bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonansla sağlanır.

2.12.1. Ultrasonografi (USG)

Pankreas ve periampuller bölge tümörlerinin saptanmasında %60-70 oranında duyarlı olan ve genellikle ilk başvuru olan tanı yöntemidir. Pankreas kanserinin USG ile belirlenmesinde 3 cm'den daha büyük tümörlerde duyarlılığı, %95; 1-3 cm'lik tümörlerde, %81; 1 cm'den küçük tümörlerde ise %50'dir. Ancak barsak gazları nedeniyle %20 hastada iyi görüntü alınamayabilir.

Sarılıklı hastalarda, karaciğerden kaynaklananlarla, safra yolu tıkanıklıklarına bağlı olanların hemen ayrılabilmesini sağlar. Bilier dilatasyon ekstrahepatik safra yolu taşları ile birlikte ise sarılığın nedeni sıklıkla bu taşlardır. Karaciğer içi safra yollarının genişlemesi ise hemen daima malign bir tıkanıklığı gösterir (75). USG, portal ven ve SMV' ye invazyon, splenik ve portal ven trombozu gibi tümörün çevre dokularla ilişkisi hakkında da bilgi verebilir (75). Ancak BT ile tümörün bu yapılara invazyonu,

USG'den daha iyi gösterilmektedir. Renkli Doppler USG ise tümörün pankreas etrafındaki damarlara invazyonunu %84-87 oranında doğru olarak göstermektedir. USG, olguların çoğunda karaciğer metastazlarını da güvenle göstererek, tedavi edilebilir hastalığı olmayan olgulara daha fazla ve invaziv tetkiklerin yapılmasını da engeller. Yine de, metastaz olduğunu doğrulamak için USG eşliğinde karaciğer biyopsisi yapılarak histolojik inceleme için doku alınması uygun olabilir (75,76).

2.12.2. Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Oral ve intravenöz kontrast madde verilerek çok fazlı, ince kesitli, yüksek kaliteli çekilen bilgisayarlı tomografi (BT) güvenilirdir. BT ile pankreas başı ve periampuller bölgedeki kitlelerin %96'sı ortaya konur. BT'nin yanlış pozitifliği %10'dan daha azdır. Bu duruma genellikle fokal pankreatit, tümör izlenimi veren normal pankreas dokusu yol açar. Pankreas ve periampuller bölgeden alınan ince kesitler hem tanı hem de evreleme için çok önemlidir (75,77-81).

Kontrast verilerek helikal BT ile mükemmel görüntüler elde edilse de, ne peripankreatik nodal metastazları, ne de 1 cm'den küçük peritoneal ve hepatik metastazları tanımlamada yüksek değere sahip değildir (75,78,79). Peripankreatik veya üst abdominal lenfadenopati not edilebilir, ancak bu sıklıkla tıkanma sarılığına bağlıdır. BT çapı 1 cm'den küçük lenf nodları için spesifik değildir. Metastaz olmaksızın bu büyüklüğün üstündeki lenf nodlarının görülmesi çok nadir olduğundan, BT'de görülürse şüpheli olarak not edilmelidir. Hepatik arter çevresi, porta hepatis, arterin çıkış yeri, çölyak trunkus veya superior mezenterik arter çevresi gibi tümörden uzaktaki lenf nodu büyümeleri kötü prognostik işaretlerdir. Bir cm'den büyük izole lenf nodları reaktif olabileceğinden cerrahi kararını olumsuz etkilememelidir. Bu nedenle rezeksiyon kriterlerine uyan hastalara rezeksiyon önerilmektedir. BT de bir kitle görüntülediği zaman kitle büyüklüğü ve pankreas çevresindeki dokularla ilişkisi saptanabilir, bu da lokal rezektabiliteyi değerlendirmeyi sağlar. Spiral BT ile lokal olarak rezektabl olduğu saptanan tümörlerin sadece %80'i, cerrahi girişim sırasında rezektabl olarak tespit edilmektedir. Anrezektabl olarak saptananların ise %95'inde bu bulgu ameliyatta doğrulanmaktadır. Yalnız tümör çapına bakılarak hastayı rezeksiyondan mahrum bırakmamak gerekir. Çölyak aks, hepatik arterler, superior mezenterik arter ve superior mezenterik-portal venöz yapılar gibi peripankreatik ana damarlar çevresindeki yağ dokusunun korunmuş olması tümörün bu yapılara direkt bir invazyonunun olmadığını

ve rezeksiyon için uygun olduğunu gösterir (73,80,81). Tümörün medialde mezenterik damarlara veya portal vene doğru yayılımı en sık inoperabilite nedenidir. Venöz tutulumun tomografik bulguları, tümör ve damarlar arasındaki yağ planlarının silinmesinden (ki bu bulgu bunun dışında operabl olan olgularda cerrahi ekstirpasyona engel değildir), damar duvarında düzensizlik, lümene bası, belirgin daralma ve venöz akımın tam tıkanmasına kadar değişebilir.

Önceleri pankreas adenokarsinomunda tek başına mezenterik-portal ven bileşkesinde tutulma olması rezeksiyon için kontrendikasyon olarak kabul edilirdi. Ancak artık tümörle çepeçevre sarılma veya damarlarda tıkanma olmadıkça superior mezenterik ven ve portal ven tutulumu rezeksiyon için kontrendikasyon olarak kabul edilmemektedir. Superior mezenterik ven veya superior mezenterik-portal ven bileşkesinin rezeksiyonunun yapıldığı hastalarda ortalama yaşam sürelerinin standart pankreatikoduodenektomi yapılanlara benzer olduğunu ve mortalitede büyük bir fark olmadığını gösteren yayınlar vardır (76,82-85). Superior mezenterik vene veya superior mezenterik-portal ven bileşkesine tümör invazyonu, tümörün biyolojik agresifliğinden çok tümörün yerleşim yerine bağlı bir fonksiyon göstergesidir (82). Abdominal BT pankreasın superior mezenterik-portal ven bileşkesine yapışıklığını %84 oranında bir doğrulukla gösterir (75,86). Yapışıklık tümör çevresindeki inflamatuvar reaksiyona bağlı olabilir, fakat olguların çoğunda damar invazyonunun olduğu histolojik olarak saptanır. Bundan dolayı ven ve pankreas kolayca ayrılamaz ise tümör invazyonu olduğu kabul edilmeli ve cerrahi uç negatif rezeksiyon için tek engel ise venöz rezeksiyon göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun yanı sıra mezenterik ven dalları arasında, mezenterik veya portal ven ötesine direk yayılım, özellikle bu seviyede yapılacak rezeksiyon uzunca bir incebarsak segmentinin kanlanmasını bozacağından inoperabilite kriteridir. Dahası tümör pankreas ötesine bu yolla yayıldığında, lenf nodu ve diğer metastazlar da son derece yaygındır. Tümör mezenterik veya portal ven etrafında yayılarak, hepatik arter veya superior mezenterik artere de ulaşabilir. Eğer venöz sınırlar temizse artere ulaşan tümör (çevresel olarak %25'den azı tutulmuşsa) tümörle damar arası sınır bulunabilirse rezeke edilebilir. Arterin %50'sinden fazlasının tümörle sarılmış olması çok güçlü bir inoperabilite kriteridir ve bunu doğrulamak için cerrahi girişimin gerekliliği bile şüphelidir (76,82,83).

2.12.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi (MRCP)

MRG'nin pankreas ve periampuller kanserlerin tanı ve evrelemesindeki rolü henüz net değildir. Bazı çalışmalarda tümör rezektabilitesini göstermede MRG' nin BT' ye görünür bir üstünlüğü olmadığı rapor edilmiştir. Buna karşın yüksek hızlı MRG' nin evreleme ve rezektabilite değerlendirmesinde BT' ye üstün olduğunu belirten yayınlar da vardır (87-90). MRCP invaziv olmayan bir yöntem olup, pankreatik ve bilier tıkanmaların tanısallık değerlendirilmesinde yaygın kullanım alanı bulmaya başlamıştır ve muhtemelen tanısallık amaçlı ERCP' nin yerini alacaktır (91). Bu yöntem ayrıca pankreatik ve bilioenterik anastomozların devamlılık ve işlevlerinin değerlendirilmesinde ameliyat sonrası erken dönemde invaziv yöntemlerin kullanılmasını engelleyecektir. Eş zamanlı volüm rendering MRCP'nin artı kalan bilier sistemi ve bilioenterik anastomozlardaki enterik sistemi değerlendirmede faydalı olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (92). MRG ve MRCP'nin pankreatobilier malignitelerdeki klinik rolü gelişmekte olup, ERCP ve PTK gibi invaziv tanısallık yöntemlerin yerini yavaş yavaş alabilecektir. MRCP' nin dezavantajı, tespit edilen patolojiden biyopsi yapılamaması ve gerektiğinde safra yollarını drene etmek için stent yerleştirmenin mümkün olmamasıdır (91).

2.12.4. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi (ERCP) ve Stentler

Helikal BT bilier tıkanma ve küçük çaplı pankreatik tümörleri tanımlamada nispeten hassas bir yöntem olduğundan, ERCP ve perkutan transhepatik kolanjiyografi (PTK) ameliyat öncesi değerlendirmede rutin olarak kullanılmamaktadır. Ancak tıkanma sarılığı olan bir hastada, safra taşı hikayesi varsa veya BT'de pankreatik veya periampuller kitle bulgusu yoksa ERCP tercih edilmelidir (93). Rezeksiyon için aday olan hastalarda endobiliyer stentlerin yerleştirilmesi önerilmemektedir, çünkü stent yerleştirmenin potansiyel olarak kanama ve pankreatit gibi kendine has komplikasyonları vardır ve potoperatif pankreatik fistüllerin insidansını arttırabilir (94). Bu komplikasyonlar ameliyatı geciktirip karmaşık hale getirmekle kalmayıp, ERCP sonrasında nekrotizan pankreatit gelişmesi durumunda imkansız hale getirebilir. Ameliyat öncesi biliyer drenaj yara ve intraabdominal enfeksiyon oranını ve pankreatikoduodenektomi sonrası ölüm oranını arttırır (95). Bu nedenle seçici davranılarak, biliyer stentler, ameliyatının fazla geciktirilmesi gereken hastalarda

kaşıntıyı hafifletmek veya sirozu düşündüren serum bilirubin düzeyinin 30 mg/dl üzerinde olması durumunda ve sepsisli, beslenmesi bozuk ve tıbbi olarak riskli bazı hastalara ameliyat morbidite ve mortalitesini azaltmak için kullanılmalıdır (96). ERCP aynı zamanda inoperabl, nonrezektabl hastalarda sarılığı düzeltmek için palyatif amaçlı olarak da kullanılır.

2.12.5. Perkütan Transhepatik Kolanjiografi (PTK)

Yüksek derecede bilier obstrüksiyonu bulunan hastalarda, PTK uygun bir girişimdir. Rekonstrüksiyon için kullanılacak olan proksimal bilier anatomiye ortaya koymak açısından çok faydalıdır. PTK obstrüktif tipteki periampuller kanseri görüntülemenin yanında, peruktan transhepatik yolla bilier ağacın internal ya da eksternal kateter drenajını da mümkün kılmaktadır. PTK, daha önce mide rezeksiyonu veya pankreatikoduodenektomi geçirmiş ve ERCP ile safra yolları kateterizasyonu başarısız olmuş sarılıklı hastalarda da uygulanabilir (90,91).

2.12.6. Positron Emisyon Tomografisi (PET)

Positron emisyon tomografisinde görüntülemenin temeli kanser hücrelerinde artmış glukoz metabolizmasına dayanır (97). Positron emisyon tomografisinin pankreatik kanserin karaciğer metastazlarını göstermede, BT veya ultrasonografiden daha güvenilir olduğunu bildiren yayınlar vardır (98). Diğer çalışmalarda bu yöntemin ayrıca lenf nodu metastazlarını göstermede ve pankreatik kanseri kronik pankreatitten ayırt etmede BT'den daha güvenilir olduğu bildirilmiştir (99,100). Bu yöntem yüksek maliyet nedeni ile yaygın olarak kullanılmamaktadır, bu nedenle periampuller kanserleri değerlendirmedeki rolü belirlenme aşamasındadır.

2.12.7. Anjiyografi

Ameliyat öncesi evreleme ve rezektabilitenin değerlendirilmesi amacı ile anjiyografinin yeri sınırlıdır (80). Bu yöntemin yandaşları lokal damar invazyonunu göstermede ve önemli çölyak trunkus veya superior mezenterik arter anomalilerini ortaya koymada bu yöntemi yararlı bulmaktadırlar (101). Bununla birlikte hepatik arter ve portal venin tam tıkanması dışında bu yapıların daralması tümör invazyonu için özgül olmayıp, yalancı pozitif bir işaret olabilir. Anjiyografik anomalilerin olmaması pankreas kanserini veya vasküler invazyon varlığını ihtimal dışı bırakmaz (81). Deneyimli pankreas cerrahı ameliyat esnasında karşılaşılabileceği herhangi bir damar anomalisini tanımaya hazırlıklı olmalıdır. En sık rastlanan anomali, sağ hepatik veya

ana hepatik arterin superior mezenterik arterden çıkmasıdır. Bununla beraber, helikal abdominal BT’de pankreas başı çevresinde arteriyel kollateraller görülürse, ameliyat öncesinde anjiyografi faydalı olabilir. Bu bulgu çölyak arter darlık veya tıkanmasını akla getirir ve pankreas rezeksiyonu sonrasında karaciğer iskemisini önler (81). Ameliyat öncesinde radyoterapi alanlarında oluşan fibrozis, daha önceki eksplorasyon veya bilier by-pass nedeni ile oluşan yapışıklıklar ameliyat esnasında damarların değerlendirilmesini zorlaştırır, bu nedenle ameliyat öncesi visseral anjiyografi damarsal yapıların tanımlanmasında yardımcı olarak iatrojenik arteriyel yaralanma riskini azaltır (80).

2.12.8. Endoskopik Ultrasonografi

Endoskopik ultrasonografinin evrelendirmede, damarlara invazyon ve küçük tümörlerin tespitinde yararlı olduğu gösterilmiştir. Özellikle portal ve mezenter vene invazyonun tespiti, tümörün çıkarılabilirliğine, pankreas çevresindeki lenf ganglionlarının değerlendirilmesine ve hastanın ameliyata aday olup olmadığına karar vermede önemlidir (75,78,79,102). Lokal evreleme (T ve N) ve pankreatik ve periampuller adenokarsinomların doku doğrulamasında kullanılmasında artış vardır. Endoskopik ultrasonografi ile tespit edilen tümörlerden ve lenf ganglionlarından ince iğne aspirasyon biyopsisi yapılabilmektedir (73,103). Pahalı olması, sedasyon gerektirmesi, karaciğerin değerlendirilmesinin sınırlı olması ve uygulayan kişiye bağımlılığının önemli olması endoskopik ultrasonografinin rutin kullanılmasını sınırlayan faktörlerdir. Genelde BT’de farklı olarak tümör rezektabl olarak görülüyorsa, bu teste ait bulgulara dayanarak ameliyattan vazgeçmemek gerekir. Genelde endoskopik ultrasonografi ve biyopsi ameliyat düşünülmeyen hastalarda, pankreatik lenfoma şüphesi olanlarda ve BT veya ERCP’de gösterilemeyen fakat pankreas veya periampuller kitleden şüphelenilen hastalarda önerilir (73,75,78,79,102) .

2.12.9. Laparoskopi

Preoperatif olarak en güç ortaya çıkarılan metastazlar; küçük karaciğer metastazları, küçük peritoneal implantlar ve visseral damarların infiltrasyonudur. Bir çok metastaz tomografi ile saptanamaz, fakat laparoskopi esnasında saptanıp biyopsi alınabilir. Bu nedenle laparoskopi bu tümörlerin evrelemesinde oldukça önem kazanmıştır (104). Yüksek çözünürlüklü, kontrastlı spiral BT’de hastaların %5-10’unda küçük hepatik veya peritoneal metastazlar gözden kaçır ve tümör rezektabl olarak görülür (75). Ameliyattan

önce evreleme laparoskopisi şüphelenilmeyen portal veya hepatik metastazları ortaya koyarsa laparotomiden uzak durularak palyasyon endoskopik olarak sağlanır. Ancak şüphelenilmeyen peritoneal veya hepatik metastazlarda yararı düşük olduğundan evreleme laparoskopisinin rutin olarak kullanılması önerilmemektedir. Daha çok sınırlı laparoskopiyi palyatif işleme ihtiyaç duymayabilecek hastalarda ameliyatın ilk basamağı olarak kullanılması önerilmektedir. Bu hastalar ameliyat öncesinde endobilier stent uygulananlar, bilier veya duodenal obstrüksiyonu olmayan proksimal lezyonlar ve pankreas gövde veya kuyruk lezyonu olanlardır. Şüpheli peritoneal veya hepatik lezyonlardan biyopsi alınır ve metastaz teyit edilirse ameliyat sonlandırılır. Aynı zamanda peritoneal lavaj da yapılarak periton içine yayılan tümör hücreleri saptanabilir. Laparoskopi negatif ise, aynı anestezi seansında direkt olarak eksplorasyona geçilir (104,105). Öte yandan laparoskopiyeye, laparoskopik ultrasonografi ilavesi önemli katkılar sağlar. Karaciğer ve peritoneal yüzeylerin görsel değerlendirilmesine ek olarak, laparoskopik ultrasonografi ile 5 mm ve altındaki parankimal metastazların ve büyük damarlarla tümör arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi de sağlanmış olur. Laparoskopi için gerekenden çok daha fazla deneyim gerektirmesine rağmen, bu kombinasyon olguların değerlendirilmesinde önemli rol oynamaya adaydır. Ancak bazı nedenlerden dolayı nodal veya vasküler tutulumu değerlendirmek için genişletilmiş laparoskopi veya laparoskopik ultrasonografinin uygulanmamasını belirten yayınlar vardır. Lokal olarak rezektabl olmayan hastalıkta cerrahi palyasyon daha üstündür; standart cerrahi alan içindeki lenfadenopati ameliyat için kontrendikasyon teşkil etmez; abdominal BT, portal ven- superior mezenterik ven bileşkesine yapışıklık gösteriyorsa, gerekirse anblok rezeksiyon yapmaya hazırlıklı olarak ameliyata girilir (106).

2.13. Ameliyat Öncesi veya Ameliyat Esnasında Biyopsi Endikasyonu

Pankreas veya periampuller kitlesi olduğu kabul edilen, genel durumu iyi olan tıkanma sarılıklı hastalarda malignitenin histolojik teyidi gereksizdir, çünkü ameliyat kararı hastanın klinik durumu ve radyolojik bulgulara bağlıdır. Malignite, negatif biyopsi ile kesin olarak ihtimal dışı bırakılamaz ve rezeksiyondan önce doku desteğinin istenmesi, cerrahiden en fazla fayda görebilecek olan küçük çaplı tümörü olanları cerrahiden mahrum bırakabilir. Ayrıca her ne kadar az olsa da, ince iğne aspirasyon sitolojisinin de kanama, iğne hattına tümör ekilmesi, veya tümörün yayılması gibi komplikasyonları vardır. Bazen biyopsi sonrası pankreatit görülebilir (107,108).

Malignitenin histolojik teyidi, neoadjuvan protokollere aday hastalar veya cerrahiye uygun olmayıp palyatif kemo-radyoterapi için uygun bulunan hastalara saklanmalıdır. Genelde klinik olarak rezektabl pankreatik kitlesi olan genel durumu iyi olan hastalarda ameliyat öncesi veya ameliyat esnasında biyopsinin yeri yoktur. Kolay ve güvenilir bir şekilde ulaşılabilen duodenal veya ampuller kitlelerde endoskopik olarak veya ameliyat esnasında biyopsi alınabilir. Bununla beraber, endoskopik biyopsi yalancı negatif sonuç verebilir. Duodenal veya ampuller kitlenin benign olduğu ancak kitlenin tam çıkarılmasından sonra doğrulanabilir (107,108).

2.14. Ameliyat Endikasyonu

Basitçe ameliyat endikasyonu, uygun hastalarda pankreas veya periampuller malignitenin tanısının konulması şeklinde ifade edilebilir. Pankreas başı veya periampuller tümörün klinik tanısının konulması basit veya karmaşık olabilir. Doku tanısının konulması zorunlu değildir, böyle bir işlem istendiği ve yapıldığı zaman ameliyatı zorlaştırabilir ve ameliyattan en fazla fayda görebilecek hastaları bu işlemden mahrum bırakabilir (104,105).

Literatürde pankreatik veya periampuller malignite tanısı konulup rezeksiyon yapılanların yaklaşık %5'inde benign bir durum vardır (109). Günümüzde pankreatiko duodenektominin güvenilirliği (ameliyat mortalitesi %5'ten az), pankreatoduodenektomiden sonra hayat kalitesinin iyi olması ve ameliyatın semptomları ortadan kaldırmasından dolayı bu yaklaşım doğrudur (110). Cerrahi rezeksiyon yalnızca lokal ve bölgesel hastalığı olanlara fayda sağlar. Sistemik metastazları ihtimal dışı bırakmak için ameliyat öncesinde uygun görüntüleme yöntemlerinin kullanılması gerekir. Ameliyattan önce USG, BT, ERCP, endoskopik USG, laparoskopi ile metastaz ve lokal invazyon saptanmayan pankreas başı kanserlerinin ancak %80'ine küratif rezeksiyon yapılabilir. %20'sinde ise bu incelemeler ile ortaya çıkarılamayan periton ve omentumda mikrometastazlar ile gizli karaciğer metastazları saptanmaktadır. Superior mezenterik, çölyak veya hepatik arterlerin sarıldığına veya superior mezenterik ven-portal ven bileşkesinin tıkanığına dair radyolojik bulgunun olmaması gerekir. Eğer cerrah venöz rezeksiyon ve rekonstrüksiyon yapmak için hazırlıklı ise segmenter venöz tutulma (tam tıkanma ve kollateraller yok ise) ameliyat için kontrendikasyon değildir. Standart ameliyat sahasındaki nodal metastazlar (N1 pankreatik nodlar) rezeksiyonu engellemez.

Rezeksiyona aday olanların büyük bir abdominal işleme dayanabilmeleri için genel durumlarının ve fizyolojik rezervlerinin iyi olması gerekir. Genç, zinde hastalarda fizyolojik durumun değerlendirilmesi kolay olabilir, yandaş hastalığı olanlarda majör organ ve sistem fonksiyonları ve ameliyat riski dikkatlice değerlendirilmelidir. Pankreatoduodenektomi için kronolojik yaş kesin bir kontrendikasyon olmamalıdır (111).

2.15. Periapuller Bölge Tümörlerinde Uygulanan Cerrahi Prosedürler

Standart pankreatikoduodenektomi (Whipple ameliyatı) periapuller bölge patolojileri için en sık yapılan ameliyattır. Ameliyat mortalitesi deneyimli merkezlerde %5'den az, komplikasyon oranı %25-40 arasındadır. Cerrahi tekniğin ve ameliyat sonrası bakım koşullarının gelişmesi ile morbidite oranları %5-10'lara düşmüştür (112). Pilor koruyucu pankreatikoduodenektomi, standart Whipple ameliyatından sonra görülen postgastrektomi semptomlarını önlemek amacıyla tanımlanmıştır. Whipple ameliyatından farkı, midenin rezeke edilmemesi ve pilorun altında 2-3 cm duodenumun korunmasıdır. Standart Whipple ameliyatına göre daha az lenfatik diseksiyon yapılıyor olarak görülmesine rağmen sağkalım oranı daha düşük değildir (113,114). Total pankreatektomi, pankreas kanserlerinin %16-37'sinin çok odaklı olabileceği, kanal içi yayılım söz konusu olduğu, standart Whipple ameliyatında yapılan pankreatikojunostomiden sonra anastomoz sızıntısının mortaliteyi arttırması ve total pankreatektomiden sonra pankreas çevresi lenf diseksiyonunun daha kolay olması nedeniyle ortaya atılmıştır (115). Ancak total pankreatektomiden sonra morbiditenin daha az olmadığı, glukagon yokluğu ile birlikte ortaya çıkan insüline bağımlı diyabetin kontrolünün bazen güç olabileceği görülmüştür. Diğer yandan, bir çok çalışma, total pankreatektomiye rağmen sağkalımda bir artma saptanmadığını bildirmiştir. Total pankreatektomi, pankreas rezeksiyonu sonrası cerrahi sınırdaki tümör varlığında ve pankreasın anastomoz için uygun olmadığı durumlarda yapılmaktadır (116).

Pankreas kanserinin bölgesel lenf ganglionlarına metastaz ve retroperitona doğrudan invazyon sıklığının yüksek olması nedeniyle, genişletilmiş Whipple ameliyatı (bölgesel pankreatektomi) ortaya atılmıştır. Standart Whipple ameliyatına ek olarak, çölyak trunkustan ilyak bifurkasyona, vena kavanın sağından sol üretere kadar retroperitoneal tüm yumuşak dokuların çıkarılması ve lenfatik diseksiyonu, invazyon

varlığına göre üst mezenter ve portal ven rezeksiyonu yapılmakta ve pankreasın baş ve gövdesinin rezeksiyonunu içermektedir.

Standart Whipple ameliyatında çıkarılmayan ancak genişletilmiş Whipple ameliyatında çıkarılan lenf ganglionlarının %33'ünün metastaz içermesi bu ameliyata ilgiyi arttırmıştır. Ancak sağkalım açısından bu ameliyatın standart rezeksiyondan farkı olmadığı görülmüştür (113,115).

2.15.1. Potansiyel küratif rezeksiyon

Pankreas başı veya periampuller malignenside pilor koruyucu pankreatikoduodenektomi standart Whipple girişimine tercih edilir olmuştur (113,114). Standart pankreatikoduodenektomiye benzer olmakla birlikte midenin tamamının, pilorun ve duodenumun proksimal segmentinin korunması ile standart teknikten farklıdır. Pilor korunduğunda pilorik ve perigastrik nodlar çıkarılmadığından dolayı bazı cerrahlar pankreas başı kanserlerinde standart pankreatikoduodenektomiyi (distal gastrektomi ile birlikte) tercih ederler (115). Her ne kadar çıkarılan nodal doku açısından daha az radikal olarak gözüксе de, pilorun korunması ile uzun süreli sağkalımın etkilenmediği gösterilmiştir (114).

2.15.2. Genişletilmiş Lenfadenektomi

Pankreas başı duktal adenokarsinomu nedeni ile potansiyel küratif rezeksiyon yapılan hastalarda lenf nodlarına metastaz olmasının tümör nüksü ve uzun yaşam süresi üzerine önemli etkisi vardır (117). Radikal pankreatikoduodenektomi uygulanacak hastalarda uzak metastaz gelişmeden önce bölgesel nodal hastalığı eradike etmek amacı ile birkaç grup genişletilmiş lenfadenektomiyi savunmuştur (118,119). Japon cerrahlar bu yaklaşımı agresif olarak uygulamış ve standart Whipple ameliyatına göre daha iyi sürvi rapor etmişlerdir (120). Bununla beraber, yeni prospektif randomize bir çalışmada nod pozitif hastaların seçilmiş bir alt grubunda genişletilmiş lenfadenektominin morbidite ve mortalitede artış olmaksızın daha uzun yaşam süresinin olduğu bildirilmiştir (121,122).

2.15.3. Pankreatikoduodenektomiye Alternatifler

Pankreatikoduodenektomi, periampuller invaziv adenokarsinomda halen kabul edilen tedavi şeklidir. Bununla beraber, bazı ampuller ve periampuller duodenal kanserlerde daha konservatif yaklaşım olan lokal eksizyon seçilmiş bazı hastalarda uygulanabilir. Bu yaklaşım genelde yalnızca erken evre kanseri olan (karsinoma in situ,

pTis) veya radikal bir cerrahi işlemi kaldıramayacak hastalara uygulanır. Her ne kadar ampullektomi yüzyılı aşan bir süreden beri uygulanmakta ise de, ampuller ve periampuller duodenal kanserlerdeki rolü halen tartışmalıdır (123). Bu tartışma ampuller tümörün ve bitişik duodenal mukozanın basit eksizyonundan, tümörün papilla, komşu duodenal, duktal ve pankreatik dokuların geniş rezeksiyonuna kadar değişiklik gösteren ampullektominin cerrahi tekniklerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (124,125). Ampullektomi düşük risk evresi (pTis ve p T1N0M0), iyi diferansiye (grade 1-2) kanseri olan yüksek riskli hastalarda endike olabilir (126). Benzer olarak papillayı tutmamış erken duodenal kanserler transduodenal eksizyon veya parsiyel duodenektomi ile tedavi edilebilirler.

Kesin tümör evrelemesinin rezeke edilen spesmenin histolojik incelemesi ile mümkün olacağı ve daha önemli olarak T1 ampuller kanser veya karsinoma insituların %6-10'unda lenf nodu olabileceği akılda tutulmalıdır. Hasta seçim kriterleri göz önüne alınmaksızın bu hastalarda pankreatikoduodenektomiye göre genel yaşam süreleri daha kısa ve lokal nüks daha fazladır (127).

2.15.4. Cerrahi Palyasyon

Uzak metastaz varlığında veya lokal olarak anrezektabl tümörü olan vakalarda amaç, bilier ve duodenal obstrüksiyonun giderilmesi ve ağrı kontrolünün sağlanması olmalıdır (128). Bilier obstrüksiyonun palyasyonu için genel olarak tercih edilen Roux-en-Y hepatikojejunostomidir (129). Safra yollarına barsak içeriğinin reflüsü ve sekonder kolanjit önlemek için Roux-en-Y tipi anastomoz, loop rekonstrüksiyona tercih edilir. Teknik olarak iyi yapılan bir hepatikojejunostomiden sonra tıkanma ender görülür. Sarılık %90 hastada kaybolur. Yaklaşık %10 hastada ise karaciğer yetersizliği veya karaciğer metastazı nedeniyle devam eder. Vücut şekline, ödem veya uzamış sarılığa bağlı mezokolon veya hepatoduodenal ligamanda endurasyon olması gibi hepatikojejunostomiye zorlaştıracak durumlar varsa kolesistojejunostomi veya koledokoduodenostomi daha iyi alternatif olabilir. Şayet kolesistojejunostomi planlanıyorsa, sistik kanalın açık ve tümörün proksimal ucundan uzak mesafede (en az 2 cm) olduğunu tespit etmek için kolanjiografi çekilmelidir.

Pankreas başı kanseri ilk teşhis edildiğinde, gastroduodenal obstrüksiyon semptomları görülmesi sık değilse de, ölmeden önce bu hastaların %15-30'unda duodenal obstrüksiyon görülür. Bu nedenle bilier obstrüksiyon palyasyonunda aynı

zamanda profilaktik gastrojejunostomi yapılması önerilir. Bu yaklaşım gelişecek olan duodenal obstrüksiyon nedeni ile gerekecek ikinci bir ameliyatı önler ve ameliyat mortalitesini arttırmaz. Gastrojejunostomi, tümör invazyonu ihtimaline karşı antekolik olarak yapılmalı ve mide motilite bozukluğuna neden olmamak için vagotomi eklenmemelidir. Rezektabl olmayan duodenal veya ampuller adenokarsinomlarda benzer şekilde bilier veya gastroenterik by-pass yapılır (130).

Karın ve sırt ağrısı cerrahi olarak çıkartılabilir özellikte olmayan periampuller tümörlerde önemli bir problem oluşturur. Hastaların %30-40'ı opioid analjeziklere cevap vermeyen, %30'u ise cevap veren ağrıdan şikayet ederler. Bu nedenle intraoperatif olarak, çölyak trunkus seviyesinde, aortun sağına ve soluna %6 fenol veya %50 alkol ile yapılan kimyasal splanknisektomi %80 ağrı kontrolü sağlar. İlk kez 1978'de Copping tarafından uygulanan bu yöntem bir çok merkezde başarı ile uygulanmaktadır. Laparotomi geçirmeyen hastalarda BT kılavuzluğunda perkütan çölyak sinir blokajı ile de ağrı %80-90 oranında azalmaktadır.

2.15.5. Cerrahi Dışı Palyasyon

Cerrahiye aday olmayan semptomatik hastalara en etkili ve en ekonomik, cerrahi dışı palyasyon önerilir. Tanıyı teyid etmek, endikasyon var ise palyatif radyoterapi ve kemoterapiye müsaade etmesi için malignitenin histolojik teyidi yapılır. Bilier obstrüksiyonun giderilmesi endoskopik olarak yerleştirilen bilier stentler veya perkütan konulan transhepatik drenaj kateteri ile sağlanır. Endoskopik olarak yerleştirilen bilier stentler, kanama, hemobilia ve kaçağa neden olabilen perkütan transhepatik stentlere göre daha çok tercih edilir (131).

Duodenal obstrüksiyon varlığında cerrahi girişim yapılmaksızın iyileştirme zordur, bu vakalarda eksternal radyasyon ve sistemik kemoterapi başarısı da sınırlıdır. Yüksek düzeyde duodenal obstrüksiyon varlığında gastroenterostomi ile cerrahi yardım gereklidir. Ameliyat riski nedeni ile ameliyat edilemeyen hastalarda veya terminal dönem hastalığı olanlarda duodenal obstrüksiyonu rahatlatmak için perkütan gastrostomi kullanılabilir. Enteral besleme için diğer bir tüp gastrostomiden geçirilerek endoskopik olarak obstrüksiyonun distaline ilerletilebilir. Son zamanlarda malign duodenal obstrüksiyonların tedavisinde endoskopik genişleyebilen metal stentler kullanılmaktadır (132).

2.15.6. Cerrahinin Sonuçları

Cerrahi olarak çıkarılma oranı, ampulla vateri tümöründe %70-80, duodenal tümör ve distal koledok tümöründe %50-60 olmak üzere, periampuller kanserlerde oldukça yüksek oranlardadır. Pankreas başı kanseri için ise bu oran %15-20'dir. Sağ kalım oranını belirleyen başlıca faktör, tümörün lokalizasyonudur. Rezeksiyona uygun duodenum, distal koledok ve ampulla kanseri için 5 yıllık sağkalım oranı %20-40 iken, rezektabl pankreas başı kanseri için bu oran %5-20 olarak belirlenmiştir (133,134). Mortalite oranındaki belirgin azalmaya rağmen ameliyat sonrası komplikasyon insidansı halen yüksektir. Standart Whipple operasyonunda perioperatif mortalite %5'in altında ve morbidite %30 civarında gerçekleşmektedir (135).

Pankreatikoduodenektomiden sonra en sık görülen komplikasyonlar, mide boşalmasında gecikme, pankreas anastomozundan sızıntı, fistül, karın içi abse, kanama, yara enfeksiyonu, diyabet ve pankreas ekzokrin salgı yetersizliğine bağlı metabolik komplikasyonlardır. Pankreatikoduodenektomiden sonra gelişen en önemli komplikasyon, pankreatik anastomozdan sızıntı olmasıdır. Yaklaşık %5-15 hastada görülür. Pankreas fistüllerinin %80'i konservatif yöntemlerle genellikle iyileşir. Yeterli drenaj sağlanamayan yaklaşık %15 hastaya perkütan drenaj uygulanır. Pankreas fistülüne bağlı sepsis gelişip hastanın genel durumu bozulursa reeksplorasyon gerekir.

Standart Whipple girişimi sonrasında, dumping sendromu, diare, dispeptik şikayetler ve anastomoz ülserleri gibi komplikasyonlar, pilor koruyucu pankreatikoduodenektomi operasyonuna göre daha fazla oranda görülmektedir. Pilor koruyucu pankreatikoduodenektomi girişiminden sonra %30-50 oranında gecikmiş gastrik boşalım bildirilmiştir (136-138). Sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte, genellikle gastrik dekompresyon ve parenteral sıvı tedavisi ile gerilemekte ve prokinetik ajanların kullanımından fayda görmektedir. Patogenezinde pilor önü nörovasküler yapıların yaralanması, mide hareketlerinde bozukluk, duodenal pacemakerların rezeksiyondan sonra atonisi, endojen prokinetik hormonların dolaşımında azalması gibi etkenlerin rol oynadığı ileri sürülmektedir. Pilor koruyucu pankreatikoduodenektomide gıda alımı ve kilo artışı bariz olarak daha iyidir, gastrik ve jejunal ülserler %5'den daha az görülür. Standart Whipple girişimi yapılan hastalarda ise bu oran %20 civarındadır (137-140). Pilor koruyucu pankreatikoduodenektomide dumping sendromu gibi sindirim ile ilgili klinik bozukluklar görülmemiştir. Hayat kalitesi daha iyidir, daha az

hastanede kalım süresi sağlar. Beslenme ve sindirim fonksiyonu, pilor mekanizması korunduğu için normal olarak gelişir (141-143).

Grace ve arkadaşları tarafından 1990 yılında, periampuller tümörlerde pilor koruyucu pankreatikoduodenektominin, düşük mortalite ve morbidite oranları ile güvenilir bir radikal girişim olduğu gösterilmiştir (144). Bir çok araştırmacı; midenin, pilorun ve duodenumun küçük bir bölümünün korunmasının, cerrahi girişim sonrası sindirim ile ilgili bozuklukları önleme açısından yararlı olduğu düşüncesindedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Numunelerin Temini

Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan 16.10.2012 tarihinde 380 karar numarası ile araştırma için onay alınarak gerçekleştirildi. Çalışmanın kendilerine anlatıldığı ve çalışmaya gönüllü olarak katılacak olan, genel cerrahi bölümünde operasyona alınan 43 pankreas kanserli hastadan, tedavi protokolleri gereği operasyonda materyalden tümörlü ve sağlam dokular alınarak, azot tankına konuldu. Bu dokular, operasyonda rezeksiyon materyalindeki kitleden ve kitlenin sağlam cerrahi sınırından alındığından dolayı, hastaya ek bir girişim yapılmadı.

3.2. RNA izolasyonu

Homojenize edilmiş doku örneklerinden Qiagen RNA izolasyon kiti kullanılarak RNA izolasyonları yapıldı. Bunun için, 15ml'lik falcon tüpler hazırlandı. Dokular tüplere konuldu. Örnek numuneden ne kadar konulduysa 5 katı kadar buffer EL eklendi. 10-15 dakika buzda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan alındıktan sonra 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Dipteki pellete dokunmadan üstteki kısım yavaşça dökülerek bu sefer ilk başta koyduğumuz örnek miktarının 2 katı kadar buffer EL koyup hafifçe vortex yapıp pelletin dağılması sağlandı. 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Dipteki pellete dokunmadan üstteki kısım hafifçe döküldü. Daha önceden hazırlanan β mercapto ethanol solüsyonundan 600 μ l eklendi. Pellet iyice sıvı hale gelinceye kadar pipetaj yapıldı. Karışımı mor renkli spin kolonlara aktararak yüksek devirde 2 dakika santrifüj edildi. Üstteki filtreli olan spin kolon atıldı, alttaki karışımın olduğu toplama tüpünün içerisine ilk başta β mercapto ethanol solüsyonundan ne kadar konulduysa o kadar %70'lik alkol eklendi ve pipetaj ile karıştırıldı. Daha sonra karışımdan 600 μ l alarak beyaz renkli spin kolonlara aktarıldı ve 10000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi. Alttaki sıvı kısmı dökülüp tekrardan kalan kısmı da spin kolona aktarılıp ve yine 10000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilerek alttaki kısım atılıp spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine alındı. Spin kolon üzerine 700 μ l buffer RW1

eklendi ve 10000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi. Alttaki kısım atılarak spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine alındı. Spin kolon üzerine 500 µl buffer RPE eklendi ve 10000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi. Alttaki kısım atılarak spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine alındı. Spin kolon üzerine 500 µl buffer RPE eklendi ve 12000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Alttaki kısım atılarak spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine alındı. Spin kolona hiçbir şey koymadan boş olarak 14000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve spin kolonlar 1,5'luk ependorf tüplere alındı. Spin kolon üzerine 40 µl rnase free water eklendi ve 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Elde edilen RNA'nın kalitesi agaroz jel elektroforezi ile derişimi ise nanodrop spektrofotometresi ile ölçüldü.

3.3. cDNA eldesi

İzole edilen RNA'lar çalışma yapılacağı ana kadar -80°C'de bekletildi. Daha sonra spektrofotometrede ölçümü yapılan RNA'ların yoğunluğuna göre 0,2'lik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tüplerine konularak ilk başta denatürasyon aşaması yapıldı. Denatürasyon aşaması: 65°C'de 5 dakika denatürasyon aşamasından sonra tüpler hemen buz bloğu üzerine alındı. Daha sonra cDNA aşaması için her hasta için karışım hazırlandı.

cDNA karışımının hazırlanması:

Reverse Transkriptase 5x buffer	: 5 µl
dNTP	: 2,5 µl
Random nanomer	: 5,25 µl
RNAse inhibitör	: 0,5 µl
Reverse Transkriptase	: 0,5 µl

Hazırlanan karışım denatüre olmuş RNA'lar üzerine toplam hacim kadar dağıtıldı ve geri kalan kısım dH₂O ile tamamlandı (toplam hacim dH₂O ile birlikte 25 µl'ye tamamlandı). PCR cihazına yerleştirilerek cDNA aşaması yapıldı. cDNA protokolü: 42°C'de 60 dakika, 85°C'de 5 dakika, 4°C'de 3 dakika olarak kullanıldı. -20°C'de saklandı.

3.4. Real Time PCR ile UGT1A3 ve UGT1A7 Gen İfadesinin Tespiti

2-q37 nolu kromozom üzerinde çalışılmıştır. Primerler:

UGT1A3 bölgesi için Sense: 5'- GGATGAATTTGATCGCCATGTG-3'

Antisense: 5'-TGTCATGTGGTCTGAATTGGTT-3'

UGT1A7 bölgesi için Sense: 5' - CCTCTTTCCTATGTCCCCAGA-3'

Antisense: 5' -CCTCTTTCCTATGTCCCCAGA-3'

Housekeeping gen olarak B-Aktin kullanıldı. Primer design Precision 2X qPCR karışımı kullanılarak PCR yapıldı.

UGT1A3 karışımı;

SYBR Green mastermix : 12.5 µl

Fw Primer : 0.5 µl

Rw Primer : 0.5 µl

Distile su : 10.5 µl

cDNA(50 ng/ µl) : 1 µl

UGT1A7 karışımı;

SYBR Green mastermix : 12.5 µl

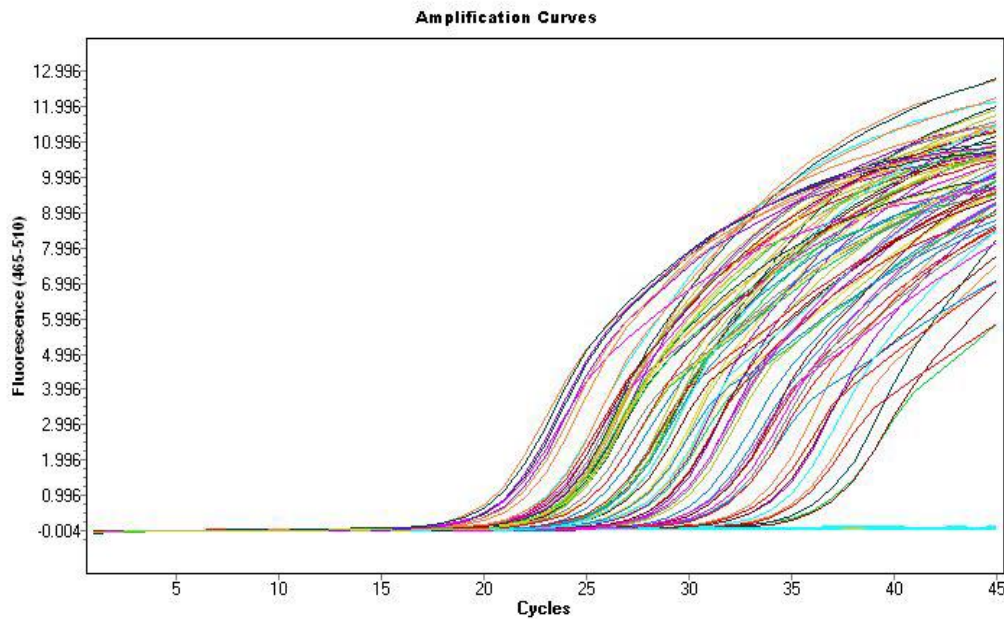
Fw Primer : 0.5 µl

Rw Primer : 0.5 µl

Distile su : 10.5 µl

cDNA(50 ng/ µl) : 1 µl

Hazırlanan her bir karışımı her hasta için 24 µl 96'lık platelere dağıtıldı. Üzerine 1 µl 50 ng'a dilüe edilmiş cDNA ilave edildi. 90 °C'de 10 dk, 40 siklus 15 sn. 60 °C'de, 60 sn. PCR şartlarına tabi tutuldu. Gen ifade sonuçları Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil10: Real time pcr ile UGT1A3, UGT1A7 ve B- Aktin gen ifadesi sonuçlarının grafiği

Hasta cDNA'ları üzerinden UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ifade düzeyleri real-time PCR cihazında çalışılarak elde edildi. Gen ifade düzeyleri Ct değerleri üzerinden yorumlandı. Normalizasyon için beta-aktin kullanıldı. $2^{-\Delta Ct}$ metodu kullanılarak normal ve tümörlü doku gruplarında UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ifade düzeyleri beta-aktin ifade düzeyi ile kıyaslanarak bu genler için rölâtif katsayı (fold change) değeri elde edildi. Tümörlü dokudaki gen ifadesinin normal dokudaki ile kıyaslanmasında bu rölâtif katsayı değeri kullanıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS paket programı kullanıldı. Gen ekspresyonlarının iki grup arasındaki ilişkisi Student's T Testi kullanılarak karşılaştırıldı. $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında pankreas kanseri tanısı ile opere edilen 43 hasta dahil edildi. Pankreas kanseri tanısı olan grubun %30.2'si (13) kadın, %69,8'i (30) erkek hastalardan oluşmakta idi. Hasta grubu yaş ortalamamız 61.5 (kadınlarda 61.1, erkeklerde 61.7) idi (Tablo 9).

Tablo 9. Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

	KADIN	ERKEK	TOPLAM
Hasta	13	30	43
Yaş(ortalama)	61.1	61.7	61.5

Çalışmaya dahil edilen 31 hasta, patoloji raporlarına göre değerlendirildiğinde, patolojik tip açısından, %93.5 ile, en sık adenokarsinom olduğu görüldü (Tablo 10).

Tablo 10. Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı

	SAYI	%
Adenokarsinom	40	93
Nöroendokrin tümör	3	7

Hasta cDNA'ları üzerinden UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ifade düzeyleri Ct değerleri üzerinden yorumlandı. Normalizasyon için beta-aktin kullanıldı. $2^{-\Delta Ct}$ metodu kullanılarak normal ve tümörlü doku gruplarında UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ifade düzeyleri beta-aktin ifade düzeyi ile kıyaslanarak bu genler için rölatif katsayı (fold change) değeri elde edildi.

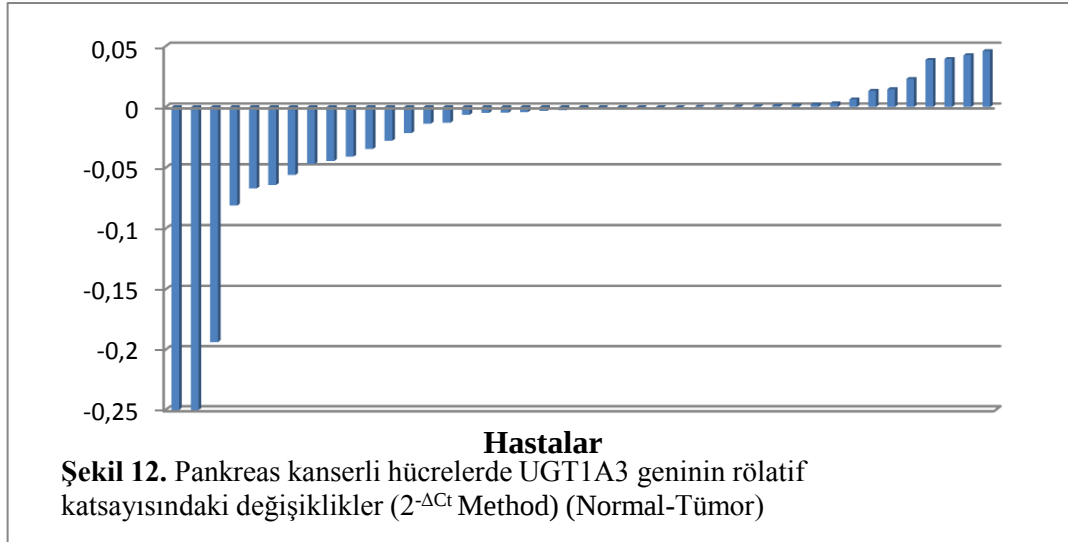
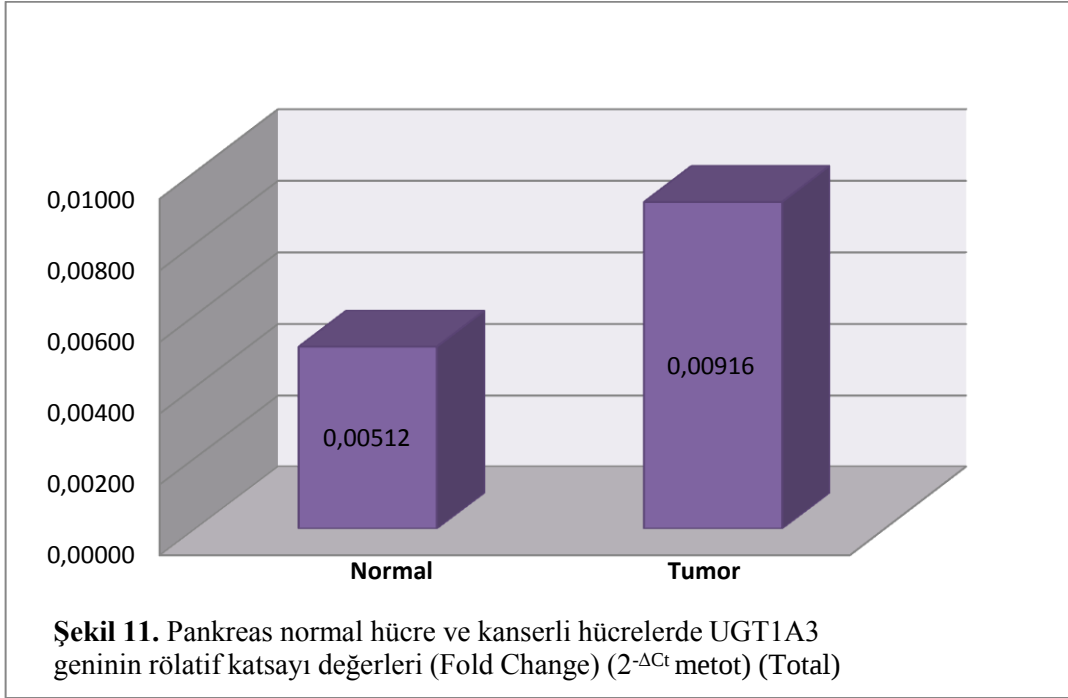
Çalışmaya dahil ettiğimiz 43 hastanın, operasyon sırasında çıkarılan materyalinden alınan normal ve tümörlü dokulardan UGT1A3, B-Aktin, ugt1A7 gen ekspresyon düzeyleri ve bu genlerin ifade düzeyleri olan Ct değerleri ve formülle standardize edilen $2^{-\Delta Ct}$ değerleri çalışıldı. İlk önce UGT1A3 gen ekspresyon düzeyi sonuçları değerlendirildi. Bu değerler tablo 11'de şematize edildi.

Tablo 11. UGT1A3 gen ekspresyon düzeyleri

	Normal	Normal	Tümör	Tümör	2 ^{-ΔCt}	2 ^{-ΔCt}	2 ^{-ΔCt}
	UGT1A3	Beta-Actin	UGT1A3	Beta-Actin	Normal	Tümör	N-T
1.HASTA	40	31,16	36,19	27,26	0,002182	0,00205	0,000132
2.HASTA	40	28,01	40	28,29	0,000246	0,000298	-5,3E-05
3.HASTA	40	32,64	40	40,45	0,006087	1,36604	-1,35995
4.HASTA	40	32,8	40	29,3	0,006801	0,000601	0,0062
5.HASTA	40	29,87	33,36	24	0,000892	0,001522	-0,00063
6.HASTA	40	28,17	40	40	0,000275	1	-0,99973
7.HASTA	34,53	28,15	40	34,67	0,012007	0,024861	-0,01285
8.HASTA	40	30,01	40	33,9	0,000983	0,014579	-0,0136
9.HASTA	40	34,66	40	30,75	0,024689	0,001642	0,023046
10.HASTA	40	28,83	40	30,4	0,000434	0,001289	-0,00085
11.HASTA	40	26,25	40	31,73	7,26E-05	0,00324	-0,00317
12.HASTA	36,42	28,74	40	36,2	0,004876	0,071794	-0,06692
13.HASTA	36,53	27,82	30,31	22,02	0,002388	0,003195	-0,00081
14.HASTA	40	27,23	33,15	24,65	0,000143	0,002762	-0,00262
15.HASTA	35,32	25,65	40	26,29	0,001228	7,46E-05	0,001153
16.HASTA	40	31,35	38,82	29,6	0,002489	0,001677	0,000812
17.HASTA	40	30,33	32,78	22,56	0,001228	0,000838	0,000389
18.HASTA	36,16	25,83	40	31,3	0,000777	0,002405	-0,00163
19.HASTA	40	31,6	40	23,65	0,00296	1,2E-05	0,002948
20.HASTA	40	26,03	40	22,61	6,23E-05	5,82E-06	5,65E-05
21.HASTA	40	26,73	34,68	23,85	0,000101	0,000549	-0,00045
22.HASTA	40	28,7	29,11	23,59	0,000397	0,021793	-0,0214
23.HASTA	31,03	24,96	34,35	28,08	0,014885	0,012958	0,001927
24.HASTA	27,53	23,59	22,45	20,5	0,065154	0,258816	-0,19366
25.HASTA	30,54	25,53	27,36	23,63	0,031034	0,075363	-0,04433
26.HASTA	33,3	28,32	40	34,24	0,031686	0,018453	0,013233
27.HASTA	23,71	20,63	23,63	19,84	0,118257	0,072293	0,045964
28.HASTA	28,82	23,92	27,1	23,46	0,033493	0,080214	-0,04672
29.HASTA	26,63	23,56	25,21	21,56	0,11908	0,07966	0,03942
30.HASTA	24,22	20,86	30,2	26,11	0,097396	0,05872	0,038675
31.HASTA	23,88	20,16	24,29	21,11	0,075887	0,110338	-0,03445
32.HASTA	26,15	20,51	27,51	23,94	0,020054	0,084202	-0,06415
33.HASTA	34,67	30,24	32,34	24,31	0,046391	0,003826	0,042566
34.HASTA	27,63	22,54	24,92	21,74	0,02936	0,110338	-0,08098
35.HASTA	25,93	21,05	31,71	27,02	0,03396	0,038741	-0,00478
36.HASTA	25,62	21,72	23,42	20,02	0,066986	0,094732	-0,02775
37.HASTA	28,98	25,02	22,8	18,94	0,064257	0,068869	-0,00461
38.HASTA	27,44	21,73	23,47	18,17	0,019104	0,025383	-0,00628
39.HASTA	25,88	22,15	21,51	17,47	0,075363	0,060791	0,014572
40.HASTA	24,86	21,9	20,94	18,5	0,128514	0,184284	-0,05577
41.HASTA	24,29	18,32	24,3	20,16	0,015953	0,05672	-0,04077
42.HASTA	40	27,1	40	26,69	0,000131	9,85E-05	3,24E-05
43.HASTA	40	28,56	27,58	19,79	0,00036	0,004518	-0,00416
ORTALAMA	33,96	26,35	32,64	25,87	0,00512	0,00916	

N-T: Normal dokudaki değerden tümörlü dokudaki değer in farkıdır.

Bu değerler sayısal olarak değerlendirildiğinde $2^{-\Delta Ct}$ 'nin normal dokudaki değeri 0,00512, $2^{-\Delta Ct}$ 'nin tümörlü dokudaki değeri 0,00916 olarak ölçülmüştür (Şekil 11). Bu durumda UGT1A3 gen ekspresyon düzeyi tümörlü dokuda artmış olarak saptandı (Şekil 12).



Normal ve tümörlü dokudaki UGT1A3 ekspresyonundaki değerler Student's T Testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değeri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri karşılaştırıldı. $P=0.047$ olarak bulundu (Tablo 12). Bu değerlere göre UGT1A3'ün ekspresyonunun tümörlü dokuda

normal dokuya göre daha fazla olduğu görüldü. Tümörlü dokudaki UGT1A3 gen ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Tablo 12. Pankreasın normal ve tümörlü dokularında UGT1A3 geninin T testi ile ekspresyonlarının karşılaştırılması

	Normal $2^{-\Delta Ct}$	Tümör $2^{-\Delta Ct}$
Ortalama	0,026944743	0,093501038
Varyans	0,001348551	0,063797324
Gözlem	43	43
Pearson Korelasyonu	0,006769509	
Öngörülen Ortalama Farkı	0	
df	42	
t Stat	-1,71158668	
P($T \leq t$) tek-uçlu	0,047174632	p <0,05
t Kritik tek-uçlu	1,681952357	
P($T \leq t$) iki-uçlu	0,094349264	
t Kritik iki-uçlu	2,018081703	

Tümör çapları ile UGT1A3 gen ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildi. Bu değerlendirmede tümör çapları ile normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldı. Buna göre tümör çapı ile $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin ters orantılı olduğu görüldü. Diğer bir ifadeyle tümör çapı arttıkça tümörlü dokudaki UGT1A3 ekspresyon değeri artmaktadır ($p=0.000000396$, $<0,05$) (Tablo 13).

Tablo 13. UGT1A3 geni $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin tümör çapları ile ilgisinin T testi ile değerlendirilmesi

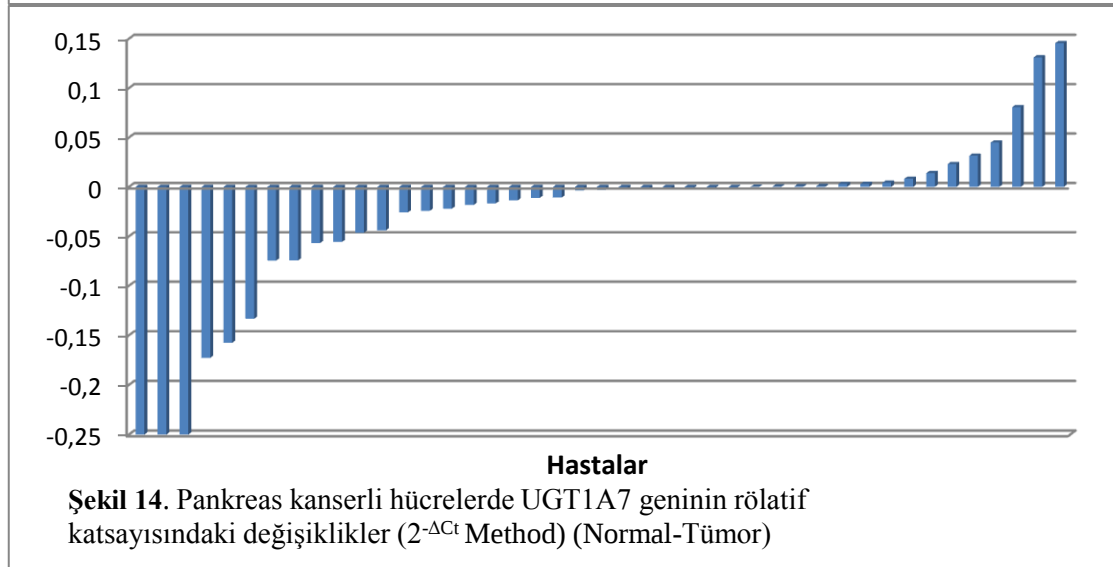
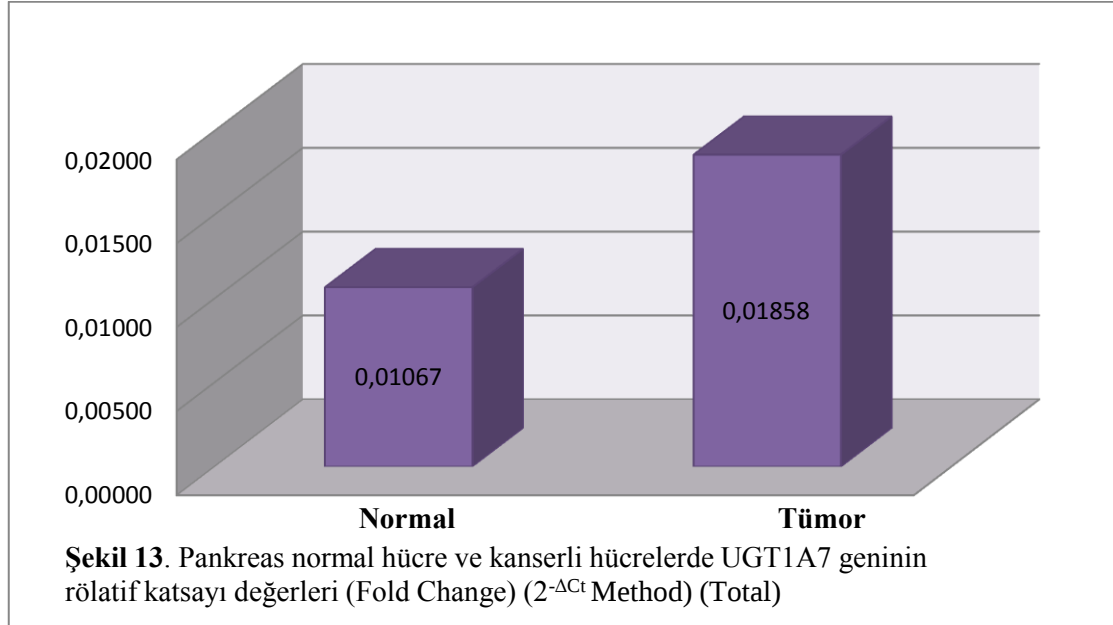
	$2^{-\Delta Ct}$ N-T	Tümör çapları
Ortalama	-0,06656	16,13977
Varyans	0,06502	336,4727
Gözlem	43	43
Pearson Korelasyonu	-0,01747	
Öngörülen Ortalama Farkı	0	
df	42	
t Stat	-5,79157	
P($T \leq t$) tek-uçlu	0.000000396	p<0,05
t Kritik tek-uçlu	1,681952	
P($T \leq t$) iki-uçlu	7,92E-07	
t Kritik iki-uçlu	2,018082	

Şimdi de UGT1A7 gen ekspresyon ifadesini değerlendirelim. UGT1A7 gen ekspresyonları aşağıdaki Tablo 14’de şematize edilmiştir.

Tablo 14. UGT1A7 gen ekspresyon düzeyleri

	Normal	Normal	Tümör	Tümör	$2^{-\Delta Ct}$	$2^{-\Delta Ct}$	
	UGT1A7	Beta-Actin	UGT1A7	Beta-Actin	Normal	Tumor	N-T
1.HASTA	40	31,16	33,5	27,26	0,002182	0,01323	-0,01105
2.HASTA	36,32	28,01	40	28,29	0,003151	0,000298	0,002852
3.HASTA	34,76	32,64	40	40,45	0,230047	1,36604	-1,13599
4.HASTA	40	32,8	36,68	29,3	0,006801	0,006003	0,000798
5.HASTA	36,57	29,87	31,51	24	0,009618	0,005486	0,004132
6.HASTA	40	28,17	40	40	0,000275	1	-0,99973
7.HASTA	35,35	28,15	40	34,67	0,006801	0,024861	-0,01806
8.HASTA	40	30,01	40	33,9	0,000983	0,014579	-0,0136
9.HASTA	40	34,66	40	30,75	0,024689	0,001642	0,023046
10.HASTA	40	28,83	40	30,4	0,000434	0,001289	-0,00085
11.HASTA	40	26,25	40	31,73	7,26E-05	0,00324	-0,00317
12.HASTA	34,03	28,74	40	36,2	0,025559	0,071794	-0,04623
13.HASTA	40	27,82	30,58	22,02	0,000216	0,00265	-0,00243
14.HASTA	35,72	27,23	31,98	24,65	0,002781	0,006215	-0,00343
15.HASTA	37,02	25,65	40	26,29	0,000378	7,46E-05	0,000303
16.HASTA	40	31,35	32,48	29,6	0,002489	0,135842	-0,13335
17.HASTA	40	30,33	30,71	22,56	0,001228	0,003521	-0,00229
18.HASTA	40	25,83	40	31,3	5,43E-05	0,002405	-0,00235
19.HASTA	40	31,6	40	23,65	0,00296	1,2E-05	0,002948
20.HASTA	36,57	26,03	40	22,61	0,000672	5,82E-06	0,000666
21.HASTA	36,24	26,73	32,95	23,85	0,001372	0,001822	-0,00045
22.HASTA	33,88	28,7	25,91	23,59	0,027584	0,200267	-0,17268
23.HASTA	29,92	24,96	31,59	28,08	0,032129	0,087778	-0,05565
24.HASTA	25,98	23,59	23,15	20,5	0,190782	0,15932	0,031462
25.HASTA	29,08	25,53	27,16	23,63	0,085378	0,086569	-0,00119
26.HASTA	30,93	28,32	40	34,24	0,163799	0,018453	0,145346
27.HASTA	23,53	20,63	22,63	19,84	0,133972	0,144586	-0,01061
28.HASTA	28,1	23,92	26,62	23,46	0,055169	0,111878	-0,05671
29.HASTA	25,92	23,56	24,69	21,56	0,194791	0,114229	0,080562
30.HASTA	23,57	20,86	28,9	26,11	0,15283	0,144586	0,008244
31.HASTA	23,1	20,16	23,79	21,11	0,130308	0,156041	-0,02573
32.HASTA	22,81	20,51	26,6	23,94	0,203063	0,15822	0,044844
33.HASTA	35,91	30,24	31,75	24,31	0,019641	0,005759	0,013882
34.HASTA	25,92	22,54	24,89	21,74	0,096055	0,112656	-0,0166
35.HASTA	25,01	21,05	30,52	27,02	0,064257	0,088388	-0,02413
36.HASTA	24,33	21,72	22,09	20,02	0,163799	0,238159	-0,07436
37.HASTA	28,47	25,02	21,53	18,94	0,091505	0,166086	-0,07458
38.HASTA	25,98	21,73	19,2	18,17	0,052556	0,48971	-0,43715
39.HASTA	23,83	22,15	18,96	17,47	0,312083	0,356013	-0,04393
40.HASTA	24,03	21,9	21,86	18,5	0,228458	0,097396	0,131062
41.HASTA	21,65	18,32	22,12	20,16	0,099442	0,257028	-0,15759
42.HASTA	40	27,1	40	26,69	0,000131	9,85E-05	3,24E-05
43.HASTA	40	28,56	25,27	19,79	0,00036	0,022406	-0,02205
ORTALAMA	32,9	26,35	31,62	25,87	0,01067	0,01858	

Bu değerler sayısal olarak değerlendirildiğinde $2^{-\Delta Ct}$ 'nin normal dokudaki değeri 0,0167, $2^{-\Delta Ct}$ 'nin tümörlü dokudaki değeri 0.01858 olarak ölçülmüştür (Şekil 13). Bu durumda UGT1A7 gen ekspresyon düzeyi tümörlü dokuda artmış olarak saptandı (Şekil 14).



Normal ve tümörlü dokudaki UGT1A7 ekspresyonundaki değerler Student's T Testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değeri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri karşılaştırıldı. $P=0.029$ olarak bulundu (Tablo 15). Bu değerlere göre UGT1A7'nin ekspresyonunun tümörlü dokuda normal dokuya göre daha fazla olduğu görüldü. Tümörlü dokudaki UGT1A7 gen ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Tablo 15. Pankreasın normal ve tümörlü dokularında UGT1A3 geninin T testi ile ekspresyonlarının karşılaştırılması

	Normal $2^{-\Delta Ct}$	Tümör $2^{-\Delta Ct}$
Ortalama	-0,07106467	16,13976744
Varyans	0,057361868	336,4727166
Gözlem	43	43
Pearson Korelasyonu	0,080788248	
Öngörülen Ortalama Farkı	0	
df	42	
t Stat	-5,80077616	
P(T<=t) tek-uçlu	0,000000384	p <0,05)
t Kritik tek-uçlu	1,681952358	
P(T<=t) iki-uçlu	7,68125E-07	
t Kritik iki-uçlu	2,018081679	

Tümör çapları ile UGT1A7 gen ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildi. Bu değerlendirmede tümör çapları ile normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldı. Buna göre tümör çapı ile $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin ters orantılı olduğu görüldü. Diğer bir ifadeyle tümör çapı arttıkça tümörlü dokudaki UGT1A7 ekspresyon değeri artmaktadır (p=0.000000384, <0,05) (Tablo 16).

Tablo 16. UGT1A3 geni $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin tümör çapları ile ilgisinin T testi ile değerlendirilmesi

	$2^{-\Delta Ct}$ N-T	Tümör çapları
Ortalama	-0,07106467	16,13976744
Varyans	0,057361868	336,4727166
Gözlem	43	43
Pearson Korelasyonu	0,080788248	
Öngörülen Ortalama Farkı	0	
df	42	
t Stat	-5,80077616	
P(T<=t) tek-uçlu	0,000000384	p <0,05)
t Kritik tek-uçlu	1,681952358	
P(T<=t) iki-uçlu	7,68125E-07	
t Kritik iki-uçlu	2,018081679	

5.TARTIŞMA

Pankreatik kanser, tanı ve tedavisinde yaşanan güçlükler nedeniyle ölüm oranı en yüksek olan kanser tiplerinden biridir. Kanserlerde tanı ve tedavi protokollerinin belirlenmesinde, moleküler patogenezinin anlaşılması önemli yer tutmaktadır (1).

Pankreas kanseri, gastrointestinal kanser ile ilişkili ölümlerin en yaygın nedenidir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kanser nedenli ölümlerin en sık dördüncü nedenidir (2). Aynı şekilde, 5 yıllık sağ kalım oranı ileri evre hastalıkta hastanın geç prezentasyonu nedeniyle %5'den azdır, bu yüzden de terapötik girişimi zordur (3). Potansiyel küratif tedavi için tek metot cerrahi rezeksiyondur, ancak bu hastaların sadece %10-20'sine uygulanabilir (4). Önemli olarak çapı 2 cm'den küçük olan kanserler pankreasa sınırlı olduğunda ve erken safhada tespit edildiğinde, 5 yıllık sağ kalım %46'ya yaklaşabilir (5). Bu amaç için, ortalama veya yüksek riskteki hastalardaki preneoplastik lezyonlar (pankreatik intraepitelyal neoplazi veya PanIN) da dahil çok erken safhadaki pankreas kanserinin tespiti, pankreas kanserine bağlı ölüm oranının azaltılmasına anlamlı katkıda bulunma fırsatları sağlayabilir.

UGTler primer aminoasit sekanslarının benzerliğine göre iki aile olarak sınıflandırılmıştır, UGT1 ve UGT2. İnsanlarda UGT1A geni, 2-q37 kromozomu üzerindeki gen lokusu tarafından kodlanan RNA transkripsiyonu kodlar (13,14). UGTler hidrofobik substratların renal veya safra yoluyla kolaylıkla elemine edilebilen inaktif hidrofobik β -D-glukopiranosiduronik asitlere (glukuronidler) dönüşümü katalizlerler. Glukuronidasyon için hedef substratlar üriner yan ürünlerin, steroid ve bilirubin gibi endojen metabolitlerin, bir çok terapötik ilacın ve polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlarla heterosiklik aminler gibi bir çok çevresel mutajenlerin bileşimlerinden meydana gelir (14). Bu enzimler hücrel savunmada kritik bir rol oynarlar ve hücrel detoksifikasyon ile ilgili proteinlerin major grubunu oluşturdukları düşünülmektedir.

İnsanlarda, UGT1A lokus geninin dokuya özel ürünlerin ekspresyonu ispatlanmıştır (15,16). UGT1A7, UGT1A8 ve UGT1A10 karaciğer dokusunda sentezlenmezler ve farklı olarak özofagus (17), mide (15), ince barsaklar (18) ve kolon (19) gibi intestinal sistem organlarınca düzenlendikleri gösterilmiştir. Ek olarak, UGT1A genlerinin regülasyonu ve fonksiyonları gastrointestinal karsinogenezis ile ilişkilendirilmiştir (14,17,18,20). İnsan kanserlerinin analizleri tümör dokularında UGT ekspresyonunun farklı düzenlemelerini göstermiştir (18, 20). Gastrik mukozada, bireyler arasında UGT aktivitesinde varyasyonlara yol açan UGT1A regülasyonu bir kanser risk faktörü olarak belirtilmiş iken (18) özefagus kanserinde UGT1A7 transkripsiyonunun down regülasyonu tüm özofageal benzo(α)piren metabolit glukuronidasyonunda düşüş ile koreledir (17). UGT1A7'nin klonlanması veya karakterize edilmesi, onun polisiklik aromatik hidrokarbonların ve tabii ki üriner heterosiklik aminlerin glukuronidasyonundaki kapasitesini göstermiştir ki her ikisi de kanserojen olarak bilinmektedirler. Bu bulgular bizim, UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin ekspresyonundaki veya fonksiyonel özelliklerindeki oynamaların potansiyel kanser riski için gösterge olabileceğinden şüphelenmemize neden olmuştur. Bundan dolayı, pankreas kanseri ile ilişkisini incelemek amacı ile hedef genler olarak belirlenmiştir.

Pankreas kanserlerinin mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle önemli yer teşkil etmektedir. Bu yüzden ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. Araştırmamızda pankreas kanserlerine ait hücrelerin UGT1A gen ailesinin ifade düzeyleri incelenmesi ile pankreas kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, pankreas kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesi amaçlanmaktadır.

UDP-glukuronozil transferazlar (UGT) bilirubin ve steroid hormonlar gibi birçok lipofilik endojen substratların ve de karsinojenler ve ilaçlar gibi xenobiyotiklerin glukuronizasyonunu katalizler (14,145). Birçok vakada UDP aracılı metabolizma, metabolik eliminasyonu artırır ve bazı vakalarda biyoaktivasyon gösterilmesine rağmen substratların biyolojik yararlanımını azaltır (145,146). UGTler bu yüzden önemli bir detoksifikasyon sistemi olarak sayılır. Azalmış enzim aktivitesi sonucu oluşan UGT'lerin genetik polimorfizmi; kolorektal kanser, meme kanseri, akciğer kanseri,

sindirim kanalının proksimal kanserleri, hepatosellüler kanser ve prostat kanserleriyle ilişkilendirilmiştir (147). Diğer yandan, anti-kanser tedavide çok önemli rol oynayan UGT'lerin, geliştirilmiş enzim aktiviteleri; irinotekan, metotreksat, epirubisin ve tamoksifen gibi UGT'lerin substratı olan birçok ilacın terapötik direncine katkıda bulunmaktadır (148). UGT'ler her ne kadar karşılık gelen normal dokulara göre çok daha az olsa da bir çok tümör hücresinde salgılanmaktadır (8,145). UGT'ler kemoterapötik direncin en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilmesine rağmen, çok azı ilaçların hedef kanser hücrelerindeki hücre içi birikimi ve kemoterapötik yararlanımına ilişkin direkt etkisini bilmektedir.

Tansiyonin IIA (TSA), kardiyovasküler ve serebrovasküler yararları iyi bilinen antikanser bir ajandır (149). UGT'nin katalizlediği bir dizi reaksiyonla elimine edilir ve apoptotik rol oynar (145,150). UGT1A'nın kolon kanser hücrelerinde TSA'ya bağlı apoptoza etkisi UGT1A ve UGT1A9'un apoptotik ölüm üzerindeki rolü test edilmiştir. Bir çalışmada (145), UGT1A ve UGT1A9'un eksepresyon seviyelerinin kolon kanser hücrelerinde TSA'nın apoptotik etkileri ve hücre içi birikiminde önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, kolon kanser hücrelerinde TSA'nın antikanser etkisi ve hücre içi birikiminde UGT1A ekspresyonu ve aktivitesinin rolü gözlemlenmiştir (145). Glukuronizasyon eksikliği, TSA redüksiyon döngüsü ve oto-oksidasyon ile hücre içi ROS üretimine ve hücrenin apoptotik ölümüne yol açar. Aksine UGT1A'nın aktivasyonu ve özellikle UGT1A9'un aktivasyonu bu döngüyü kırabilir ve TSA'nın metabolik eliminasyonuna neden olabilir. Ayrıca kanser hücrelerinde UGT1A daha az eksprese edildiği için TSAya bağlı sitotoksitenin arttığı görülmüş (145).

Geçtiğimiz yıllar boyunca, genotipleme ve verinin sekanslanması promotor lokalizasyondaki ve UGT1A genlerinin sekansını kodlayan 100'den fazla varyantın keşfedilmesine yol açmıştır. Dikkate değer şekilde, varyantların çoğu, genel popülasyonda %40-50'ye kadar alel çeşitliliği gösterirler; bu durumun bir dengesizlikle bağlantısı olduğu bulunmuştur fakat az sayıda varyantın genel popülasyonda polimorfizm olarak sınıflandırılabilmesi için yeterli frekansları vardır (151,164). Polimorfizm en iyi, 113 UGT1A alel genotip varyantı içerdiği bilinen, UGT1A geni ile gösterilir (UGT1A1*1-UGT1A1*113). UGT1A1 genlerinin çoğu yüksek alel frekansı göstermektedir (152,164). UGT1A3 (153), UGT1A4 (154), UGT1A6 (155), UGT1A7

(156), UGT1A8 (154) ve UGT1A9 (157)'da da genetik polimorfizm bulunmuştur. Polimorfizm, UGT'lerin aktivitesini azaltıp etkilenmiş bireylerin patolojisiyle sonuçlanabilen değişik derecelerde transkripsiyonel olduğu kadar fonksiyonel değişikliklere neden olur. Vaka-kontrollü bir çalışmanın analizi UGT1A1*6 ve UGT1A7*3 varyantlarını taşıyan bireylerde kolorektal kanser gelişmesi riskinin artmış olduğunu açığa çıkarmıştır (158,164). UGT1A3 genlerinin (UGT1A3*2, UGT1A3*3) genetik polimorfizmlerinin analizi hem salınan UGT1A3 proteinin aktivite seviyesinin değiştiğini hem de değişik substratlar için spesifitenin de etkilendiğini göstermiştir (159,164). UGT1A7 gen varyantları üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır. Düşük karsinogen metabolizan aktivitesi ile birlikte, UGT1A7 geni Çinli (OR:3.06) (160), Fransız (OR:3.4) (161), Japon (OR:2.33) (162) ve Korelilerde (OR:1.45) (163) hepatosellüler karsinoma (HCC) gelişmesi için bir risk faktörüdür. Ek olarak, alelik asosiasyon çalışmalarında, UGT1A4*2 ve UGT1A4*3'ün de HCC için risk faktörü olduğu düşünülmüştür (151,164).

UGT1A8*3 (C277Y) ve UGT1A9*3 (M33T) allozimlerinin mikofenolik asit üzerinden katalitik etkinlikleri büyük ölçüde düşmüştür (157). Birçok UGT lokusundan birindeki alel varyasyonu ilaç metabolizması potansiyelinde belirgin biyokimyasal değişimlere yol açabilir. Bu UGT enzimler indirgeyici karsinogenler olarak bilinir; fonksiyon eksikliği, kolorektal kanser gibi bir karsinogenik durumun etyolojisinde önemli bir rol oynar.

Gastrointestinal sistemde UGT1A'nın rolünü daha iyi anlayabilmek için bir çalışma (164) gastrointestinal sistemdeki UGT1A8 üzerine yoğunlaşmıştır. Önceki raporlar ışığında (164,165), UGT1A8'in ekspresyon ve fonksiyonundaki değişikliklerin kolorektal kanser için risk oluşturacağı fark edilmiş ve çalışmada, UGT1A genlerinin polimorfik ekspresyonu çalışılmıştır. Kolorektal kanser hastalarında UGT1A8 genotipini test edilmiş ve UGT1A8 gen polimorfizmi ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmış ve şu sonuçlar elde edilmiştir: kolorektal kanser hastalarında, çevreleyen sağlıklı dokular ile karşılaştırıldığında patolojik dokularda UGT1A mRNA ekspresyonu belirgin azalmış, kolorektal kanser hastalarından alınan sağlıklı dokuda UGT1A mRNA, normal kontrollerden alınan sağlıklı kolonik dokudakilerden belirgin daha düşük olarak saptanmıştır (164). Çevre normal mukoza ile karşılaştırıldığında kanseröz dokularda UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6 ve 1A9 mRNA seviyeleri farklı olarak

down-regüle saptanmış ($P<0.01$) fakat UGT1A8 ve UGT1A10 mRNA seviyeleri up-regüle olarak bulunmuştur ($P<0.01$) (164). Ek olarak, UGT1A8'in doku-spesifik ekspresyonunun tanımlanmamış regülatuar mekanizmaların evrimsel gelişimin belirteci olabileceğini ve biyolojik temelin kanser riskinde bireysel farklılıkların belirleyicisi olduğu ifade edilmektedir (164).

Başka bir çalışmada (8) UGT1A geni ile meme kanseri arasındaki bağlantı araştırılmış olup, UGT1A10 mRNA ekspresyonu normal spesmenlerle karşılaştırıldığında meme kanserlerinde neredeyse 4 kat daha az olarak bulunmuştur ($p:0.043$). Aynı zamanda çalışılan çoğu normal meme spesmenlerinin, genotoksik 4OEHI'i glukuronize etme kabiliyeti memede UGT yolağının biyolojik ve koruyucu bir rolü olduğunu destekler. Memede UGT1A10 ekspresyonunun bireysel farklılıklar göstermesi ile sonuçlanan moleküler mekanizmaların tanımlanması ile UGT'lerin memeyi östrojenlerin karsinojenik etkilerine karşı koruyucu olduğuna dair yeni bir iç bakış sağlamıştır (8). Küçük örnek sayısı ve UGT1A10 için spesifik antikorun olmayışı gibi bu çalışmanın bazı limitasyonları olsa da, bu çalışma yine de memede UGT1A10 mRNA ekspresyon ve glukuronidasyon aktivitesinin istatistiksel önemini göstermiştir (8).

UGT1A sınıfı, selüler detoksifikasyon ve aromatik aminlerin atılımını düzenleyen UGT ailesini kodlar. Aromatik aminlerin biyoaktivite formları sigara kullananlarda bulunmuştur ve endüstriyel kimyasallar mesane kanseri için temel risk faktörüdür. Yine bir çalışmada (166) UGT1A6 proteini ile kanserojenlerin mesaneden atılmasını artırarak mesane kanserinden koruyabileceği öne sürülmüştür. Çalışmada mesane kanseri gibi kompleks bir insan hastalığında yaygın olmayan bir koruyucu genetik varyantın genetik ve fonksiyonel rolüne bir örnek gösterilmiştir (166).

Mesane kanseri ailesel kalıtım ve ikiz çalışmalarında genetik faktörlerin etyolojide rolünün olduğu öne sürülmüştür (166). Özellikle, detoksifikasyon sistemindeki değişiklikler çevresel maruziyetlere bireysel yanıtı belirler. Faz II detoksifikasyon genleri NAT2 ve GSTM1'nin mesane kanseri için risk faktörleri olduğu önceden tanımlanmıştır (166). Kromozom 2q37.1 üzerindeki UGT1A gen sınıfının mesane kanseri şüphesi ile ilişkilendirilmesi şaşırtıcı değildir (166). Bu bulgular insanlarda hücrel detoksifikasyonun birkaç farklı yolak ile düzenlendiğini öne sürmektedir ve bu yolaklardaki farklılıklar mesane kanser riskini etkileyebilir. Endüstriyel kimyasallar ve

sigara dumanında bulunan aromatik aminlere maruziyetin artmış mesane kanseri riski ile oldukça ilişkili olduğu bulunmuştur. UGT1A6'in mesane kanserinden korunmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir (166). UGT1A6'nın sigara ve kimyasallara maruz kalan mesane epitelinde artmış olması, bunlara maruz kalmayanlarda ise normal seviyede olması, UGT1A6'nın mesane epitelini korumada önemli bir faktör olduğunu göstermiştir (166).

Sigara içimi akciğer kanseri ile bağlantılıdır (167) ve sigara içenlerde 60'tan fazla karsinom tanımlanmıştır (168). Bunlardan benzo(a)piren (BaP) ve 4-(Metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK) en çok çalışılmış olanlardır. Sitokrom P450 enzimleri tarafından BaP ve NNK'nın aktivasyonu DNA'ya kovalent bağlanabilen daha reaktif metabolitlerin ortaya çıkmasına yol açar, bu akciğer kanseri indüksiyonunun önemli bir basamağıdır (169). UGT'ler birçok endobiyotik ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu olan bir enzimler ailesinin üyesidir (170). UGT'ler BaP ve NNK detoksifikasyonundan sorumludur (170). Düşük glukuronidasyon aktivitesinin akciğer kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir (171). Ek olarak, UGT'lerde genetik polimorfizm akciğer kanseri dahil farklı kanserlerin risk ve insidansı ile ilişkilidir (170,172). Tüm UGT1A izoformlarından akciğer dokusunda üretildiği gösterilen tek UGT1A izoformunun UGT1A6 olduğu gösterilmiştir (173). Yine bir çalışmada (170); bu 5 SNP 100 çin akciğer kanseri hastası ve eşitlenmemiş 100 kontrolde oluşan ikinci kohortta daha ileri araştırılmış. UGT1A6 19T>G 541A>G ve 552A>C artmış akciğer kanseri riski ile ilişkili olmaya devam etmiş ve UGT1A6 105C>T ve IVS1+130G>T de belirgin olarak azalmış akciğer kanseri riski ile ilişkili olmaya devam etmiştir (170). UGT1A6*2 (haplotip 2 ve 6) taşıyan bireylerde akciğer kanseri riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (170). Sonuç olarak, bu çalışmada (170) UGT1A6 polimorfizmlerinin akciğer kanser riskini değiştirebileceği kanaatine varılmıştır. UGT1A6 105C>T'nin mRNA stabilitesini arttırdığı, bu şekilde akciğer kanseri riskini nasıl azalttığı gösterilmiştir. UGT1A6 genotiplemesinin şüpheli popülasyonlarda akciğer kanseri tarama stratejisini tamamlayabileceği öne sürülmüştür (170).

Stücker ve ark. (174) UGT1A7 polimorfizminin HCC riskini artırıp arttırmadığını, HCC'ler sirotik karaciğer zemininde geliştiği için, bu polimorfizmlerin sirozdan karsinomaya transformasyon için risk faktörleri olup olmadığını araştırmışlardır. Viral

zeminli karaciğer karsinogenezin detoksifikasyonunun UGT1A7 seviyesinden etkilendiği fakat alkolik zeminli karaciğer karsinogenezin etkilenmediği bulunmuştur (174). UGT1A7 polimorfizmleri kolon, pankreas, ağız ve larinks kanserleri gibi diğer kanser riskleriyle ilişkili gibi görünmüştür (174), ancak bu kanserlerden hiçbirinin bilinen bir viral zemini olmadığından daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Epidemiyolojik çalışmalarda pankreasın hem inflamasyon hem de kanserinin çevresel ve yaşam tarzı ile ilişkili toksin maruziyeti kadar tam açıklanmamış genetik predispozisyon ile ilişkili olduğu işaret edilse de, pankreatik hastalıkların nedeni netliğe kavuşturulamamıştır. Tütün tüketimi pankreatik kanser için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır, aynı zamanda pankreatik kanser kimyasal (175), petrokimyasal ve kauçuk endüstrisinde çalışan işçilerde daha yüksek insidans göstermektedir (176). Mevcut kanıtlara göre, oksidatif hücresel hasar pankreatik inflamasyonu arttıran önemli bir mekanizmadır ve genotoksisite ve kansere sebep olabilir (177). Oksidatif hasarın modülasyonuna yol açan genetik bir predispozisyon aynı zamanda pankreatik hastalıkların gelişimini etkileyebilen dikkat çekici bir mekanizmadır (177). UGT'ler hücresel savunma ve detoksifikasyonunun major biyokimyasal faktörleri olduğu düşünülen bir protein süper ailesidir. Bu, yalnızca diyetle alınan ürünler ve bilirubinler gibi endojen metabolitleri değil, aynı zamanda birçok terapötik ilaçlar, insan mutajenleri olarak bilinen heterosiklik ve polisiklik hidrokarbonlar, ve heterojenik aminleri de glikuronize etme yeteneklerindendir (178). UGT1A7 gen ürününün klonlanması ve karakterizasyonu ile sigara dumanı karsinojenleri gibi bilinen karsinojenlerin glikuronidasyonu gösterilmiştir. UGT1A7 geninin, 3 polimorfik UGT1A7 alelini (UGT1A7*2, UGT1A7*3, UGT1A7*4) tanımlayan 5 tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir (6). UGT1A7*3 kodlanan proteinin katalitik aktivitesini büyük ölçüde azalttığı (6,156) karaciğer (179) ve kolon (6) kanseri ile ilişkisi bulunmuştur. Bütün bunlar düşünüldüğünde, UGT1A7, genetik polimorfizmlerinin pankreas hastalıkları ile ilişkisi açısından önemli bir gen olduğu düşünülmüştür, çünkü fonksiyonel özelliklerinin değişikliği ile oksidatif hasarın ve aynı zamanda kronik inflamasyon ve kanser başlangıcı riskini etkiler (180). Bu, insan pankreası inflamasyonu ve karsinogenezi için risk faktörü olabilir. UGT1A7'nin gen ekspresyonu insan pankreasında predominant xenobiyotik metabolize edici UGT olduğu tanımlanmıştır.

Ockenga ve ark. (181); normal pankreatik dokuda ve kanserli dokuda yüksek seviyelerde UGT1A7 mRNA taranskripti olduğunu tespit etmişlerdir (181). Pankreatik dokudaki bu yüksek derecede selektif insan UGT1A7 ekspresyon paterni, bunun hücrel korunmada rolü olduğunu desteklemektedir. Normal pankreatik dokuda düşük seviyelerde UGT1A3, UGT1A4, pankreatik adenokarsinomda UGT1A7 ve UGT1A4 mRNA'lari tespit edilmiştir (181). Pankreatik UGT ekspresyonu şimdiye kadar tanımlanan gastrointestinal ekspresyonun tam tersidir (181). Pankreatik adenokarsinomda, hastalıkla ilişkili olarak UGT1A7*3 gen aleli tespit edilmiştir. Düşük mutajen detoksifikasyon yeteneği olan UGT1A7*3 aleli pankreas kanseri için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (181). Bu sonuçlar UGT1A7*3 aleli ile hepatosellüler karsinoma (179), oral kanser (181), ve kolorektal kanser (6) arasında ilişki olduğunu söyleyen erken bir bulguyu doğrular ve UGT1A7*3'un gastrointestinal kanserler için genel bir predispozan faktör olduğunu öngörmektedir.

Piepoli ve ark. (182); UGT1A7 ve UGT1A9 gen polimorfizmlerinin genetik dağılımında normal doku ile pankreas kanserli doku arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Ayrıca Japonya'da bir çalışmada (182); UGT1A9 genetik polimorfizminin de pankreas kanserli doku ile normal dokularda benzer olduğu saptanmıştır.

Yukarıda örneklediğimiz çalışmalardan da anlaşıldığı üzere UGT1A gen ailesinin kanser oluşmasında önemli yer teşkil ettiği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda pankreasta UGT1A3 ve UGT1A7 mRNA ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyonlarının pankreas tümörlü dokularda artmış olması dikkat çekmektedir. Çünkü pankreas dışında yapılan diğer çalışmalarda UGT1A gen ailesi ekspresyonunun genellikle kanserli dokularda azalmış olduğu bulunmuştur. Bu da aklımıza şu soruyu getirmektedir; pankreasın enzimatik yapısı mı yoksa kanserli hücrelerin mi UGT1A3 ve UGT1A7 ekspresyonunu artırdığıdır. Yaptığımız çalışmada pankreas normal hücrelerde UGT1A3 ve UGT1A7 ekspresyonunun kanserli dokuya göre daha az bulunması ve tümör çapı arttıkça UGT1A3 ve UGT1A7 ekspresyonunun kanserli dokuda aynı oranda artması bu ekspresyon artışının pankreasın enzimatik yapısından ziyade kansere bağlı hücrel değişiklikten kaynaklandığını desteklemektedir. Yukarıda verdiğimiz makalelerdeki örneklerde UGT1A gen ailesindeki azalmış detoksifikasyon aktivitesinin kansere yatkınlık oluşturduğundan

bahsetmiştik. Bizim çalışmamızda UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyonunun tümörlü dokuda arttığı bulundu fakat detoksifikasyonun azalmasından dolayı mı gen ekspresyonunun arttığı ayrı bir tartışma konusudur. Bu yüzden UGT1A3 ve UGT1A7 genlerinin pankreas kanserli hastalarda polimorfizmlerinin de çalışılması önerilmektedir.

Çalışmamızda UGT1A3 ve UGT1A7 genotiplemesinin şüpheli popülasyonlarda pankreas kanseri tarama stratejisini tamamlayabileceği öne sürülmüştür. Bu yüzden ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. Bu nedenle araştırmamızda pankreas kanserlerine ait hücrelerin UGT1A gen ailesinin ifade düzeyleri incelenmesi ile pankreas kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, pankreas kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesinin mümkün olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu çalışmanın daha geniş klinik serilerle geliştirilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda 43 pankreas kanserli hastanın normal ve tümörlü pankreas dokularından UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyon çalışması yapılmıştır. Çalışmasının sonucunda pankreas normal ve kanserli hücrelerde UGT1A3 ve UGT1A7 mRNA sentezi olduğu ispatlanmıştır.

UGT1A3 gen ekspresyonunun normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değeri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre UGT1A3'ün ekspresyonunun tümörlü dokuda normal dokuya göre daha fazla olduğu görüldü. Tümörlü dokudaki UGT1A3 gen ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

UGT1A3 gen ekspresyonunun tümör çapları ile normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldı. Buna göre tümör çapı ile $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin ters orantılı olduğu görüldü. Diğer bir ifadeyle tümör çapı arttıkça tümörlü dokudaki UGT1A3 ekspresyon değerinin arttığı bulundu ($p=0.000000396$, $<0,05$).

UGT1A7 gen ekspresyonunun normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değeri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri karşılaştırıldı. $P=0.029$ olarak bulundu. Bu değerlere göre UGT1A7'nin ekspresyonunun tümörlü dokuda normal dokuya göre daha fazla olduğu görüldü. Tümörlü dokudaki UGT1A7 gen ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

UGT1A7 gen ekspresyon tümör çapları ile normal dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri ile tümörlü dokudaki $2^{-\Delta Ct}$ değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldı. Buna göre tümör çapı ile $2^{-\Delta Ct}$ N-T değerinin ters orantılı olduğu görüldü. Diğer bir ifadeyle tümör çapı arttıkça tümörlü dokudaki UGT1A3 ekspresyon değerinin arttığı bulundu ($p=0.000000384$, $<0,05$).

UGT1A3 ve UGT1A7 gen ekspresyonlarının pankreas tümörlü dokularda artmış olması dikkat çekmektedir. Çünkü pankreas ve pankreas dışında yapılan diğer çalışmalarda kanserli UGT1A gen ailesi ekspresyonunun genellikle kanserli dokularda azalmış olduğu bulunmuştur. Bu nedenledir ki; pankreas kanserlerinde ekspresyon

alışmalarının sayısının artırılması ve UGT1A gen ailesinin polimorfizm çalışmalarıyla desteklenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Şahin F, Taşpınar M, Sunguroğlu A. Pankreatik Kanserin Moleküler Patogenezi, Türkiye Klinikleri J Med Sci, 2007, 27: 560-566.
2. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, et al. Cancer statistics, 2004. CA Cancer J Clin 2004; 54: 8–29.
3. Warshaw AL, Fernandez-del Castillo C. Pancreatic carcinoma. N Engl J Med 1992; 326: 455–465.
4. Allison DC, Piantadosi S, Hruban RH, Dooley WC, Fishman EK, Yeo CJ, et al. DNA content and other factors associated with ten-year survival after resection of pancreatic carcinoma. J Surg Oncol 1998; 67: 151–159.
5. Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sohn TA, Campbell KA, Sauter PK, et al. 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.
6. C P Strassburg, A Vogel, S Kneip, R H Tukey, M P Manns; Polymorphisms of the human UDPglucuronosyltransferase (UGT) 1A7 gene in colorectal cancer, Gut 2002; 50: 851–856.
7. I Stücker, MA Lorient, G N'Koutchou, S Cénée, L Bodin, CMulot, M Gelu-Simeon, L Pelletier, JP Bronowicki, F Degos, P Beaune, P Laurent-Puig, D Hémon, JC Trinchet and G Pelletier; UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers? BMC Cancer 2007, 7: 214 doi: 10.1186/1471-2407-7-214.

8. Athena Starlard-Davenport, Beverly Lyn-Cook, and Anna Radomska-Pandya; Identification Of UDP-Glucuronosyltransferase 1A10 in non-malignant and malignant human breast tissues, *Steroids*. 2008 July; 73 (6): 611–620.
9. Dutton, GJ. *Glucuronidation of Drugs and Other Compounds*. Boca Raton, Fl: CRC Press Inc; 1980.
10. Bock KW, Lilienblum W, Fischer G, et al. The role of conjugation reactions in detoxication. *Arch Toxicol* 1987; 60 (1–3): 22–29.
11. . Mojarrabi B, Mackenzie PI. Characterization of two UDP glucuronosyltransferases that are predominantly expressed in human colon. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247 (3):704–709.
12. Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, et al. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4- quinones as endogenous tumor initiators. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94 (20): 10937–10942.
13. . Harding D, Jeremiah SJ, Povey S, Burchell B. Chromosomal mapping of a human phenol UDPglucuronosyltransferase, GNT1. *Ann Hum Genet* 1990; 54 (Pt 1): 17–21.
14. Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 581–616.
15. Strassburg CP, Manns MP, Tukey RH. Expression of the UDP-glucuronosyltransferase 1A locus in human colon. Identification and characterization of the novel extrahepatic UGT1A8. *J Biol Chem* 1998; 273: 8719–26.
16. Strassburg CP, Kneip S, Topp J, et al. Polymorphic gene expression and interindividual variation of UDP-glucuronosyltransferase activity in human small intestine. *J Biol Chem* 2000; 275: 36164–71.

17. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, Tukey RH. Polymorphic expression of the UDPglucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human gastric epithelium. *Mol Pharmacol* 1998; 54 (4): 647–654.
18. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, et al. Polymorphic expression of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human gastric epithelium. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 647–54.
19. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, et al. UDP-glucuronosyltransferase activity in human liver and colon. *Gastroenterology* 1999; 116: 149–60.
20. Strassburg CP, Manns MP, Tukey RH. Differential down-regulation of the UDP-glucuronosyltransferase 1A locus is an early event in human liver and biliary cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 2979–85.
21. Hruban RH, Wilentz RE. Pankreas. Sav A, Özdamar ŞO ed. Robbins ve Cotran Hastalığın Patolojik Temeli, 7.baskı, Ankara, Güneş tıp kitabevleri, 2009; 939-952.
22. Arıncı K, Elhan A. İç organlar. *Anatomi 1. cilt*, Ankara, Güneş kitabevi, 2001; 261-265.
23. Moore KL, Dalley AF. Abdomen, Clinically oriented anatomy. USA, Lippincott Williams and Wilkins, 1999; 257-261.
24. Safalı M. Pankreas patolojisi. Mocan Kuzey G ed. *Temel Patoloji*, Ankara, Güneş kitabevi, 2007; 517-524.
25. Dere F. Abdominopelvik organlar. *Anatomi atlası ve ders kitabı*. Adana, Nobel tıp kitabevi, 1999; 948-953.
26. Klimstra DS, Hruban RH, Pitman MB. Pancreas. Mills SE ed. *Histology for pathologists*. USA, Lippincott Williams and Wilkins, 2007; 723-752.

27. Rosai J Pancreas and ampullar region. Rosai and Ackerman's surgical pathology. China, Elsevier, 2004; 1061-1073.
28. Brunicardi F. Charles, Andersen Dana K, Billiar Timothy R, Dunn David L, Hunter John G, Pollock Raphael E, Schwartz's Principles of Surgery Cerrahinin İlkeleri (Türkçe Çeviri) 2008; 1266-1267.
29. Kızmaz M, Pankreası infiltratif duktal adenokarsinomlarında nerve growth factor ve glial cell-derived neurotropic factor ekspresyonunun perinöral invazyon ve prognostik faktörler ile ilişkisinin araştırılması. Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2011; 2-20.
30. Friess H, Zhu ZW, Dimola FF, Kulli C, Graber HU, Sandberg AA, et al. Nerve growth factor and its high-affinity receptor in chronic pancreatitis. Ann Surg 1999; 230 (5): 615-624.
31. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Cerrahi Anatomi ve Teknik. Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.
32. Sadler TW. Development of the gastrointestinal tract. Langman's medical embryology. China, Lippincott Williams and Wilkins, 2010; 222-223.
33. Kockel L, Storm A, Delacour A, Nepote V, Hagenbüchle O, Wellauer PK et al. Anamylase/cre transene marks the whole endoderm but the primordia of liver and ventral pancreas. Genesis 2006; 44: 287-296.
34. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Development of the gastrointestinal tract. Larsen's human embryolog. China, Elsevier, 2009; 450-452.
35. Aytekin Y, Solakoğlu S ed. Sindirim kanalına bağlı bezler. Temel histoloji, Ankara, Nobel tıp kitabevi, 2006; 328-331.

36. Pour P.M ,Pandey K.K,Batra S.K.What is the origin of pancreatic adenocarcinoma? Mol Cancer 2003; 2 (13): 1-10.
37. http://www.medscape.com/viewarticle/442814_3 (24.01.2010).
38. Bardeesy N and DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. Nat Rev Cancer, 2002, 2 (12): 897-909.
39. Meszoely IM, Means AL, Scoggins CR, Leach SD. Developmental aspects of early pancreatic cancer. Cancer J, 2001; 7 (4): 242-50.
40. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/pancreas/index.html> (24.01.2010).
41. Zeng Q, Cheng Y, Zhu Q, Wu X, Huang K, et al. The relationship between overexpression of Glial cell-derived Neurotrophic Factor and its RET receptor with progression and prognosis of human pancreatic cancer. J Int Med Res 2008; 36: 656-664.
42. Klöppel G, Klimstra D. Tumors of the exocrine pancreas. In: Fletcher CDM ed. Diagnostic histopathology of tumors, China, Elsevier, 2007; 463-470.
43. Prasad SKR, Zeng R, Smyrk TC. Epidemiology and genetics of pancreatic cancer. Pathology of pancreatic neoplasms. In: Reznik RH ed. Pancreatic cancer, New York, Cambridge University, 2009; 1-17.
44. Anderson KE, Mack T, Silverman D. Cancer of the pancreas. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF ed. Cancer epidemiology and prevention, New York, Oxford University, 2006; 721-762.
45. Layfield LJ, Jarboe EA. Cytopathology of the pancreas: neoplastic and nonneoplastic entities. Ann Diagn Pathol 2010; 14: 140-151.

46. Keith AK, Michael GS, Ronald AH. Pancreatic and periampullar cancer. In: Mayo Clinic Gastrointestinal Surgery 2004, 271-299.
47. Gold EB, Gordis L, Diener MD, Seltser R, Boitnott JK, Bynum TE, et al. Diet and other risk factors for cancer of the pancreas Cancer. 1985; 55: 460.
48. Iodice S, Gandini S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. *Langenbecks Arch Surg*, 2008; 393(4): 535-45.
49. Tersmette AC, Petersen GM, Offerhaus GJ, Falatko FC, Brune KA, Goggins M, et al. Increased risk of incident pancreatic cancer among first degree relatives of patients with familial pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 738-744.
50. American Cancer Society, Facts and figures, Atlanta, GA: American Cancer Society, 2002.
51. Winter JM, Maitra A, Yeo CJ. Genetics and pathology of pancreatic cancer. *HPB (Oxford)*, 2006, 8(5): p. 324-36.
52. Harnack LJ, Anderson KE, Zheng W, Folsom AR, Sellers TA, Kushi LH. Smoking, alcohol, coffee, and tea intake and incidence of cancer of the exocrine pancreas: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1997; 6(12): 1081-6.
53. Bhanot U and Möller P. Mechanisms of parenchymal injury and signaling pathways in ectatic ducts of chronic pancreatitis: implications for pancreatic carcinogenesis. *Lab Invest* 2009; 89: 489-497.
54. Elghazi L, Weiss A.J, Barker D.J, Callaghan J, Staloch L, Sandgren EP, et al. Regulation of pancreas plasticity and malignant transformation by akt signaling. *Gastroenterology* 2009; 136 (3): 1091-1103.

55. Hruban RH, Adsay NV. Molecular classification of neoplasms of the pancreas. *Hum Pathol* 2009; 40: 612-623.
56. Şahin F, Taşpınar M, Sunguroğlu A. Pankreatik kanserin moleküler patogenezi. *Türk Klin J Med Sci* 2007; 27: 560-566.
57. Dr. Hasan Özkan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji B.D. Türkiye Gastroenteroloji Vakfı Kitabı. 2002; 365-72.
58. Jones J, Zhang X, Parsons D.W, Cheng J, Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science* 2008; 321 (5897): 1801-1806.
59. Kalaycı G, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Ders Kitapları. 2002; 1275-1293.
60. Hamilyon SR, Aaltone LA. Tumours of the exocrine pancreas. WHO of tumours. Pathology & genetics. Tumours of the digestive system. IARC, Lyon, 2000; 221-230.
61. Lıszka L, Zielinska E, Pajak J, Golka D. Colloid carcinoma of the pancreas: review of selected pathological and clinical aspects. *Pathology* 2008; 40 (7): 655-663.
62. Lauenstein T.C, Martin DR, Sarmiento JM, Kalb B, Moreira R, Carew J, et al. Pancreatic adenocarcinoma tumor grade determination using contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Pancreas* 2010; 39 (1): 71-79.
63. Adsay NV, Basturk O, Bonnett M, Kilinc N, Andea AA, Feng J, et al. A proposal for a new and more practical grading scheme for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2005; 29: 724-733.
64. Takahashi T, Isshıkura H, Motohara T, Okushiba S, Dohke M, Katoh H. Perinural invasion by ductal adenocarcinoma of the pancreas. *J Surg Oncol* 1997; 65: 164-170.

65. Ma J, Jiang Y, Jiang Y, Sun Y and Zhao X. Expression of growth factor and tyrosinekinase receptor A and correlation with perineural invasions in pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1852-1859.
66. Courtney MT, Mark BE, Daniel RB, Kenneth LM, Sabiston textbook of surgery. Philadelphia: WB Saunders Company, 2010, 17; 1667-1674.
67. Gupta MK, Arciaga R, Bocci L, Tubbs R, Bukowski R, Deodhar SD: Measurement of a monoclonal-antibody-defined antigen (CA 19-9) in the sera of patients with malignant and nonmalignant diseases : comparison with carcinoembryonic antigen. *Cancer* 1985; 56: 277-283.
68. Steinberg WM, Gelfand R, Anderson KK, Glenn J, Kurtzman SH, Sindelar WF, Toskes PP: Comparison of the sensitivity and specificity of the CA 19-9 and carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas. *Gastroenterology* 1986; 90: 343-349.
69. Cameron JL, Nordback IH : Periapillary cancer : In : Current surgical therapy, edited by , Cameron JL, St Louise : Mosby Year Book, 1992; 441-445.
70. Mahri DM, Meyers WC, Bast RC: 36 carcinoma of the pancreas; therapeutic efficiency as defined by a serodiagnostic test utilizing a monoclonal antibody. *Ann Surg*, 1985; 202: 440.
71. Montgomery RC, Hoffman JP, Riley LB, Rogatko A, Gidge JA, Eisenberg BL : Prediction of recurrence and survival by postresection CA 19-9 values in patients with adenocarcinoma of the pancreas. *Ann Surg Oncol*, 1997; 4: 551-556.
72. Willett CG, Daly WJ, Warshaw AL: Ca 19-9 is an index of response to neoadjuvantive chemoradiation therapy in pancreatic cancer. *Am J Surg*, 1996; 172: 350-352.

73. Tierney WM, Francis IR, Eckhauser F, Elta G, Nostrant TT, Scheiman JM: The accuracy of EUS and helical CT in the assessment of vascular invasion by peripapillary malignant. *Gastrointest Endosc*, 2001; 53: 182-188.

74. Pohl AL: Surveillance of cancer patients with tumor markers. *J Tumor Marker Oncol*, 1987; 2: 1-14.

75. Tomazic A: Preoperative staging of perampullar with US, CT, EUS and CA 19-9. *Hepato- Gastroenterology*, 2000; 47: 1135-1137.

76. Takahashi S, Ogata Y, Aiura K, Kitajima M, Hiramatsu K: Combined resection of the portal vein for pancreatic cancer : preoperative diagnosis of invasion by portography and prognosis. *Hepatogastroenterology*, 2000;47: 545-549.

77. Fuhrman GM : Thin-section contrast enhanced-computed tomography accurately predicts resectability of malignant pancreatic neoplasms. *Am J Surg*, 1994; 167: 104-113.

78. Howard TJ, Anthony CC, Streib MD, Kopecky KK, Wiebke EA: Value of helical computer tomography, angiography and endoscopic ultrasound in determining resectability of perampullary carcinoma. *Am J Surg*, 1997; 174: 237-241.

79. Legman P, Vignaus O, Dousser B, Baraza A, Palazzo L, Dumontier I, Coste J, Louvel A, Rousseau G, Couturier D, Bonnin A: Pancreatic tumors: comparisons of dual- phase helical CT and endoscopic sonography. *Am J Radiol*, 1998; 170: 1315-1322.

80. Dooley WC, Cameron JL, Pitt HA et al. Is preoperative angiography useful in patients with perampullary tumors? *Ann Surg*, 1990; 211:649.

81. Howard TJ: Value of helical computer tomography, angiography and endoscopic ultrasound in determining resectability of perampullary carcinoma. *Am J Surg*, 1997 174: 237-241.

82. Harrison LE, Brennan MF: Portal vein resection for pancreatic adenocarcinoma. *Surg Oncol Clin N Am*, 1998 7: 165-181.

83. Fuhrman GM, Leach SD, Staley CA, Cusack JC, Charnsangavej C, Cleary KR, El-Naggar AK, Fenoglio CJ, Lee JE, Evans DB: Rationale for en bloc vein resection in the treatment of pancreatic adenocarcinoma adherent to the superior mesenteric- portal vein confluence . Pancreatic Tumor Study Group. *Ann Surg*, 1996 22: 154-162.

84. Leach SD, Lee JE, Charnsangavej C, Cleary KR, Lowy AM, Fenoglio CJ, Pisters PW, Evans DB : Survival following pancreaticoduodenectomy with resection of the superior mesenteric- portal vein confluence for adenocarcinoma of the pancreatic head. *Br J Surg*, 1998; 85: 611- 617.

85. Harrison LE, Brennan MF : Portal vein involvement in pancreatic cancer : A sign of unresectability? *Adv Surg*, 1997; 31: 375-394.

86. Bold RJ, Charnsangavej C, Cleary KR, Jennings M, Madray A, Leach SD, Abbruzzese JL, Pisters PW, Lee JE, Evans DB: Majör vascular resection as part of pancreaticoduodenectomy for cancer: radiologic, intraoperative and pathologic analysis. *J Gastrointest Surg*, 1999 3: 233-243.

87. Megibow AJ, Zhou XH, Rotterdam H, Francis IR, Zerhouni EA, Balfe DM, Weinreb JC, Aisen A, Kuhlman J, Heiken JP: Pancreatic adenocarcinoma: CT versus MR imaging in the evaluation of resectability- report of the Radiology Diagnostic Oncology Group. *Radiology*, 1995; 195: 327-332.

88. Hochwald SN, Rofsky NM, Dobryansky M, Shamamian P, Marcus SG: Magnetic resonance imaging whit magnetic resonance cholangio pancreatography accurately predicts resectability of pancreatic carcinoma. *J Gastrointest Surg*, 1999 3: 506-511.

89. Semelka RC, Kelekis NL, Molina PL, Sharp TJ, Calvo B: Pancreatic masses whit inconclusive findings on spiral CT: is there a role for MRI ? *J Magn Reson Imaging*, 1996; 6: 585-588.

90. Owen NJ, Shohaib SA, Peppercorn PD, Monson JP, Grossman AB, Besser GM, Reznick RH: MRI of pancreatic neuroendocrine tumors. *Br J Radiol*, 2001; 74: 799-802.
91. Adamek HE, Albert J, Breer H, Weitz M, Schilling D, Riemann JF: Pancreatic cancer detection with magnetic resonance cholangiopancreatography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a prospective controlled study. *Lancet*, 2000; 356: 190-193.
92. Sho M, Nakajima Y, Kanehiro H, Hisanaga M, Nishio K, Nagao M, Tatekawa Y, Ikeda N, Kanokogi H, Yamada T, Hirohashi S, Hirohashi R, Uchida H, Nakano H: A new evaluation of pancreatic function after pancreaticoduodenectomy using secretin magnetic resonance cholangiopancreatography. *Am J Surg*, 1998; 176: 279-282.
93. Bilbao MK, Dotter CT, Lee TG, et al : Complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a study of 10,000 cases. *Gastroenterology*, 1976 70: 314-320.
94. Freeman ML: Understanding risk factors and avoiding complications with endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Curr Gastroenterol Rep*, 2003 5: 145-153.
95. Povoski SP, Karpeh MS Jr, Conlon KC, Blumgart LH, Brennan MF: Preoperative biliary drainage: impact on intraoperative bile cultures and infectious morbidity and mortality after pancreaticoduodenectomy. *J Gastrointest Surg*, 1999 3: 496-505.
96. Martin RF, Rossi RL: Multidisciplinary considerations for patients with cancer of the pancreas or biliary tract. *Surg Clin N Am*, 2000; 80: 709-728.
97. Delbeke D, Martin WH: Positron emission tomography imaging in oncology. *Rad Clin N Am*, 2001; 39: 883-917.

98. Rose DM, Delbeke D, Beauchamp D, Chapman WC, Sandler MP, Sharp KW, et al.: 18-Fluorodeoxyglucose- positron emission tomography in the management of patients with suspected pancreatic cancer. *Ann Surg*, 1998; 229: 726-738.
99. Berberat P, Friess H, Kashiwaggi M, Berger H, Buchler MW: Diagnosis and staging of pancreatic cancer by positron emission tomography. *World J Surg*, 1999 23: 8822-8887.
100. Mertz H, Sechopoulos P, Delbeke D, Leach SD : EUS, PET and CT scanning for evaluation of pancreatic adenocarcinoma. *Gastrointest Endosc*, 2000; 52: 367-371.
101. Biehl TR, Traverso LW, Hauptmann E, Ryan JA Jr: Preoperative visceral angiography alters intraoperative strategy during the Whipple procedure. *Am J Surg*, 1993; 165: 607-612.
102. Midwinter MJ, Beveridge CJ, Wilsdon JB, Bennett MK, Baudouin CJ, Charnley RM: Correlation between spiral computed tomography, endoscopic ultrasonography and findings at operation in pancreatic and ampullary tumours. *Br J Surg*, 1999 86: 189-193.
103. Kubo H, Chijiwa Y, Akahoshi K, Hamada S, Matsui N, Nawata H: Pre-operative staging of ampullary tumours by endoscopic ultrasound. *Br J Radiol*, 1999 72: 443-447.
104. Conlon KC, Brennan MF: Laparoscopy for staging abdominal malignancies. *Adv Surg*, 2000; 34: 331-350.
105. Warshaw AL, Tepper JE, Shipley WU: Laparoscopy in the staging and planning of therapy for pancreatic cancer. *Am J Surg*, 1986 151: 76-80.
106. Luque-de Leon E, Tsiotos GG, Balsiger B, Barnwell J, Burgart LJ, Sarr MG: Staging laparoscopy for pancreatic cancer should be used to select the best means of palliation and not only to maximize the resectability rate. *J Gastrointest Surg*, 1999 3: 111-117.

107. Di stasi M, Lencioni R, Solmi L, Magnolfi F, Caturelli E, De Sio I, Salmi A, Buscarini L: Ultrasound-guided fine needle biopsy of pancreatic masses: results of a multicenter study. *Am J Gastroenterol*, 1998; 93: 1329-1333.
108. Bergenfeldt M, Genell S, Lindholm K, Ekberg O, Aspelin P: Needle- tract seeding after percutaneous fine-needle biopsy of pancreatic carcinoma: case report. *Acta Chir Scand*, 1988; 154: 77-79.
109. Smith CD, Behrns KE, Van Heerden JA, Sarr MG: Radical pancreaticoduodenectomy for misdiagnosed pancreatic mass. *Br J Surg*, 1994; 81: 585-589.
110. Pedrazzoli S, Pasquali C, Sperti C: General aspects of surgical treatment of pancreatic cancer. *Dig Surg*, 1999; 16: 265-275.
111. Spencer MP, Sarr MG, Nagorney DM: Radical pancreatectomy for pancreatic cancer in the elderly : It is safe and justified? *Ann Surg*, 1990; 212: 140-143.
112. Rios G, Conrad A, Cole D, Adams D, Leveen M, O'Brien P, Baron P: Trends in indications and outcomes in the Whipple procedure over a 40- year period. *Am Surg*, 1999; 65:889-893.
113. Sakorafas GH, Friess H, Balsiger BM, Buchler MW, Sarr MG: Problems of reconstruction during pancreaticoduodenectomy. *Dig Surg*, 2001; 18: 363-369.
114. Mosca F, Giulianotti PC, Balestracci T, Di Candio G, Pietrabissa A, Sbrana F, Rossi G : Long-term survival in pancreatic cancer: pylorus- preserving versus Whipple pancreaticoduodenectomy. *Surgery*, 1997; 122: 553-566.
115. Jones L, Russell C, Mosca F, Boggi U, Sutton R, Slavin J, Hartley M, Neoptolemos JP: Standard Kausch- Whipple pancreaticoduodenectomy. *Dig Surg*, 1999; 16: 297-304.

116. Niedergethmann M, Farag Soliman M, Post P. Postoperative complications of pancreatic cancer surgery. *Minerva Chir*, 2004; 59 (2): 175-183.
117. Nagakawa T, Nagamori M, Futakami F, Tsukioka Y, Kayahara M, Ohta T, Uen K, Miyazaki I: Results of extensive surgery for pancreatic carcinoma. *Cancer*, 1996; 12: 357- 361.
118. Benassai G, Mastorilli M, Mosella F, Mosella G: Significance of lymph node metastases in the surgical management of pancreatic head carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 1999; 18: 23-28.
119. Imamura M, Hosotani R, Kogire M: Rationale of the so-called extended resection for pancreatic invasive ductal carcinoma. *Digestion* 60 Sp, 1999; 1: 126-129.
120. Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, Ohta T, Takeda T, Miyazaki I: An evaluation of radical resection for pancreatic cancer based on the mode of recurrence as determined by autopsy and diagnostic imaging. *Cancer*, 1993; 172: 2118-2123.
121. Iacono C, Facci E, Bortolasi L, Zamboni G, Scarpa A, Talamini G, Prati G, Nifosi F, Serio G: Intermediate results of extended pancreaticoduodenectomy : Verona experience. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 1999; 6: 74-78.
122. Ishikawa O: What constitutes curative pancreatectomy for adenocarcinoma of the pancreas? *Hepatogastroenterology*, 1993 40: 414-417.
123. Rattner DW, Fernandez-del Castillo C, Brugge WR, Warshaw AL: Defining the criteria for local resection of ampullary neoplasms. *Arch Surg*, 1996; 131: 366-371.
124. Farouk M, Niotis M, Branum GD, Cotton PB, Meyers WC: Indications for and the technique of local resection of tumors of the papilla of Vater. *Arch Surg*, 1991; 126: 650-652.

125. Gertsch P, Matthews JB, Lerut J, Baer HU, Blumgart LH: The technique of papilladuodenectomy. *Surg Gynecol Obstet*, 1990; 170: 254-256.
126. Klein P, Reingruber B, Kastl S, Dworak O, Hohenberger W: Is local excision of p T1-ampullary carcinomas justified? *Eur J Surg Oncol*, 1996 22: 366-371.
127. Farnell MB, Sakorafas GH, Sarr MG, Rowland CM, Tsiotos GG, Farley DR, Nagorney DM: Villous tumors of the duodenum : reappraisal of local vs extended resection. *J Gastrointest Surg*, 2000; 4: 13-21.
128. Gough DB, Sarr MG: Bypass procedures: surgical treatment of pancreatic cancer. *The Pancreas Vol. 2* Edited by HG Beger, AL Warshaw, MW Büchler, DL Carr- Locke, JP Neoptolemos, C Russell, MG Sarr. Oxford, Blackwell Science, 1998; 1062-1070.
129. Sarr MG: Palliation of jaundice: gastrointestinal obstruction. *J Gastrointest Surg*, 1999; 3: 343-344.
130. Lillemoe KD, Cameron JL, Hardacre JM, Sohn TA, Sauter PK, Coleman J, Pitt HA, Yeo CJ: Is prophylactic gastrojejunostomy indicated unresectable periampullary cancer? A prospective randomized trial. *Ann Surg*, 1999; 230: 322-328.
131. Das A, Sivak MV Jr: Endoscopic palliation for inoperable pancreatic cancer. *Cancer Control*, 2000; 7: 452-457.
132. Soetikno RM, Carr- Locke DL: Expandable metal stents for gastric-outlet, duodenal and small intestinal obstruction. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 1999; 9: 447-458.
133. Yamaguchi K, Kishinaka M, Nagai E, Nakano K, Ohtsuka T, Chijiwa K, Tanaka M. Pancreaticoduodenectomy for pancreatic head carcinoma with or without pylorus preservation. *Hepatogastroenterology*, 2001; 48: 1479-1485.

134. Tran KT, Smeenk HG, Eijck CH, et al. Pylorus preserving pancreaticoduodenectomy versus standard Whipple procedure: a prospective, randomized, multicenter analysis of 170 patients with pancreatic and periampullary tumors. *Ann Surg*, 2004; 240: 738-745.
135. Schmidt CM, Powell ES, Yiannoutsos CT, et al. Pancreaticoduodenectomy. A 20 year experience in 516 patients. *Arch Surg*, 2004; 139: 718-727.
136. Yamaguchi K, Tanaka M, Chijiwa K, Nagakawa T, Imamura M, Takada T. Early and late complications of pylorus- preserving pancreaticoduodenectomy in Japan 1998. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 1999; 6 (3): 303-311.
137. Reidiger H, Makowiec F, Schareck WD, Hopt UT, Adam U. Delayed gastric emptying after pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy is strongly related to other postoperative complications. *J Gastrointest Surg*, 2003; 7 (6): 758-765.
138. Hoshal VL Jr, Benedict MB, David LR, Kulick J. Personal experience with the Whipple operation : outcomes and lessons learned. *Am Surg*, 2004; 70 (2): 121-125.
139. Stephens J, Huhn J, O'Brien J, et al. Surgical morbidity, and long-term survival in patients with peripancreatic cancer following pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg*, 1997; 174 (6): 600-603.
140. Chou FF, Sheen-Chen SM, Chen YS, Chen MC, Chen CL. Postoperative morbidity and mortality of pancreaticoduodenectomy for periampullary cancer. *Eur J Surg*, 1996; 162 (6): 477-481.
141. Horstmann O, Markus PM, Ghadimi MB, Becker H. Pylorus preservation has no impact on delayed gastric emptying after pancreatic resection. *Pancreas*, 2004; 28 (1): 69-74.
142. van Berge Henegouwen MI, Gulik TM, De Wit LT, et al. Delayed gastric emptying after standard pancreaticoduodenectomy versus pylorus-preserving

pancreaticoduodenectomy: an analysis of 200 consecutive patients. *J Am Coll Surg*, 1997; 185 (4): 373-379.

143. Kozuschek W, Reith HB, Waleczek H, Haarman W, Edelman M: A comparison of long term results of the standard Whipple procedure and the pylorus preserving pancreaticoduodenectomy. *J Am Coll Surg*, 1994; 178: 443-458.

144. Grace PA, Pitt HA, Longmire WP: Pancreaticoduodenectomy with pylor preservation for adenocarcinoma of the head of the pancreas. *Br J Surg*, 1986; 73: 647-650.

145. Liu M, Wang Q, Liu F, Cheng X, Wu X, et al. UDP-Glucuronosyltransferase 1A Compromises Intracellular Accumulation and Anti-Cancer Effect of Tanshinone IIA in Human Colon Cancer Cells. *Plos One*, 2013; 8(11): e79172. doi:10.1371/journal.pone.0079172.

146. Tang Y, LeMaster DM, Nauwelaers G, Gu D, Langouet S, et al. UDPglucuronosyltransferase- mediated metabolic activation of the tobacco carcinogen 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole. *J Biol Chem*, 2012; 287: 14960–14972.

147. Desai AA, Innocenti F, Ratain MJ UGT pharmacogenomics: implications for cancer risk and cancer therapeutics. *Pharmacogenetics*, 2003; 13: 517–523.

148. Cummings J Glucuronidation as a Mechanism of Intrinsic Drug Resistance in Human Colon Cancer: Reversal of Resistance by Food Additives. *Cancer Res*, 2003; 63: 8443–8450.

149. Lu Q, Zhang P, Zhang X, Chen J Experimental study of the anti-cancer mechanism of tanshinone IIA against human breast cancer. *Int J Mol Med*, 2009; 24: 773–780.

150. Hao H, Wang G, Cui N, Li J, Xie L, et al. Identification of a novel intestinal first pass metabolic pathway: NQO1 mediated quinone reduction and subsequent glucuronidation. *Curr Drug Metab*, 2007; 8: 137–149.

151. Maitland ML, Grimsley C, Kuttub-Boulos H, Witonsky D, Kasza KE, et al. Comparative genomics analysis of human sequence variation in the UGT1A gene cluster. *Pharmacogenomics J*, 2006; 6: 52–62.
152. Sai K, Seaki M, Saito Y, Katori N, Jinno H, et al. UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther*, 2004; 75: 501–515.
153. Caillier B, Lepine J, Tojcic J, Menard V, Perusse L, et al. A pharmacogenomics study of the human estrogen glucuronosyltransferase UGT1A3. *Pharmacogenet Genomics*, 2007; 17: 481–495.
154. Ehmer U, Vogel A, Schutte JK, Krone B, Manns MP, et al. Variation of hepatic glucuronidation: Novel functional polymorphisms of the UDPglucuronosyltransferase UGT1A4. *Hepatology*, 2004; 39: 970–977.
155. Lampe JW, Bigler J, Horner NK, Potter JD UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1*28 and UGT1A6*2) polymorphisms in Caucasians and Asians: relationships to serum bilirubin concentrations. *Pharmacogenetics*, 1999; 9: 341–349.
156. Guillemette C, Ritter JK, Auyeung DJ, Kessler FK, Housman DE Structural heterogeneity at the UDP-glucuronosyltransferase 1 locus: functional consequences of three novel missense mutations in the human UGT1A7 gene. *Pharmacogenetics*, 2000; 10: 629–644.
157. Mojjarrabi B, Mackenzie PI Characterization of two UDP glucuronosyltransferases that are predominantly expressed in human colon. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998; 247: 704–709.
158. Tang KS, Chiu HF, Chen HH, Eng HL, Tsai CJ, et al. Link between colorectal cancer and polymorphisms in the uridine-diphosphoglucuronosyltransferase 1A7 and 1A1 genes. *World J Gastroenterol*, 2005; 11: 3250–3254.

159. Iwai M, Maruo Y, Ito M, Yamamoto K, Sato H, et al. Six novel UDPglucuronosyltransferase (UGT1A3) polymorphisms with varying activity. *J Hum Genet*, 2004; 49: 123–128.
160. Tseng CS, Tang KS, Lo HW, Ker CG, Teng HC, et al. UDPglucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma risk and onset age. *Am J Gastroenterol*, 2005; 100: 1758–1763.
161. Stucker I, Lorient MA, N’kotchou G, Cenee S, Bodin L, et al. UDP glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers? *BMC Cancer*, 2007; 7: 214.
162. Wang Y, Kato N, Hoshida Y, Otsuka M, Taniguchi H, et al. UDPglucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *Clin Cancer Res*, 2004; 10: 2441–2446.
163. Kong SY, Ki CS, Yoo BC, Kim JW. UGT1A7 haplotype is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Cancer Sci*, 2008; 99: 340–344.
164. Wang M, Sun D-F, Wang S, Qing Y, Chen S, et al. Polymorphic Expression of UDP-Glucuronosyltransferase UGT1A Gene in Human Colorectal Cancer. *PLoS ONE*, 2013; 8(2): e57045. doi:10.1371.
165. Min Wang, Yanqing Li, Defeng Sun, Zhimin Wang, Xiaoqun Xu, et al. Polymorphic expression of UDP-glucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human colorectal epithelium. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2005; 21(7): 1315–1320.
166. Wei Tang, Yi-Ping Fu, Jonine D. Figueroa, Núria Malats, Montserrat Garcia-Closas; Mapping of the UGT1A locus identifies an uncommon coding variant that affects mRNA expression and protects from bladder cancer; *Human Molecular Genetics*, 2012, Vol. 21, No. 8 doi: 10.1093/hmg/ddr619.

167. Auerbach O, Forman JB, Gere JB, Kassouny DY, Muehsam GE, et al. Changes in the bronchial epithelium in relation to smoking and cancer of the lung; a report of progress. *N Engl J Med*, 1957; 256: 97–104.

168. Hoffmann D, Adams JD, Lisk D, Fisenne I, Brunnemann KD Toxic and carcinogenic agents in dry and moist snuff. *J Natl Cancer Inst*, 1987; 79: 1281–1286.

169. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science*, 1996; 274: 430- 432.

170. Kua L-F, Ross S, Lee S-C, Mimura K, Kono K, et al. UGT1A6 Polymorphisms Modulated Lung Cancer Risk in a Chinese Population. *Plos one*, 2012; 7(8): e42873. doi:10.1371/journal.pone. 0042873.

171. Richie JP Jr, Carmella SG, Muscat JE, Scott DG, Akerkar SA, et al. Differences in the urinary metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4- (methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in black and white smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6: 783–790.

172. Araki J, Kobayashi Y, Iwasa M, Urawa N, Gabazza EC, et al. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 1A7 gene: a possible new risk factor for lung cancer. *Eur J Cancer*, 2005; 41: 2360–2365.

173. Zhang W, Liu W, Innocenti F, Ratain MJ Searching for tissue-specific expression pattern-linked nucleotides of UGT1A isoforms. *PLoS One*, 2007; 2: e396.

174. I Stücker, MA Lorient, G N'Koutchou, S Cénée, L Bodin, CMulot, M Gelu-Simeon, L Pelletier, JP Bronowicki, F Degos, P Beaune, P Laurent-Puig, D Hémon, JC Trinchet and G Pelletier; UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers?; *BMC Cancer*, 2007; 7:214

175. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Whitcomb DC, Lerch MM, Di-Magno EP. Cigarette smoking as a risk factor for pancreatic cancer in patients with hereditary pancreatitis. *JAMA*, 2001; 286: 169–170.
176. DiMagno EP, Reber HA, Tempero MA. AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*, 1999; 117:1464–1484.
177. Braganza JM. Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis. 1. Reappraisal of the evidence on aetiology. *Digestion*, 2001; 63: 69–91.
178. Strassburg CP, Barut A, Obermayer-Straub P, Li Q, Nguyen N, Tukey RH, Manns MP. Identification of cyclosporine A and tacrolimus glucuronidation in human liver and the extrahepatic gastrointestinal tract by a differentially expressed UDP-glucuronosyltransferase: UGT2B7. *J Hepatol*, 2001; 34: 865–872.
179. Vogel A, Kneip S, Barut S, Ehmer U, Tukey RH, Manns MP, Strassburg CP. Genetic link of hepatocellular carcinoma with polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 gene. *Gastroenterology*, 2001; 121: 1136–1144.
180. Tukey RH, Strassburg CP. Genetic multiplicity of the human UDPglucuronosyltransferases and regulation in the gastrointestinal tract. *Mol Pharmacol*, 2001; 59: 405–414.
181. Johann Ockenga, Arndt Vogel,* Niels Teich, Volker Keim, Micheal P. Manns, and Christian P. Strassburg; UDP Glucuronosyltransferase (UGT1A7) Gene Polymorphisms Increase the Risk of Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*, 2003; 124: 1802–1808.
182. Ada Piepoli, Annamaria Gentile, Maria Rosa Valvano, Daniela Barana, Cristina Oliani, Rosa Cotugno, Michele Quitadamo, Angelo Andriulli, Francesco Perri; Lack of association between UGT1A7, UGT1A9 , ARP, SPINK1 and CFTR gene polymorphisms and pancreatic cancer in Italian patients. *World J Gastroenterol* 2006; 12(39): 6343-6348.