

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DÖRT FARKLI KANSERE AİT TRANSKRİPTOM VERİSİNİN  
*IN SILICO* KARŞILAŞTIRILMASI VE PANKREAS KANSERİNE  
ÖZGÜ BİYOBELİRTEÇ ADAYLARININ BELİRLENMESİ**

**Dr. Sıdıka ÖZTOP**

**Biyoinformatik Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA**

**2021**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DÖRT FARKLI KANSERE AİT TRANSKRİPTOM VERİSİNİN  
*IN SILICO* KARŞILAŞTIRILMASI VE PANKREAS KANSERİNE  
ÖZGÜ BİYOBELİRTEÇ ADAYLARININ BELİRLENMESİ**

**Dr. Sıdıka ÖZTOP**

**Biyoinformatik Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Ceren SUCULARLI**

**ANKARA  
2021**

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DÖRT FARKLI KANSERE AIT TRANSKRİPTOM VERİSİNİN *IN SILICO***  
**KARŞILAŞTIRILMASI VE PANKREAS KANSERİNE ÖZGÜ**  
**BIYOBELİRTEÇ ADAYLARININ BELİRLENMESİ**

**Öğrenci: Dr. Sıdika Öztop**

**Danışman: Doç. Dr. Ceren Sucularlı**

Bu tez çalışması 29.01.2021 tarihinde jürimiz tarafından Biyoinformatik Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Doç. Dr. Özgür KÜTÜK İmza  
(Başkent Üniversitesi)

**Tez Danışmanı:** Doç. Dr. Ceren SUCULARLI İmza  
(Hacettepe Üniversitesi)

**Üye:** Prof. Dr. Erdem KARABULUT İmza  
(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

23 Subat 2021

Prof. Dr. Diclehan ORHAN

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- ✳ Enstitü yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

Dr. Sıdıka ÖZTOP

<sup>1</sup>“*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkânı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ay aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan iş birliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Ceren SUCULARLI danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Sıdıka ÖZTOP

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince; bilgi ve tecrübesini bana aktararak biyoinformatik alanında kendimi geliştirmemi sağlayan, merak ettiklerimin peşinden gidebileceğim özgür çalışma ortamını oluşturan, her konuda rahatça konuşup fikir alışverişi yapabildiğim, ihtiyaç duyduğum her an desteğini yanımda bulduğum, daima bana olan güveni ve bilimsel merakımı destekleyici yaklaşımı ile heyecanıma ortak olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ceren SUCULARLI'ya,

Eğitimim süresince kapısını çekinmeden çalabildiğim, yoğunluğuna rağmen her zaman vakit ayırıp sorularımı detaylıca cevaplayan, ders dönemimden savunmaya kadar tüm süreç boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tez jürimde yer alarak yorumlarını paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Erdem KARABULUT'a,

Tezimi hazırlarken doktora sonrası araştırmacı olarak birlikte çalışma şansına sahip olduğum, her koşulda olumlu ve yapıcı yaklaşımı ile ekip ruhunu anlamlı kılan, bana olan güveni ve desteğini her zaman hissettiren, tez jüri üyeliğimi kabul ederek yorumlarını paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Özgür KÜTÜK'e,

Tezimi inceleyerek yorumlarını paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Özlen KONU KARAKAYALI'ya

Bu süreçte engin bilgilerini aktararak biyoinformatik alanında gelişmeye katkı sağlayan Prof. Dr. Nurten AKARSU, Prof. Dr. Hayat YURTER, Prof. Dr. Ergun KARAAĞAOĞLU ve Prof. Dr. Melih BABAOĞLU başta olmak üzere Biyoinformatik Anabilim Dalının tüm değerli öğretim üyelerine,

Süreç boyunca idari işleri sorunsuz bir şekilde yürütebilmem için yardımlarını eksik etmeyen Anabilim Dalı sekreterimiz sevgili Menekşe TARLA'ya,

Hayallerimin peşinden koşarken karşılaştığım tüm zorluklarda maddi ve manevi her anlamda sevgisi ve desteği ile yanımda olan annem Aynur ÖZTOP'a ve aileme

en derin şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Sahip olduğum tüm imkanlar için Türkiye Cumhuriyeti'nin yüce kurucusu Mustafa Kemal ATATÜRK'e ve tüm şehitlerimize minnettarım. Sonsuz saygı ve sevgi ile...

## ÖZET

**ÖZTOP S., Dört Farklı Kansere Ait Transkriptom Verisinin *In Silico* Karşılaştırılması ve Pankreas Kanserine Özgü Biyobelirteç Adaylarının Belirlenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoinformatik Programı Yüksek Lisans Tezi, ANKARA, 2021.** Pankreas kanseri en yaygın görülen kanserler arasında dünyada on birinci sırada yer almaktadır. Kanser ilişkili ölümlerde ilk üç sırada yer alan akciğer, kolon ve mide kanserlerinin beş yıllık sağkalımı sırasıyla %19, %65 ve %20 iken yedinci sırada yer alan pankreas kanserinde bu oranın %9 olması pankreatik tümörleri en ölümcül neoplazmlardan birisi yapmaktadır. Literatürde bildirildiği üzere pankreas kanserinde rol oynayan temel mutasyonlar ve bozulan sinyal yolları tanımlanmıştır. Ancak pankreas kanserinin diğer epitel kanserlerden daha agresif ve metastaz eğilimli olmasında rol oynayan pankreas spesifik moleküler hedefler hakkında yeterli veriye rastlanmamıştır. Ayrıca pankreas kanserinde yeni tedavi hedeflerine ve prognostik/prediktif biyobelirteç tanımlanmasına da ihtiyaç duyulmaktadır. Önerilen tez çalışmasında bu ihtiyaçlar göz önüne alınarak, pankreas kanserini çalışmada incelenen diğer epitelyal kanserlerden daha ölümcül statüye taşıyan gen ifade değişimlerinin tespit edilmesi ve bu genlerin rol aldığı biyolojik süreçlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız kapsamında pankreas kanseri, akciğer kanseri, mide kanseri ve kolon kanseri transkriptom verileri analiz edilerek *in silico* karşılaştırılmıştır. Pankreas kanserine özgü ifadesi anlamlı değişen genlerin rol aldığı biyolojik süreçler ve sağkalım üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda pankreas kanserinde metabolizma, immünite, hücre ölümü süreçleri ve metastatik karakterde rol oynayan on dört gen biyobelirteç adayı olarak saptanmıştır. Biyobelirteç adaylarının literatür taramasının bulgularımızı destekler nitelikte olması tez çalışmamızın tasarımında, analiz yaklaşımlarında ve kullanılan araçların seçiminde uyguladığımız metodolojik yaklaşımın başarılı olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** pankreas kanseri, biyobelirteç, metastaz, *in silico* analiz

## ABSTRACT

**ÖZTOP S., In Silico Comparison Of Transcriptome Data From Four Different Cancers And Identification Of Biomarker Candidates For Pancreatic Cancer, Hacettepe University, Graduate School Health Sciences, Bioinformatics Program Master Degree Thesis, ANKARA, 2021.** Pancreatic cancer is the 11th most common cancer worldwide. Five-year survival of lung, colon and stomach cancers, which are the top three in cancer related deaths, are 19%, 65% and 20%, respectively. Although pancreatic cancer ranks seventh in cancer related deaths, it is one of the deadliest neoplasms because of the 9% five-year survival rate. Basic mutations that play roles in pancreatic cancer and disrupt signaling pathways have been described in the literature. However, pancreas cancer specific molecular targets, which contribute to aggressive and metastatic predisposition of pancreatic cancer than other epithelial cancers, have not been described in detail. In addition, new treatment targets and prognostic/predictive biomarkers for pancreatic cancer are essential. Considering these, in this proposed thesis study, it is aimed to determine the gene expressions that drive pancreatic cancer more lethal status than other epithelial tumors and to investigate the biological processes involving these genes. In our study, transcriptome data from pancreatic cancer, lung cancer, gastric cancer and colon cancer were analyzed and compared in silico. The roles of differentially expressed genes in pancreatic cancer on biological processes and survival were investigated. As a result of our study, fourteen genes that play multiple roles in metabolism, immunity, cell death processes and metastatic character in pancreatic cancer were determined as candidates for biomarkers. The fact that the literature review of the biomarker candidates supports our findings shows that the methodological approach we applied in the design of our thesis, analysis approaches and selection of the tools used was successful.

**Key words:** pancreatic cancer, biomarker, metastasis, in silico analysis.

**İÇİNDEKİLER**

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	2
2.1. Pankreas Kanseri	2
2.1.1. İstatistikler ve Risk Faktörleri	3
2.1.2. Tanı ve Tedavi Yaklaşımları	4
2.2. Biyobelirteç	5
2.3. Adenokarsinomlar	5
2.4. İlgili Genler	6
2.5. Kanser Veri Setleri ile Gen İfade Analizleri	9
2.5.1. TCGA Veri Seti	9
2.5.2. GTEx Veri Seti	10
2.5.3. Gen İfadesi Profili İnteraktif Analizi (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)	11
2.5.4. İfadesi Anlamlı Değişen Genlerin Saptanmasındaki Ölçütler	11
2.5.5. Farklı Gen İfadesi Analizi	13

2.5.6.	Zenginleştirme ve Yolak Analizi	13
2.5.7.	Sağkalım Analizi	15
<b>3.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>16</b>
3.1.	Gereç	16
3.2.	Yöntem	17
3.2.1.	TCGA ve GTEx Verilerinden DEG'lerin Elde Edilmesi	17
3.2.2.	PAAD Spesifik DEG'lerin Belirlenmesi	18
3.2.3.	Zenginleştirme ve Yolak Analizi	18
3.2.4.	Biyolojik Süreç Terimlerinin Kümelenildiği Atasal Biyolojik Süreçlerin Belirlenmesi	18
3.2.5.	Kümelenmiş Biyolojik Süreçlerde Merkezi Rol Üstlenmiş Genlerin Tespit Edilmesi	19
3.2.6.	Sağkalım Analizi	20
3.2.7.	Literatür Taraması	20
<b>4.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>21</b>
4.1.	Farklı Gen İfadesi Analizi Sonuçları	21
4.2.	Venn Diyagramı Sonuçları	24
4.3.	Zenginleştirme ve Yolak Analizi Sonuçları	25
4.4.	Biyolojik Süreçlerin Kümelenme Sonuçları	26
4.5.	Protein-Protein Etkileşimindeki Merkezi Rol Üstlenmiş Genlerin Analiz Sonuçları	27
4.6.	Sağkalım Analizi Sonuçları	29
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>31</b>
<b>6.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>38</b>
6.1.	Sonuç	38
6.2.	Öneriler	38
<b>7.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>39</b>

<b>8. EKLER</b>	54
<b>EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzini</b>	54
<b>EK-2: QuickGO ile Analiz Edilen GO-BP Terimleri</b>	55
<b>EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu</b>	57
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	59



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Aa</b>	Aminoasit
<b>ACC</b>	Asiner Hücreli Karsinoma
<b>ADP</b>	Adenozin Difosfat
<b>APC</b>	Adenomatous Polyposis Coli
<b>ARF6</b>	ADP Ribosylation Factor 6
<b>BCL2</b>	B-cell Lymphoma 2
<b>BCL2L1</b>	B-cell Lymphoma 2 Like 1
<b>BMP</b>	Bone Morphogenetic Protein
<b>BMP4</b>	Bone Morphogenetic Protein-4
<b>BP</b>	Biological Process
<b>BRAF</b>	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase
<b>BRCA2</b>	BRCA2 DNA Repair Associated
<b>CA19-9</b>	Karbonhidrat Antijeni 19-9
<b>CDH1</b>	Cadherin 1
<b>CDKN2A</b>	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A
<b>CI</b>	Confidence Interval
<b>C-MYC</b>	MYC Proto-Oncogene, bHLH Transcription Factor
<b>CNA</b>	Copy Number Alteration
<b>COAD</b>	Colon Adenocarcinoma
<b>DAVID</b>	The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>ECM</b>	Ekstraselüler Matriks
<b>EGF</b>	Epidermal Growth Factor
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor Receptor
<b>ERK</b>	Extracellular-Signal-Regulated Kinase
<b>FARP1</b>	FERM, ARH/RhoGEF and Pleckstrin Domain Protein 1
<b>FC</b>	Fold Change
<b>FDR</b>	False Discovery Rate

<b>FISH</b>	Fluorescence In Situ Hybridization
<b>FYN</b>	FYN proto-oncogene, SRC family tyrosine kinase
<b>GEPIA</b>	Gene Expression Profiling Interactive Analysis
<b>GO</b>	Gene Ontology
<b>GSEA</b>	Gene Set Enrichment Analysis
<b>GSK3B</b>	Glycogen Synthase Kinase 3 Beta
<b>GTE<sub>x</sub></b>	The Genotype Tissue Expression
<b>GTP<sub>az</sub></b>	GTP - Binding Proteins
<b>HER-2</b>	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
<b>IPMN</b>	İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazi
<b>ITGB1</b>	Integrin Subunit Beta 1
<b>JNK</b>	The c-Jun N-Terminal Kinase
<b>kDa</b>	Kilo Dalton
<b>KRAS</b>	KRAS proto-oncogene
<b>LOH</b>	Loss of Heterozygosity
<b>LUAD</b>	Lung Adenocarcinoma
<b>MAPK</b>	Mitogen-Activated Protein Kinase
<b>MCN</b>	Müsinöz Sistik Neoplazi
<b>MEK</b>	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase
<b>mTOR</b>	The Mammalian Target of Rapamycin
<b>NCK1</b>	NCK Adaptor Protein 1
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Nuclear Factor Kappa Light Chain Enhancer of Activated B Cells
<b>p53</b>	Tumor Protein p53
<b>PAAD</b>	Pancreatic Adenocarcinoma
<b>PanIN</b>	Pankreatik İntraepitelyal Neoplasi
<b>PI3K</b>	Phosphatidylinositol 3-Kinase
<b>PIK3CA</b>	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
<b>PLXNA4</b>	Plexin A4
<b>pNET</b>	Pankreatik Nöroendokrin Tümör

<b>PPI</b>	Protein-Protein Interaction
<b>PPP2R1B</b>	Protein Phosphatase 2 Scaffold Subunit Abeta
<b>PSMA5</b>	Proteasome 20S Subunit Alpha 5
<b>PSMD14</b>	Proteasome 26S Subunit, Non-ATPase 14
<b>PXN</b>	Paxillin
<b>RAC1</b>	Rac Family Small GTPase 1
<b>RAF</b>	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
<b>RAL</b>	RAS Like
<b>RALA</b>	RAS Like Proto-Oncogene A
<b>RHO</b>	Ras Homologous
<b>RHOF</b>	Ras Homolog Family Member F, Filopodia Associated
<b>RNA</b>	Ribonükleik Asit
<b>RPPA</b>	Reverse Phase Protein Array
<b>RTK</b>	Receptor Tyrosine Kinase
<b>SCC</b>	Skuamoz Hücreli Karsinoma
<b>Sema5A</b>	Semaphorin 5A
<b>SH2</b>	Src-Homology-2
<b>SH3</b>	Src-Homology-3
<b>SMAD4</b>	SMAD Family Member 4
<b>SNP</b>	Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>SPT</b>	Solid Psödopapiller Tümör
<b>STAD</b>	Stomach Adenocarcinoma
<b>TCGA</b>	Kanser Genom Atlas Projesi
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming Growth Factor Beta
<b>WebGestalt</b>	Web-Based Gene Set Analysis Toolkit
<b>YWHAZ</b>	Tyrosine 3-Monooxygenase/Tryptophan 5-Monooxygenase Activation Protein Zeta

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>4.1.</b>	PAAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.	21
<b>4.2.</b>	STAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.	22
<b>4.3.</b>	LUAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.	23
<b>4.4.</b>	COAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.	24
<b>4.5.</b>	Dört kanser tipinde ifadesi artan genlerin venn diyagramı dağılımı.	25
<b>4.6.</b>	Zenginleştirme ve yolak analizinden temsili ekran görüntüsü.	26
<b>4.7.</b>	GO_BP terimlerinin excel dosyasından temsili ekran görüntüsü.	26
<b>4.8.</b>	Terimlerin kümelendiği hücresel süreçlerin grafiği.	27
<b>4.9.</b>	OmicsNet PPI analizi ekran görüntüsü, A-Hücre ölümü; B-Metabolizma; C-Metastaz; D-İmmünite.	28
<b>4.10.</b>	Merkezi genlerin sağkalım eğrileri.	30

**TABLolar****Tablo****Sayfa****Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan kanser ve normal örneklem setlerinin büyüklüğü. 16**Tablo 4.1.** Genel sağkalımda anlamlı olan merkezi genler. .... 29

## 1. GİRİŞ

Pankreas kanseri dünyada en yaygın görülen kanserler arasında on birinci, kansere bağlı ölümlerde ise yedinci sırada yer almaktadır (1). Pankreas kanseri tanısı koyulan vakalarda beş yıllık sağ kalım oranı %9 civarında iken metastatik durumda bu oran daha da düşüktür (2). Erken evrelerde asemptomatik olan pankreas kanserinde tanı çoğunlukla ileri evrede koyulabildiği için tedavi seçenekleri oldukça kısıtlı ve büyük oranda hastalığın evresine bağlıdır (3, 4).

Agresif ve metastatik karakteristiğinden dolayı en ölümcül neoplazmlardan biri olan pankreas kanseri için spesifik biyobelirteç niteliği taşıyan gen(ler) ve/veya hedeflenebilecek yolaklar hakkında hala yeterli bilgi mevcut değildir (5, 6). Ayrıca pankreas kanserinde tedaviyi yönlendirebilmek için kullanımı kabul görmüş bir biyobelirtecin eksikliği ve çok az sayıda hedeflenebilir mutasyonun olması kişiselleştirilmiş tıbbın bu kanser tipinde uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır (3). Bu nedenle pankreas kanserinde yeni tedavi hedeflerine ve prognostik/prediktif biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Tez çalışmamızda mevcut ihtiyaçlar göz önüne alınarak pankreas kanserini diğer epitelyal tümörlerden daha ölümcül statüye taşıyan genlerin tespit edilmesi ve bu genlerin rol aldığı biyolojik süreçlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçlar doğrultusunda çalışmamıza; pankreas kanseriyle benzer şekilde agresif davranış gösteren, metastatik evrede sağkalımın düşük olduğu ve kanser ilişkili ölümlerde ilk sıralarda yer alan epitelyal kanserlerden akciğer kanseri, mide kanseri ve kolon kanseri dahil edilmiştir. Dört kansere ait transkriptom veri setlerinin *in silico* karşılaştırılması, pankreas kanserine spesifik ifadesi değişen genlerin tespit edilmesi, zenginleştirme ve yolak analizi, atasal biyolojik süreçlerin belirlenmesi, protein-protein etkileşimlerinin incelenmesi ve sağkalım analizi gibi çeşitli biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak on dört biyobelirteç aday gen belirlenmiştir. Biyobelirteç adaylarının pankreas kanserindeki rolü literatür taraması ile araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pankreas Kanseri

Pankreas sindirim ve hormon metabolizmasından sorumlu olan multifonksiyonel bir organdır. Sindirim ile ilişkili gastrik enzimleri üreten duktus hücreleri ve asiner hücrelerin bulunduğu kısım ekzokrin pankreas, hormon üretiminin gerçekleştiği alfa hücreleri ve beta hücrelerini içeren kısım ise endokrin pankreas olarak adlandırılmaktadır (7). Pankreasta yer alan çeşitli hücrelerin malignant neoplastik gelişimleri pankreas kanserini oluşturmaktadır.

Pankreas kanserinin %5-10 oranında kalıtsal olduğu çoğunlukla sporadik olarak geliştiği bildirilmiştir (8, 9). Histolojik açıdan incelendiğinde pankreatik tümörlerin %90'dan fazlası ekzokrin pankreasta görülen adenokarsinomlardır (5, 10). Ekzokrin pankreasta görülen tümörlerin sadece %2'si benign karakterlidir (3). Nadir görülen pankreatik nöroendokrin tümör (pNET), asiner hücreli karsinoma (ACC), skuamoz hücreli karsinoma (SCC), invaziv solid psödopapiller tümör (SPT) ekzokrin pankreasta gelişen diğer histolojik tümör tipleridir (11). Endokrin pankreasta gelişen tümörler ise ekzokrin adenokarsinomlardan sonra pankreasta görülen en yaygın kanser tipidir (3).

Çeşitli çalışmalardan elde edilen veriler pankreas adenokarsinomlarının gelişim sürecinde öncül lezyonların yer aldığını göstermektedir (12-16). Hruban ve arkadaşları bu verilere dayanarak “pankreatik adenokarsinom gelişim modelini” önermiştir (17). Bu modelde epitelyumun, önce pankreas tümörü öncül lezyonu olan pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN) daha sonra adenokarsinom geliştirdiği ve bu süreçte PanIN1 evresinde KRAS ve HER-2 onkogen aktivitelerinde artışın, PanIN2 evresinde CDKN2A geninde inaktivasyonun, PanIN3 evresinde ise p53, SMAD4, BRCA2 genlerindeki inaktivasyonun yönlendirici olabileceği öne sürülmüştür (15, 17, 18). PanIN pankreasta en sık görülen öncül lezyon çeşididir, ikinci olarak invaziv intraduktal papiller müsinöz neoplazi (IPMN) ve invaziv müsinöz sistik neoplazi (MCN) görülmektedir (3).

Kanser Genom Atlas Projesi (TCGA) pankreatik duktal adenokarsinoma verilerine göre tümörlerin %93'ünde çoklu KRAS mutasyonları görülürken yabancı

tip KRAS taşıyan olgularda ise RAS/MAPK yolağını aktive edici somatik genetik değişimlerin olduğu bildirilmiştir (19). TCGA verilerine göre pankreatik adenokarsinomda en sık görülen ikinci genetik değişim p53 geninde ortaya çıkan inaktive edici mutasyonlar olup tümörlerin yaklaşık %72'sinde görülmektedir (19). Pankreatik adenokarsinomda aktivitesi değişen diğer genlerden CDKN2A ve SMAD4 için literatürde farklı oranlar bildirilmektedir. DNA metilasyonu, delesyon ve mutasyonlar gibi çeşitli şekillerde aktivite kaybı yaşayan CDKN2A geni için kayıp oranları farklı çalışmalarda %30 (19), %50 (20) ve %91 (21) olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde SMAD4 geni kayıpları için de %32 (19) ve %49 (21) gibi değişen oranlar bildirilmiştir. Sonic Hedgehog, Notch, PI3K, RAS/RAF/MEK/ERK, p53, TGF- $\beta$ , NF- $\kappa$ B, EGF, C-MYC, ve Wnt yolakları ise pankreatik adenokarsinomda düzensiz aktivite gösteren sinyal yolaklarıdır (22-24)

### **2.1.1. İstatistikler ve Risk Faktörleri**

Pankreas kanseri 2018 GLOBOCAN verilerine göre dünyada en yaygın görülen kanserler arasında on birinci, kansere bağlı ölümlerde ise yedinci sırada yer almaktadır (1). İnsidans ve mortalite oranları ülkeler arasında farklılık göstermekle beraber en yüksek oranlar Batı Avrupa'da en düşük oranlar ise Güney-Orta Asya'da görülmektedir (1). Ülkemizde Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü tarafından yayınlanan 2015 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri raporuna göre pankreas kanseri tüm yaş gruplarındaki erkekler arasında %2,3 oranı ile en sık görülen onuncu kanserdir (25).

Risk faktörleri açısından incelendiğinde diğer kanserlerde olduğu gibi pankreas kanseri de demografik, çevresel ve genetik birçok etmenden etkilenmektedir (2, 26). Sigara (27-29), alkol (30, 31), obezite (32, 33), beslenme tarzı (34-38) ve çalışma koşulları (39, 40) pankreas kanseri gelişiminde etkili olan çevresel faktörler iken erkeklerde daha yaygın olması sebebiyle cinsiyet, ileri yaş, ülkelerin gelişmişlik seviyesi, etnik köken ise pankreas kanseri riskini arttıran demografik faktörlerdir (1, 41, 42). Bunların yanı sıra aile öyküsü (43), kalıtsal/kronik pankreatit (44), diyabet (45), enfeksiyon (46, 47), genetik mutasyonlar (48, 49) ve kan grupları (50, 51) pankreas kanseri gelişiminde rol oynayan önemli genetik faktörlerdir.

### 2.1.2. Tanı ve Tedavi Yaklaşımları

Pankreas kanseri %60-70 oranında pankreas başında, %20-25 oranında pankreas gövde ve kuyruk kısmında ortaya çıkmakta geriye kalan %10-20'de ise diffüz tutulum görülmektedir (3). Pankreas kanseri erken evrede asemptomatik olduğu için hastaların çoğu ileri veya metastatik evrede tanı almaktadır (3, 4). Pankreas başında bulunanlara göre gövde ve kuyruk lokasyonlu tümörler daha ileri evrede tanı almaktadır (3). Pankreas kanseri tanısını lokal ileri evrede alan hastalarda ortalama sağ kalım 9-15 ay iken metastatik evrede alan hastalarda 3-6 ay arasındadır (48). Pankreas kanseri tanısı koyulan vakalarda beş yıllık sağ kalım oranı %9 civarında iken metastatik durumda bu oran daha da düşüktür (2).

Amerikan Hepatopankreatobiliyer Derneği raporuna göre duktal adenokarinom metastaz yok ise rezektabl, sınırda rezektabl veya lokal olarak ileri evrede olduğu için rezekte edilemeyen olmak üzere üç şekilde sınıflandırılmaktadır (52). Tanı alındığı anda hastaların sadece %15-20'si rezektabl olarak kabul edilebilmekte, %30-40'ı rezekte edilemeyen grupta yer almakta ve yaklaşık %50-60 kadarı ise metastatik evrede bulunmaktadır (3, 8, 48, 53). Bu sebeple pankreas kanserinde tedavi seçenekleri oldukça kısıtlı ve büyük oranda hastalığın evresine bağlıdır.

Ameliyat edilebilen hastalara sağkalım süresini arttırmak için kemoterapi (mFOLFORINOX, gemcitabine ve capecitabine kombinasyonu, sadece gemcitabine) ve radyoterapi uygulanırken sınırda rezektabl olan hastalarda neoadjuvan kemoterapi (gemcitabine, FOLFIRINOX) ve kemoradyasyon tedavisini takiben ameliyat uygulanmaktadır (3, 4). Rezekte edilemeyen lokal ilerlemiş hastalığa sahip olgularda belirli bir süre kemoterapi (gemcitabine) uygulanırken metastatik evredeki hastalıkta hastanın klinik durumuna göre palyatif ve destekleyici bakım ve/veya uygun kemoterapi (gemcitabine, gemcitabine-nab-paclitaxel kombinasyonu, FOLFIRINOX) uygulanmaktadır (3, 4).

Ameliyat sonrasında gelişen komplikasyonlar ve zayıf prognoz bu hastalıkta sağkalım süresini iyileştirmekte yetersiz kalmaktadır (4, 48). Bunun yanı sıra ameliyat olabilen hastaların %69-75'inde 2 yıl içerisinde %80-90'ında ise 5 yıl içerisinde nüks görülmektedir (4).

## 2.2. Biyobelirteç

Ölçülebilen spesifik moleküler değişimleri ifade eden biyobelirteçler kanserin tanı ve tedavisinde önemli bir rol üstlenmektedir (54). Toplumsal kanser taramalarında kansere yatkınlık gösteren alt grupların belirlenebilmesi spesifik ve yüksek duyarlılık oranlarına sahip tanımlanmış biyobelirteçler ile sağlanmaktadır (55). Pankreas kanserinde biyobelirteç olarak kullanılan karbonhidrat antijeni 19-9 (carbohydrate antigen 19-9, CA19-9) %79-81 duyarlılık ve %82-90 spesifiklik oranlarına rağmen asemptomatik/erken evrede düşük prediktif değerlere sahip olduğu ve yalancı negatiflik/pozitiflik gösterebildiği bildirilmiştir (55-57).

Pankreas kanserinde bilgimiz dahilinde tedaviyi yönlendirebilmek için kullanımı kabul gören herhangi bir biyobelirteç yoktur ve az sayıda hedeflenebilir mutasyonun olması kişiselleştirilmiş tıbbın bu kanser tipinde uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır (3). Bu nedenle pankreas kanserinde yeni tedavi hedeflerine ve prognostik/prediktif biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

## 2.3. Adenokarsinomlar

Literatürde bildirilen çalışmalar, pankreas kanserinin diğer epitel kanserlerden daha agresif ve metastaz eğilimli olmasında rol oynayan pankreas spesifik moleküler hedefler hakkında net veriler sunamamaktadır (58). Pankreas kanseriyle benzer şekilde agresif davranış gösteren, metastatik tümörlerde sağkalımın oldukça düşük olduğu ve kanser ilişkili ölümlerde ilk sıralarda yer alan epitelyal kanserlerden akciğer kanseri, mide kanseri ve kolon kanserine ait transkriptom verileri de bu çalışmaya dahil edilmiştir.

Akciğer kanseri dünyada en yaygın görülen ve kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yer alan kanser tipi olup beş yıllık sağkalım %19 olarak bildirilmiştir (1, 59). Tanı çoğunlukla ileri evrede koyulabildiği için hastalık agresif tutum, kötü prognoz ve düşük sağkalım ile karakterizedir (60, 61). Akciğer kanserinde KRAS, EGFR, P53, BRAF en sık mutasyona uğrayan genler, RTK/RAS/RAF, PI3K-mTOR, P53 yolakları da sıklıkla bozulan yolaklar olarak bildirilmiştir (62-65).

Kolon kanseri dünyada en yaygın görülen üçüncü kanser tipi olup kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (1). Beş yıllık sağkalımı %65 olarak bildirilen kolon kanserinde (59) KRAS, APC, P53, BRAF en sık mutasyona uğrayan genler iken Wnt, TGF-B, PI3K ve RTK-RAS yolları da sıklıkla bozulan yollarlardır (66-68).

Mide kanseri dünyada en yaygın görülen beşinci kanser tipi olup kansere bağlı ölümlerde üçüncü sırada yer almaktadır (69). 1990-2017 yılları arasında 195 ülkeyi kapsayan verilere göre beş yıllık sağkalım %20 civarındadır (70). Erken evrede çoğunlukla asemptomatik olan ve ileri evrede tanı koyulabilen mide kanserinde P53, KRAS, CDH1, PIK3CA sıklıkla mutasyona uğrayan genlerden bazıları iken RTK, RAS, PI3K yolları ise bozulan yollarlardandır (71, 72).

#### 2.4. İlgili Genler

RALA (RAS like proto-oncogene A) geni RAS protein ailesinin bir üyesidir. Sekiz ekzondan oluşan ve genomda 7p14.1 lokasyonunda bulunan gen 206 aa uzunluğunda ve 23,5 kDa ağırlığında bir protein sentezlemektedir. PPP2R1B geninin baskılanması veya mutasyona uğramasıyla RALA'nın tümörojenik etki gösterdiği ve PPP2R1B'nin RALA'nın fonksiyonunu düzenleyen bir tümör baskılayıcı olduğu bildirilmiştir (73). RALA'nın ekzokist kompleksinin oluşumunu regüle eden RAL GTPaz'lardan biri olduğu (74), mitokondriyal bölünme ve yavru hücrelere eşit miktarda mitokondri dağılımında mitotik kinazlar ile birlikte görev aldığı (75) ve farelerde glukoz metabolizmasının önemli bir regülatörü olduğu belirtilmiştir (76).

PSMA5 (Proteasome 20S Subunit Alpha 5) geni 20S proteazomun alfa alt birimini oluşturan genlerden biridir. Dokuz ekzondan oluşan ve genomda 1p13.3 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü 241 aa uzunluğunda ve 26,4 kDa ağırlığındadır (77). 20S proteazomun dış halkalarını oluşturan alfa alt birimleri sitozolik proteinlerin proteazomdaki proteolitik bölmeye girişimini sınırlandıran fiziksel bir bariyer görevi görmekte olup ayrıca beta alt birimlerinin iç halkayı oluşturması için de gereklidir (78). Bunun yanı sıra proteazomun sitoplazma ve nükleer kompartımanlar arasındaki yer değişimini alfa alt birimlerinde bulunan

nükleer lokalizasyonu düzenleyebilen sinyal motifi ile gerçekleştirebildiği bildirilmiştir (78).

RHOF (Ras homolog family member F, filopodia associated) geni RAS protein süper ailesinin bir alt üyesi olan RHO ailesinin bir üyesidir. Beş ekzondan oluşan ve genomda 12q24.31 lokasyonunda bulunan gen 211 aa uzunluğunda ve 23,6 kDa ağırlığında bir protein sentezlemektedir (79). HELA hücrelerinde RHOF aşırı ekspresyonun aktine bağlı filopodial yapıların oluşumunu indüklediği (80), epitel hücrelerinde aktin stres lifi oluşumunu tetiklediği (81) ve PLXNA4-FARP1 ve Sema5A kompleksinden aktif RHOA'nın salınmasını sağlayarak nörit retraksiyonunu arttırdığı bildirilmiştir (82).

PSMD14 (Proteasome 26S Subunit, Non-ATPase 14) geni ubiquitin yoluyla hedeflenmiş proteinlerin degrade edildiği 26S proteazom kompleksinin bileşenlerinden biridir. On iki ekzondan oluşan ve genomda 2q24.2 lokasyonunda bulunan gen 310 aa uzunluğunda ve 34,5 kDa ağırlığında bir protein sentezlemektedir (83). PSMD14'ün proteazom kompleksi içinde deubikütinasyondan sorumlu çinko bağımlı bir proteaz olduğu (84) ve çift zincir kırıklarına cevapta rol oynadığı bildirilmiştir (85).

NCK1 (NCK adaptor protein 1) sadece Src-homology-2 (SH2) ve Src-homology -3 (SH3) domainlerini içeren adaptör protein ailesine ait bir gendir. Altı ekzondan oluşan ve genomda 3q22.3 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü 377 aa uzunluğunda ve 42,8 kDa ağırlığındaki NCK1 proteindir (86). NCK1 tirozin kinazlardan aktin hücre iskeletine sinyal iletiminde (87) ve hücre iskeletine DNA hasarı cevabının regülasyonunda etkili bir sinyal yolağında görevlidir (88).

ARF6 (ADP ribosylation factor 6) geni RAS protein süper ailesinin bir alt üyesi olan ARF ailesinin bir üyesidir. İki ekzondan oluşan ve genomda 14q21.3 lokasyonunda bulunan gen 175 aa uzunluğunda ve 20 kDa ağırlığında bir protein sentezlemektedir (89). ARF6 endozomlar ve plazma membranı arasındaki membran trafiğini düzenleyen küçük bir GTPaz olarak işlev görmektedir (90). Dendritik omurga gelişiminin regülasyonu ile ilişkili olup dendritik dallanma ve filopodia uzamasının regülasyonuna da katkıda bulunduğu bildirilmiştir (91).

RAC1 (Rac family small GTPase 1) geni Ras protein ailesinin bir alt üyesi olan RHO ailesinin bir üyesidir. Yedi ekzondan oluşan ve genomda 7p22.1 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü 211 aa uzunluğunda ve 23,4 kDa ağırlığındadır (92). RAC1 proteini fagositoz, mezenkimal benzeri migrasyon, nöronal polarizasyon, aksonal büyüme ve çoklu hücre tiplerinin farklılaşmasını içeren pek çok hücreyel süreçte rol oynayan hücre iskeletinin modülasyonunda etkilidir (93). Ayrıca hücreyel büyüme ve hücre döngüsü regülasyonunda da rol oynamaktadır (94).

ITGB1 (integrin subunit beta 1) geni integrin ailesinin bir üyesi olup beta alt ünitelerden birini kodlamaktadır. On sekiz ekzondan oluşan ve genomda 10p11.22 lokasyonunda bulunan gen 798 aa uzunluğunda ve 88,4 kDa ağırlığında bir protein kodlamaktadır (95, 96). Alfa ve beta alt ünitelerin heterodimeri olarak işlev gören integrinlerde ITGB1'in hücrede kollajen, fibronektin, fibrinojen, laminin, epiligrin, trombospondin ve osteopontin ligandları için reseptör görevi gördüğü, hücre adhezyonunu regüle ettiği, endotelial hücre hareketliliği ve anjiyogenezde rol oynadığı bildirilmiştir (97-99).

BCL2L1 (BCL2 like 1) geni BCL2 gen ailesinin bir üyesidir. Altı ekzondan oluşan ve genomda 20q11.21 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü (BCLXL) 233 aa uzunluğunda ve 26 kDa ağırlığındadır (100). BCL2L1 gen ürünleri BCL2'den bağımsız bir apoptozis regülatörü olarak işlev görmektedir. Bu genin transkript varyantlarından uzun olan BCLXL apoptozis inhibitörü olarak işlev görüp apoptozisi negatif regüle ettiği, kısa olan transkript varyantı BCLXS'in ise apoptozis aktivatörü gibi işlev görerek apoptozisi pozitif regüle ettiği bildirilmiştir (100).

BMP4 (bone morphogenetic protein 4) geni Transforming Growth Beta (TGF- $\beta$ ) ailesinin bir alt üyesi olan BMP ailesinin bir üyesidir. Altı ekzondan oluşan ve genomda 14q22.2 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü 408 aa uzunluğunda ve 46,5 kDa ağırlığındadır (101). BMP4 mezoderm indüksiyonu, dış gelişimi, uzuv oluşumu, kemik indüksiyonu ve kırık onarımında gelişim süresince görev alan hayati önemde bir düzenleyici proteindir (101).

YWHAZ (tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein zeta) geni 14-3-3 protein ailesinin bir üyesidir. On iki ekzondan oluşan ve

genomda 8q22.3 lokasyonunda bulunan gen 245 aa uzunluğunda 27,7 kDa ağırlığındadır (102). Hücrede pek çok sinyal yolağında etkin olan bu gen ailesinden YWHAZ'ın insülin duyarlılığının düzenlenmesi (103) ve meme kanserinde antrasiklin terapisine karşı hücreleri apoptozisten korunması (104) gibi işlevlerde rol oynadığı bildirilmiştir.

FYN (FYN proto-oncogene, SRC family tyrosine kinase) geni reseptör olmayan tirozin kinaz ailesi olan SRC tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir. On dokuz ekzondan oluşan ve genomda 6q21 lokasyonunda bulunan genin en uzun ürünü 537 aa uzunluğunda 60,7 kDa ağırlığındadır (105). FYN'nin T hücrelerinin gelişimi ve aktivasyonunda (106, 107), glioblastomada onkojenik EGFR sinyalinin efektörü gibi davranarak invazyonda ve tümör hücresinin sağkalımında rol oynadığı (108) ayrıca RAS ile uyarılan invaziv hücre fenotipinin kritik bir aracısı olduğu bildirilmiştir (109).

GSK3B (glycogen synthase kinase 3 beta) geni glikojen sentaz kinaz alt ailesine ait bir serin-treonin kinaz kodlamaktadır. On üç ekzondan oluşan ve genomda 3q13.33 lokasyonunda bulunan genin ürünü 420 aa uzunluğunda ve 46,7 kDa ağırlığındadır (110, 111). GSK3B'nin enerji metabolizması, nöronal hücre gelişiminde, vücut düzeni oluşumunda (112) ve hücrenin apoptotik davranışında rol oynadığı bildirilmiştir (113, 114).

PXN (paxillin) geni sinyal transdüksiyonunu sağlayan adaptör bir proteini kodlamaktadır. 21 ekzondan oluşan ve genomda 12q24.23 lokasyonunda bulunan genin transkript varyantları farklı ekspresyon paterni ve biyokimyasal özellikler göstermektedir (115). Kanonikal transkript ürünü 591 aa uzunluğunda ve 64,5 kDa ağırlığında (116) olan PXN geninin fokal adhezyon (117) ve migrasyon (118) süreçlerinde rol oynadığı bildirilmiştir.

## **2.5. Kanser Veri Setleri ile Gen İfade Analizleri**

### **2.5.1. TCGA Veri Seti**

Kanser Genom Atlas projesi, büyük örneklerde birden çok platformun kullanılmasıyla elde edilen geniş ölçekli -omik verinin kanserde yeni yaklaşımlar

oluşturabilmesi amacıyla yürütülmüştür (119). 2006 yılında başlayan farklı disiplinlerden araştırmacıları ve enstitüleri bir araya getiren TCGA projesi kapsamında büyük çaplı bir araştırma ekibi ile altyapısı oluşturulmuş ve tüm araştırmacıların kullanabileceği kaliteli ve istatistiki açıdan sağlam bir veri havuzu kurulmuştur (119).

TCGA projesinde on tane nadir kanseri de içeren otuz üç kanser tipinde on bir bin hastadan alınan yirmi binden fazla primer kanser ve sağlıklı doku örneğinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır (120). TCGA iş akışı; doku örneğinin eldesi, patolojik değerlendirme, DNA/RNA izolasyonu, DNA sekansı, RNA sekansı (miRNAseq, mRNAseq), ekspresyon, kopya sayısı değişikliği (CNA) ve heterozigotluk kaybı (LOH), tek nükleotid polimorfizmi (SNP), metilasyon değerlendirmeleri, ters faz protein dizileme (RPPA), elde edilen verilerin depolanması ve verilerin bütüncü analizleri şeklinde ilerlemiştir. Sonuç olarak her kanser tipi için elde edilen genomik, epigenomik, transkriptomik ve proteomik veriler bir araya getirilerek ilgili kanserin kapsamlı moleküler karakterizasyonu yayınlanmıştır (121, 122). TCGA projesi verilerinin bir kısmı belirli izinler çerçevesinde erişime açık olmak üzere, tamamı “National Cancer Institute Genomic Data Commons Data Portal” (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) adresinde tüm araştırmacıların kullanımına açılmıştır.

### 2.5.2. GTEx Veri Seti

2010 yılında başlatılan Genotip Doku Ekspresyon Projesi (The Genotype-Tissue Expression, GTEx) doku spesifik gen ekspresyonu ve regülasyonu çalışmak için kamuya açık, kapsamlı bir kaynak ve biyo banka oluşturma amacıyla yürütülmüştür (123, 124). GTEx projesi insan dokuları ve bireyler arasında gen ekspresyonu ile genetik varyantlar arasındaki ilişkiyi ve gen ekspresyonunun cinsiyetler arasında nasıl değiştiğini incelemektedir (123, 124). Yaklaşık bin bireyden alınan elli dört sağlıklı doku örneğini inceleyen GTEx projesinde tüm genom sekansı, tüm ekzom sekansı ve RNA sekansı ile farklı platformlardan veriler elde edilmiştir. GTEx projesi verilerinin bir kısmı belirli izinler çerçevesinde erişime açık olmak üzere, tamamı “GTEx Data Portal” (<https://gtexportal.org/home/>) adresinde tüm araştırmacıların kullanımına açılmıştır.

### 2.5.3. Gen İfadesi Profili İnteraktif Analizi (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)

TCGA ve GTEx konsorsiyum projelerinde oldukça geniş kapsamlı -omik veri ortaya çıkmıştır. Çok sayıda kanser tipine ve normal dokuya ait verilerin karşılaştırılarak ilgili kanserde klinik ve fonksiyonel önemi olan genlerin tanımlanabilmesi için verilerin çeşitli analizlerde işlenebilmesine imkân sağlayan araçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyacı karşılamak üzere internet tabanlı bir araç olarak geliştirilen GEPIA, TCGA ve GTEx verilerini çekerek kullanıcıya gen ekspresyon profili ve çeşitli interaktif analizler sunmaktadır (125, 126).

GEPIA'nın veri işleme ve görselleştirmesindeki ilk aşama TCGA ve GTEx gen ekspresyon verilerinin UCSC Xena (127) projesinden çekilmesidir. Çekilen veriler tıbbi uzmanlar tarafından normal-kanser karşılaştırması için en uygun şekilde gruplandırıldıktan sonra oluşan veri setleri MySQL veritabanında depolanmaktadır (125, 126). Depolanan veri setlerinin interaktif işlemesi için R ve Perl programlama dilleri kullanılmakta, elde edilen çıktılar Bootstrap, DataTables ve Plotly.js arayüzü aracılığıyla kullanıcıya pdf, svg veya png gibi farklı formatlarda sunulmaktadır (125, 126).

GEPIA internet aracında yedi temel fonksiyon bulunmaktadır. Kullanıcılar herhangi bir genin kanser ve normal doku setlerindeki genel durumunu görebilir, tümör ve normal dokunun karşılaştırılmasıyla kanserde normal dokuya göre farklı ekspresyon gösteren genleri tespit edebilir, genlerin ifade profilini çeşitli grafiklerde dinamik olarak çizebilir ve çoklu doku tiplerinde karşılaştırabilir, sağkalım analizi yapabilir, çalışılan gene benzer genleri tespit edebilir, bir veya birden çok veri setinde iki gen için korelasyon analizi yapabilir, ve çalışılan gen listesinde ana bileşen analizi ile birlikte iki veya üç boyutlu grafikler çizerek efektif biyobelirteç adaylarını tespit edebilir (125).

### 2.5.4. İfadesi Anlamalı Değişen Genlerin Saptanmasındaki Ölçütler

Bağımsız gruplar arasında ifadesi anlamlı değişen genlerin belirlenmesi için dikkate alınan bazı ölçütler mevcuttur. Bu çalışmada p-değeri, kat değişimi, “yanlış keşif oranı (FDR)” ve Benjamini-Hochberg gibi çeşitli ölçütler kullanılmıştır.

Araştırmacının hipotezi her zaman eşitlik içeren yokluk hipotezi ( $H_0$ ) ve her zaman eşitsizlik (farklılık) içeren seçenek hipotezi ( $H_1$ ) olabilir (128). Yanılma düzeyi ( $\alpha$ ),  $H_0$  hipotezi gerçekten doğru iken onu yanlışlıkla reddetme olarak tanımlanan birinci tip hata için öngörülen en büyük sınır değeridir ve alfa değeri her zaman 0-1 arasında olup  $\alpha=0.05$ ,  $\alpha=0.01$  ve  $\alpha=0.001$  gibi küçük değerler almaktadır (128). Bir hipotezin değerlendirilmesi için yapılan istatistiksel test sonrasında elde edilen olasılık ise “p-değeri” olarak ifade edilmektedir (128). Elde edilen p-değeri birinci tip hatanın test sonucunda hesaplanmış değeridir ve p-değerinin yanılma düzeyinden düşük olması istatistiksel anlamlılığı göstermektedir. İfadesi anlamlı değişen genlerin tespitinde p-değeri bir olasılık ölçüsü olarak işlev görmektedir.

Dikkate alınan bir diğer ölçüt iki farklı durum arasında gen ifadesindeki kantitatif değişiklik olarak tanımlanan kat değişimi (Fold Change, FC) yaklaşımıdır. Bu yaklaşımda, iki koşul arasındaki ekspresyon seviyelerinin mutlak değerindeki oran araştırmacı deney tasarımına uygun olacak şekilde belirleyebilir (129). Ancak ifadesi anlamlı değişen genlerin belirlenmesinde tek başına bir kriter olarak kullanılması yalancı pozitiflikler açısından problem oluşturabilmektedir (129). Bu sebeple ifadesi anlamlı değişen genlerin saptanmasında p-değeri ve FC değerini birlikte kullanmanın sadece p-değeri veya FC değerini kullanmaktan daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (130).

Binlerce gene ait transkriptin kullanıldığı mikrodizin ve RNA sekansı gibi yüksek hacimli taramalar, çoklu karşılaştırma içeren ve bu karşılaştırmalardan çok sayıda anlamlı sonuç beklenen çalışmalardır. Bu çalışmalarda istatistiksel test sonrasında çoklu karşılaştırma sebebiyle yanlış pozitif sonuçların oranı beklenenin üzerinde olup birinci tip hatayı arttırmakta ve ifadesi anlamlı değişen genler hatalı pozitif sonuçları da içermektedir (131). Anlamlılığı şansa bağlı ortaya çıkan hatalı sonuçların oranı “yanlış keşif oranı” olarak tanımlanırken FDR’ı kontrol altına alabilmek için Benjamini-Hochberg ve Bonferroni düzeltmesi gibi farklı istatistiksel yaklaşımlar kullanılmaktadır (131). Benjamini-Hochberg prosedürü FDR oranını kontrol altına alarak birinci tip hatanın yükselmesinden kaçınmayı sağlamaktadır (131). Çoklu karşılaştırmadan elde edilen p değeri, bu test sonrasında “düzeltilmiş p-değeri” (adjusted-p value) veya “q-değeri” olarak ifade edilmekte olup, q değeri

belirlenen bir eşik değeri için hatalı pozitiflerin düzeyini p-değerinden daha doğru şekilde yansıtmaktadır (131).

### 2.5.5. Farklı Gen İfadesi Analizi

Değişen koşullarda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı eksprese olan genleri (differentially expressed genes, DEGs) belirlemek pek çok çalışma için önemli bir başlangıç noktasıdır. Farklılaşan gen ifadesi analizi iki duruma (normal-kanser, ilaç uygulanan-uygulanmayan vb.) ait transkriptomun karşılaştırılarak ekspresyonu ilgilenilen durumda diğer gruba göre değişmiş olan genleri tanımlamayı sağlayan bir metottur. GEPIA, TCGA tümör dokuları ile eşleşen normal dokular ve GTEx normal dokularında DEGs analizi yaparken ANOVA, LIMMA ve Top 10 olmak üzere üç farklı metot kullanılmaktadır (132). ANOVA metodunda cinsiyet, yaş, etnik köken ve hastalık durumu (tümör, normal) değişkenleri dikkate alınarak dört yönlü varyans analizi için ANOVA testi kullanılmaktadır (132). Elde edilen ekspresyon verileri  $\log_2$  FC olarak tanımlanır ve çoklu testteki q-değerini elde etmek için her bir faktördeki p-değeri Benjamini-Hochberg prosedürü kullanılarak düzeltilir (132). GEPIA, ikinci olarak bir R paketi olan LIMMA tarafından uygulanan doğrusal model ve Empirical Bayes metodu ile düzeltilmiş p-değerini kullanmakta ve bu şekilde elde edilen ekspresyon verileri  $\log_2$  FC olarak tanımlanmaktadır (132). GEPIA son olarak belirli bir kanser türünün sadece bir alt grubunda aşırı eksprese edilen genleri tanımlamak için Top 10 metodunu kullanılmaktadır. Bu metotta her kanser tipi için, ekspresyonu normal dokularda düşük, tümör dokularında yüksek olduğu bilinen teröpatik hedef adayları olan belirli bir geni en yüksek düzeyde eksprese eden tümör örneklerinin %10'u ve kıyaslama için yine bu geni en yüksek düzeyde eksprese eden aynı sayıda normal doku seçilmektedir (132). Tümör ve normal örnekler ekspresyon düzeyine göre sıralandığında oluşan listenin üstteki %50'sinde yer alan tümör örneklerinin yüzdeliği yüzde değeri olarak hesaplanmakta ve ekspresyon verileri  $\log_2$  FC olarak tanımlanmaktadır (132).

### 2.5.6. Zenginleştirme ve Yolak Analizi

Yüksek hacimli transkriptomik veri sağlayan tekniklerden elde edilen çok sayıda DEGs'nin ilgili hastalıktaki biyolojik rolünü anlayabilmek için zenginleştirme

ve yolak analizi yöntemleri kullanılmaktadır (133). Böylece ilgili genlerin yer aldığı moleküler fonksiyonları, biyolojik işlevleri ve bulunduğu hücresel lokalizasyonları incelemek, birbiriyle fonksiyonel olarak ilişkili olan gen kümelerini tespit etmek, genlerin yer aldığı sinyal yolaklarını belirlemek, yolak içindeki genlerin birbiriyle ilişkisini görselleştirmek, incelenen hastalıkta aktivitesi değişen yolakları tespit etmek, biyolojik süreçleri sınıflandırmak ve atasal biyolojik süreçlerdeki merkezi genleri tespit edebilmek mümkün hale gelmektedir (134-141). Zenginleştirme ve yolak analizleri tümör spesifik genlerin hücrede oluşturduğu sistematik etkinin anlaşılmasını sağlamaktadır.

Zenginleştirme ve yolak analizi DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery), WebGestalt (Web-Based Gene Set Analysis Toolkit), GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) ve Metascape vb gibi pek çok araç ile yapılabilmektedir. Büyük gen listelerinin fonksiyonel anotasyonu ve analizini kolaylaştırmak için geliştirilen DAVID, araştırmacılara sezgisel grafik gösterimleri ile fonksiyonel tanımlayıcı verileri sistematik olarak birleştirebilen bir dizi veri madenciliği aracı sağlamaktadır (142). GenBank, UniGene, RefSeq, KEGG, LocusLink, OMIM, Gene Ontology, Reactome, NetAffx, University of Michigan gibi önemli veri kaynaklarını bünyesine entegre eden DAVID anotasyon aracı, GoCharts, KeggCharts, ve DomainCharts olmak üzere dört ana modülden oluşmaktadır (142). Bunlardan anotasyon aracı gen listelerinin anotasyonu için otomatikleştirilmiş bir yöntemdir. GoCharts modülü bilgi birikmeye ve değişmeye devam etse bile tüm organizmalarda genlerin ve proteinlerin işlevlerine uygulanabilen yapılandırılmış bir dil sağlayan Gene Ontology Consortium'un kontrol edilen kelimelerini kullanarak fonksiyonel kategoriler arasında ekspresyonu farklı olan genlerin dağılımını grafiksel olarak göstermektedir. KeggCharts, KEGG biyokimyasal yolakları arasında ekspresyonu farklı olan genlerin dağılımını grafiksel olarak gösterirken, DomainCharts PFAM protein domainleri arasında ekspresyonu farklı olan genlerin dağılımını göstermektedir.

DAVID'de zenginleştirme ve fonksiyonel yolak analizinde tipik analiz akışı; gen listesinin yüklenmesi, özet sayfasının görüntülenmesi, grafik, tablo, kümelenme vb. raporlar ile ayrıntılı keşif ve sonuçları dışarı aktararak kaydetme şeklinde sıralanabilir (143). DAVID içindeki terimlerde gen zenginleştirmeyi ölçmek için

Fisher'in kesin testi benimsenmiştir. DAVID analizlerinde karşılaşılan EASE skoru ise Fisher'in kesin testinden alınan p-değerinin modifiye edilmiş halidir (144). EASE skoru, Fisher'in kesin testi sonucunda şans eseri ilişkili olabilecek zenginleştirme sonuçlarını daha az dikkate alarak zenginleştirmenin gücünü arttırmaktadır (144). DAVID çoklu karşılaştırma içeren bu istatistiksel analizlerde Bonferroni ve Benjamini-Hochberg gibi düzeltmelere ait p-değerleri de bildirilmektedir (144).

### 2.5.7. Sağkalım Analizi

Sağkalım analizi, belirli bir başlangıç noktasından itibaren bir olayın takibini sağlayarak yaşam süresinin hesaplanmasıdır (145). Sağkalım analizinde ölene kadar geçen süre genel sağkalım (OS) olarak tanımlanırken, bir tedavi sonrası hastalığa tekrar yakalanana kadar geçen süre hastalısız sağkalım olarak tanımlanmaktadır (145). Sağkalım analizi hastalık seyrini takip etmek, farklı tedavi ve deney/kontrol gruplarında ilgili protokolün etkinliğini incelemek ve risk faktörlerinin belirlenmesi amacıyla yapılabilmektedir. Gen ekspresyon seviyesine dayanan sağkalım analizi ise ilgili genin klinik önemini değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir (125).

GEPIA, gen ekspresyonu pozitif ve negatif olan iki grubun sağkalım verilerini karşılaştırmak için hipotez testinde Mantel-Cox testi olarak da bilinen Log-rank kullanmakta ve elde edilen sonuç p-değeri ile gösterilmektedir (132).

İstatistikte aralık kestirimi yaklaşımı ile elde edilen güven aralığı (confidence interval, CI), araştırmacı tarafından belirlenen yanılma düzeyine bağlı olarak elde edilen güven düzeyi ile tanımlanmaktadır (128). CI, evrenden çekilen bir örneklemden elde edilen istatistik yardımıyla ilgili parametrenin güven aralığını belirleyen alt ve üst sınır içerisinde olduğunu ifade etmektedir (128).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Bu tez çalışması dört farklı dokuya ait adenokarsinom tipi üzerinden yürütülmüştür. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvurulmuş olup kurulun 04.09.2018 tarihli toplantısında çalışmamız için etik izine ihtiyaç duyulmadığına karar verilmiştir. GO 18/894 karar numaralı etik izin belgesi Ek-1'de mevcuttur.

Çalışmada kullanılan pankreatik adenokarsinoma (PAAD), mide adenokarsinoma (STAD), akciğer adenokarsinoma (LUAD), kolon adenokarsinoma (COAD) ve normal doku örneklerine ait RNA-seq verileri TCGA ve GTEx projesinde çalışılan örneklerden elde edilmiştir. Bu örneklerin içerdiği örnek sayıları Tablo 3.1'de görülmektedir.

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan kanser ve normal örneklem setlerinin büyüklüğü.

Doku	TCGA	GTEx	Toplam
Pankreas (PAAD)	Tümör (n=179)	-	Tümör (n=179)
	Normal (n=4)	Normal (n=167)	Normal (n=171)
Mide (STAD)	Tümör (n=408)	-	Tümör (n=1085)
	Normal (n=36)	Normal (n=175)	Normal (n=291)
Akciğer (LUAD)	Tümör (n=483)	-	Tümör (n=483)
	Normal (n=59)	Normal (n=288)	Normal (n=347)
Kolon (COAD)	Tümör (n=275)	-	Tümör (n=275)
	Normal (n=41)	Normal (n=308)	Normal (n=349)

Bu tez çalışmasında verilerin çekilmesi ve analizlerin yapılması için birçok veritabanı ve araç kullanılmıştır.

1. GEPIA V1 (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) (125) sunucusu ile TCGA ve GTEx projelerinden gelen veriler karşılaştırılarak yukarıda belirtilen kanserlere özgü ifadesi anlamlı olarak değişen genler belirlenmiştir.

2. VENNY V2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) (146) kullanılarak bir önceki analizde her kanser tipi için ifadesi anlamlı olarak değiştiği saptanan genler venn diyagramında karşılaştırılmış ve pankreas kanserine özgü olan genler belirlenmiştir.
3. DAVID V6.7 (<https://david.ncifcrf.gov/>, DAVID) (142) ile pankreas kanserine spesifik olarak ifadesi artan genlerin zenginleştirme ve yolak analizi yapılmıştır.
4. DAVID analizinde elde edilen gen ontoloji (Gene Ontology, GO) terimlerden biyolojik süreç (Biological Process, BP) kategorisindeki yolların hiyerarşik olarak bir parçası olduğu atasal süreçleri belirlemek için QuickGO (<https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>) (141) kullanılmıştır.
5. İnternet tabanlı bir analiz platformu olan OmicsNet (<https://www.omicsnet.ca/>) (139, 140) kullanılarak ilgili atasal süreçlerde kümelenen BP terimlerinin içerdiği proteinlerin birbiriyle iletişimi incelenmiş ve merkezi nitelikte rol üstelenen genler saptanmıştır.
6. Merkezi rol üstelenen genlerin pankreas adenokarsinomunda sağkalım analizi GEPIA ile yapılmıştır.
7. Sağkalımı etkilediği tespit edilen genler hakkında literatür taraması için NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (147) veritabanı kullanılmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. TCGA ve GTEx Verilerinden DEG'lerin Elde Edilmesi

Bu çalışmada incelenen dört kanser tipinde her bir kansere özgü olarak ifadesi anlamlı olarak değişen genler GEPIA kullanılarak tespit edildi.

1. GEPIA sunucusu ana sayfasında “Cancer Type Analysis” sekmesi altındaki “Differential Genes Analysis” başlığı seçildi.
2.  $|\text{Log}_2\text{FC}| \geq 2$  ve q-değeri 0.001 olarak girildi.
3. Analiz yöntemi olarak ANOVA tercih edildi.
4. Ayrıca ifadesi anlamlı olarak artan ya da azalan genleri kromozom üzerinde görebilmek için kromozomal dağılımı da analize eklendi.
5. Her kanser tipi için bu analizler ayrı ayrı yapıldı.

### 3.2.2. PAAD Spesifik DEG'lerin Belirlenmesi

Her kanser tipi için ayrı ayrı elde edilen DEG'lerden ifadesi artan genler VENNY V2.1 ile karşılaştırılarak pankreas kanserine spesifik artış gösteren DEG'ler tespit edildi.

### 3.2.3. Zenginleştirme ve Yolak Analizi

VENNY ile yapılan karşılaştırmadan sonra ifade artışı PAAD spesifik olan genlerin zenginleştirme ve yolak analizi DAVID V6.7 kullanarak yapıldı.

1. DAVID V6.7 ana sayfasında "Functional Annotation" sekmesine tıklanarak "Functional Annotation Tool" açıldı.
2. Upload sekmesi tıklanarak kopyalanan PAAD spesifik gen listesi yapııştırıldı.
3. Identifier olarak "Official Gene Symbol" seçildi.
4. List type olarak "gene list" seçilerek analiz başlatıldı.
5. Gene list manager bölümünde species olarak "*Homo sapiens*" seçildi.
6. Annotasyon sonuçlarında "Gene Ontology" ve "Pathways" başlıkları seçildi.
7. GOTERM\_BP\_FAT, GOTERM\_CC\_FAT, GOTERM\_MF\_FAT, KEGG\_PATHWAY ve REACTOME\_PATHWAY başlıkları aşağıdaki gibi incelendi.
  - a. İlgili başlıktaki Chart sekmesine tıklanarak "Functional Annotation Chart" sayfasına geçildi.
  - b. Gelen sayfada istatistiksel filtreleme için "Options" sekmesine tıklanarak EASE skoru 0,05 olarak girilip FDR kontrolü için Benjamini düzeltmesi seçildikten sonra "Rerun Using Options" tıklandı.
  - c. Filtrelenen sonuçlar "Download File" seçeneğine tıklanarak indirildi ve excel dosyasına kaydedildi.

### 3.2.4. Biyolojik Süreç Terimlerinin Kümelendiği Atasal Biyolojik Süreçlerin Belirlenmesi

DAVID ile yapılan gen zenginleştirme ve yolak analizi sonucunda elde edilen GOTERM\_BP\_Fat kategorisindeki terimler Benjamini değeri < 0.001 olacak şekilde

filtrelendi ve filtrelenen bu terimlerin ait olduğu atasal biyolojik süreçler internet tabanlı tarayıcı QuickGO kullanılarak araştırıldı.

1. DAVID sonuçlarında GOTERM\_BP\_Fat kategorisi Benjamini  $< 0.001$  olacak şekilde filtrelendi.
2. Filtreleme sonrası her bir terime ait ID numarası kopyalandı ve QuickGO sayfasındaki arama çubuğuna yapıştırılarak arama başlatıldı.
3. Arama sonucu gelen seçeneklerde ilgilenilen terimin ID başlığı seçildi.
4. İlgili terim hakkında detaylı bilgi içeren sayfa incelendi ve terimin “Ancestor Chart” başlığında hangi atasal biyolojik sürecin altında yer aldığı belirlendi.
5. Tüm terimler için uygulanan bu işlemde sonra GOTERM\_BP\_FAT kategorisinde önce çıkan atasal biyolojik süreçler tespit edildi.
6. Her bir ana biyolojik süreç başlığında kümelenen terimlerin barındırdığı gen isimleri bir araya getirildi ve tekrarlanan gen isimleri temizlendi.

### **3.2.5. Kümelenmiş Biyolojik Süreçlerde Merkezi Rol Üstelenmiş Genlerin Tespit Edilmesi**

İlgilenilen ana biyolojik süreçlerde yer alan gen ürünlerinin birbiriyle etkileşimi ile (protein-protein interaction, PPI) ortaya çıkan biyolojik ağı oluşturmak, görselleştirmek ve en çok etkileşim gösteren genleri tespit etmek için internet tabanlı OmicsNet aracı kullanıldı.

1. OmicsNet ana sayfasında “Genes” sembolüne tıklandı.
2. Gelen pencerede “Organism; *Homo sapiens*” olarak seçilirken “Set ID Type; Official Gene Symbol” olarak seçildi.
3. İlgili biyolojik sürece ait gen listesi kopyalandı ve yapıştırıldı.
4. Pencerenin altındaki “Upload” seçeneğine tıklandıktan sonra işleme devam edebilmek için gelen ana sayfadaki “Proceed” seçeneğine tıklandı.
5. Gelen sayfada “Network Building” için PPI bölümünde STRING seçildi. STRING için ön tanımlı parametreler (Experiment Evidence (Yes), Confidence Score: 900) değiştirilmeden “Submit” tuşuna tıklandı.

6. Oluşan ağ yapısı 3000'den fazla nod içerdiğinde “Network Tools” kısmında “Betweenness Filter” başlığına tıklanarak “Betweenness cutoff” değeri 2,0 olarak girildi.
7. Gelen sayfada “Node Table” bölümündeki genlerin name, id ve degree bilgileri excel dosyasına kaydedildi.

### **3.2.6. Sağkalım Analizi**

OmicsNet ile elde edilen merkezi nitelikli genlerin tamamı için GEPIA’da PAAD veri setinde genel sağkalım analizi yapıldı.

1. GEPIA ana sayfasında “Survival Analysis” başlığına tıklandı.
2. İlgili gen adı girildi.
3. “Overall Survival” seçeneği işaretlendi.
4. %95 Confidence Interval ve Group Cutoff için Median seçildi.
5. PAAD veri seti seçilerek analiz için Plot tuşuna tıklandı.
6. Gelen sağkalım grafiğinde sonuç anlamlı ise grafik görüntüsü kaydedildi.

### **3.2.7. Literatür Taraması**

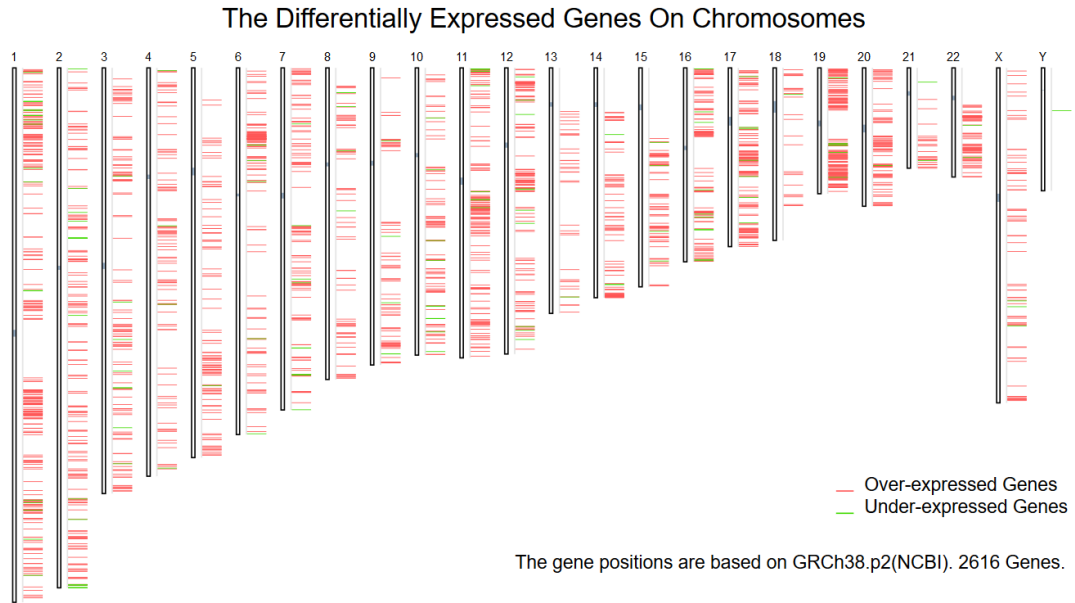
Sağkalım analizi sonucunda anlamlı sonuç veren merkezi genler için NCBI veritabanı kullanarak literatür taraması yapıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Farklı Gen İfadesi Analizi Sonuçları

GEPIA ile yapılan analiz sonucunda her bir adenokarsinom tipi için spesifik olan ve ifadesi anlamlı olarak değişen genler  $|\text{Log}_2\text{FC}| \geq 2$  ve q-değeri = 0.001 kriterleri göz önüne alınarak saptandı.

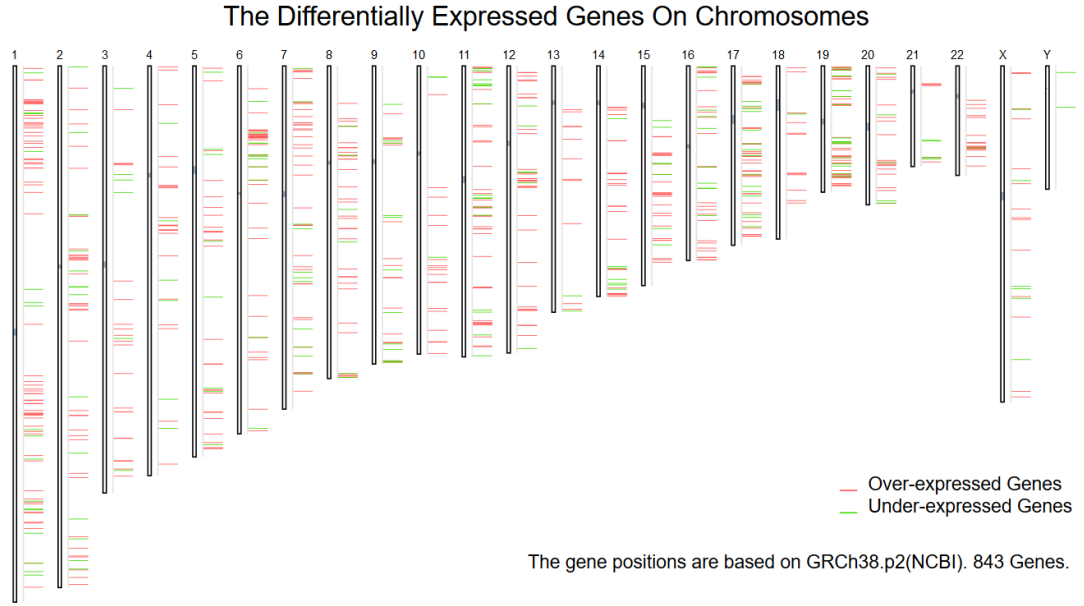
PAAD veri seti ile yapılan analizde pankreas adenokarsinomu ve normal pankreas dokusu karşılaştırılarak pankreas adenokarsinomunda ifadesi anlamlı olarak değişen 2616 gen tespit edildi. Pankreas tümör dokusunda ifadesi artan 2458 gen ve ifadesi azalan 158 gen olduğu saptandı. İfadesi artan genlerin kat değişimi  $2 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 9,258$  iken ifadesi azalan genlerin kat değişimi  $-10,856 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 2$  şeklindedir. GEPIA'dan alınan analiz sonucuna göre PAAD veri setine ait ifadesi anlamlı olarak değişen genlerin kromozom dağılımı Şekil 4.1.'de gösterilmektedir.



**Şekil 4.1.** PAAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.

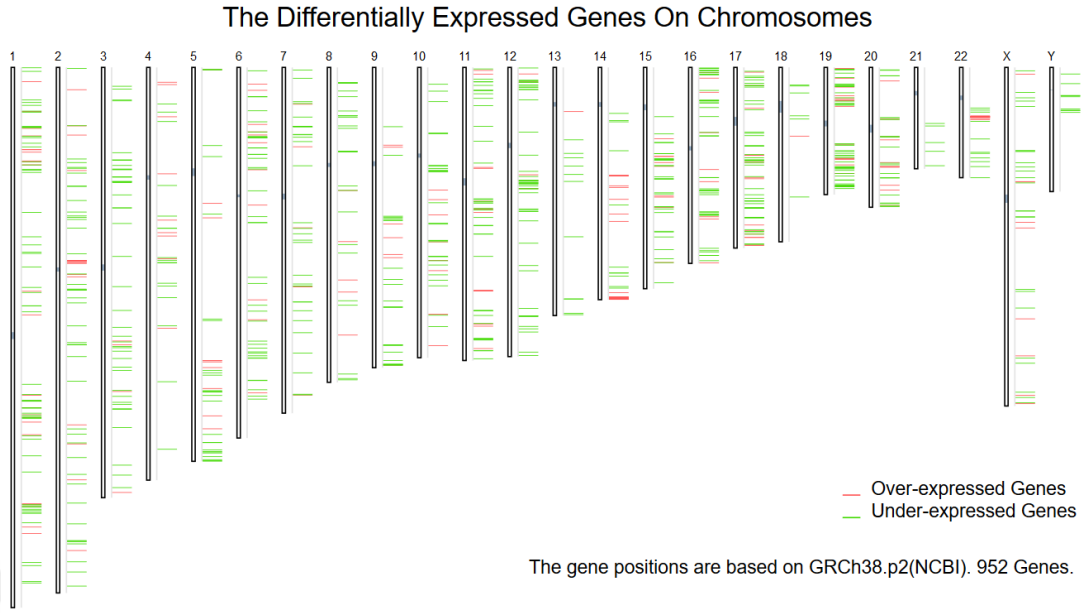
STAD veri seti ile yapılan analizde mide adenokarsinomu ve normal mide dokusu karşılaştırılarak mide adenokarsinomunda ifadesi anlamlı olarak değişen 843 gen tespit edildi. Mide tümör dokusunda ifadesi artan 638 gen ve ifadesi azalan 205 gen olduğu saptandı. İfadesi artan genlerin kat değişimi  $2 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 6,85$  iken ifadesi azalan genlerin kat değişimi  $-15,024 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 2$  şeklindedir. GEPIA'dan

alınan analiz sonucuna göre STAD veri setine ait ifadesi anlamlı olarak değişen genlerin kromozom dağılımı Şekil 4.2.'de gösterilmektedir.



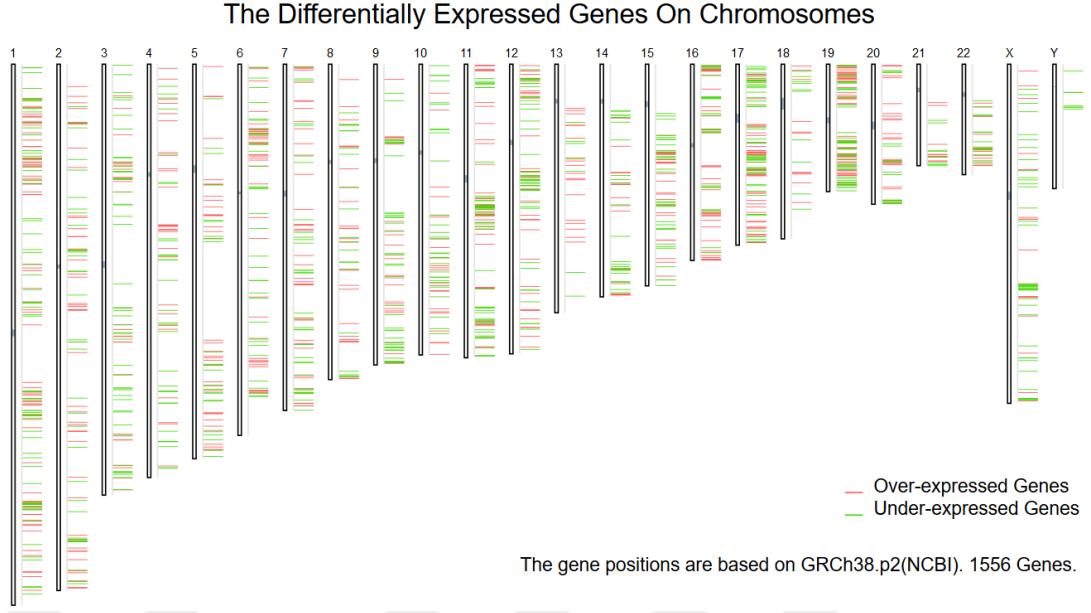
**Şekil 4.2.** STAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.

LUAD veri seti ile yapılan analizde akciğer adenokarsinomu ve normal akciğer dokusu karşılaştırılarak akciğer adenokarsinomunda ifadesi anlamlı olarak değişen 952 gen tespit edildi. Akciğer tümör dokusunda ifadesi artan 247 gen ve ifadesi azalan 705 gen olduğu saptandı. İfadesi artan genlerin kat değişimi  $2 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 8,216$  iken ifadesi azalan genlerin kat değişimi  $-7,55 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 2$  şeklindedir. GEPIA'dan alınan analiz sonucuna göre LUAD veri setine ait ifadesi anlamlı olarak değişen genlerin kromozom dağılımı Şekil 4.3'te gösterilmektedir.



**Şekil 4.3.** LUAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.

COAD veri seti ile yapılan analizde kolon adenokarsinomu ve normal kolon dokusu karşılaştırılarak kolon adenokarsinomunda ifadesi anlamlı olarak değişen 1556 gen tespit edildi. Kolon tümör dokusunda ifadesi artan 786 gen ve ifadesi azalan 770 gen olduğu saptandı. İfadesi artan genlerin kat değişimi  $2 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 8,703$  iken ifadesi azalan genlerin kat değişimi  $-8,42 \leq \text{Log}_2\text{FC} \leq 2$  şeklindedir. GEPIA'dan alınan analiz sonucuna göre COAD veri setine ait ifadesi anlamlı olarak değişen genlerin kromozom dağılımı Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

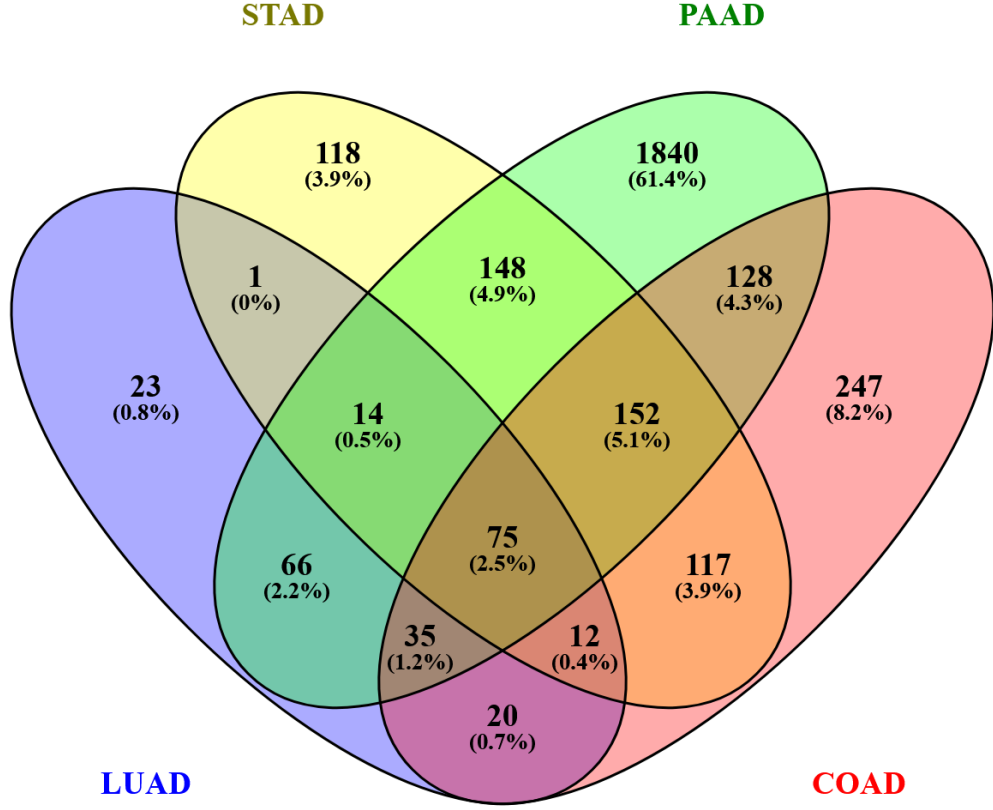


**Şekil 4.4.** COAD veri setinde ifadesi anlamlı değişen genlerin kromozom dağılımı.

#### 4.2. Venn Diyagramı Sonuçları

Dört veri setinde de ifadesi artış gösteren DEG'lerin listeleri venn diyagramı ile karşılaştırılarak, adenokarsinom tiplerine spesifik ve adenokarsinomlarda ortak olarak değişen genler saptandı. Oluşturulan diyagram Şekil 4.5.'de gösterilmektedir. Bu karşılaştırma ile PAAD veri setinde ifadesi artan 2458 genden 1840 tanesinin pankreas tümörüne spesifik olduğu tespit edildi. STAD veri setinde mide tümörüne spesifik 118 gen, LUAD veri setinde akciğer tümörüne spesifik 23 gen, COAD veri setinde ise kolon tümörüne spesifik 247 gen olduğu belirlendi.

Pankreas tümör dokusunda ifade artışı gösteren genlerin diğer tümör dokularındaki durumu ikiye bölünmüş olarak incelendiğinde pankreas ve kolon tümöründe 390 genin, pankreas ve mide tümöründe 389 genin, pankreas ve akciğer tümöründe ise 190 genin ortak olduğu görüldü. Pankreas tümör dokusunda ifade artışı gösteren 2458 genden 75 tanesinin ise tüm kanser tipleri için ortak olduğu saptandı.



Şekil 4.5. Dört kanser tipinde ifadesi artan genlerin venn diyagramı dağılımı.

### 4.3. Zenginleştirme ve Yolak Analizi Sonuçları

Pankreas tümörüne spesifik olarak ifadesi artan 1840 genin hücre içinde hangi süreçlerde ve sinyal yolaklarında rol aldığını saptamak için gen ontolojisi ve yolak analizi yapıldı. Bu analizde 1840 adet genin 1672 tanesi DAVID veri tabanı sistemi tarafından tanımlandığı için analiz tanımlanan bu genler ile yapıldı. Analiz sonuçlarında Benjamini değeri < 0.001 olacak şekilde filtreleme yapıldığında gen ontolojisi kapsamına giren GOTERM\_BP\_FAT kategorisinde 85 adet, GOTERM\_CC\_FAT kategorisinde 31 adet ve GOTERM\_MF\_FAT kategorisinde 17 adet terim elde edildi. Yolak analizinde ise KEGG\_PATHWAY kategorisinde 7 adet, REACTOME\_PATHWAY kategorisinde 4 adet yolak olmak üzere toplamda 11 adet

yolak listelendi. Analiz esnasında çekilen temsili bir ekran görüntüsü Şekil 4.6.'da gösterilmektedir.

\*\*\* You are currently using DAVID 6.7. \*\*\*  
\*\*\* If you are looking for DAVID 6.8, please visit our production site. \*\*\*

\*\*\*Red annotation categories denote DAVID defined defaults\*\*\*

Şekil 4.6. Zenginleştirme ve yolak analizinden temsili ekran görüntüsü.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
	Category	Term	Count	%	PValue	Genes	List Total	Pop Hits	Pop Total	Fold Enrichment	Bonferroni	Benjamini	FDR
1	GOTERM_BP_FAT	GO:0006955*immune response	156	9	3.56E-24	XRCC4, IL18, 1331	690	13528	2	1.39E-20	1.39E-20	6.59E-21	
2	GOTERM_BP_FAT	GO:0007155*cell adhesion	148	9	5.12E-20	MPZL2, LYPC, 1331	700	13528	2	2.00E-16	9.99E-17	9.49E-17	
3	GOTERM_BP_FAT	GO:0022610*biological adhesion	148	9	5.88E-20	MPZL2, LYPC, 1331	701	13528	2	2.29E-16	7.65E-17	1.09E-16	
4	GOTERM_BP_FAT	GO:0006928*cell motion	113	7	2.34E-19	GNA13, LYPC, 1331	475	13528	2	9.12E-16	2.28E-16	4.33E-16	
5	GOTERM_BP_FAT	GO:0009611*response to wounding	120	7	1.04E-18	GNA13, A2M, 1331	530	13528	2	4.06E-15	8.11E-16	1.99E-15	
6	GOTERM_BP_FAT	GO:0030036*actin cytoskeleton organization	69	4	6.44E-18	LIMA1, PDI, 1331	226	13528	3	2.51E-14	4.19E-15	1.19E-14	
7	GOTERM_BP_FAT	GO:0030029*actin filament-based process	71	4	1.69E-17	LIMA1, PDI, 1331	241	13528	3	6.60E-14	9.43E-15	3.13E-14	
8	GOTERM_BP_FAT	GO:0006952*defense response	119	7	4.14E-13	A2M, AIF1, 1331	615	13528	2	1.61E-09	2.02E-10	7.67E-10	
9	GOTERM_BP_FAT	GO:0007010*cytoskeleton organization	93	6	7.39E-13	LIMA1, PDI, 1331	436	13528	2	2.89E-09	3.21E-10	1.37E-09	
10	GOTERM_BP_FAT	GO:0006954*inflammatory response	76	5	1.06E-12	A2M, AIF1, 1331	325	13528	2	4.15E-09	4.15E-10	1.97E-09	
11	GOTERM_BP_FAT	GO:0007015*actin filament organization	31	2	1.21E-12	ALDOA, LIMJ, 1331	72	13528	4	4.72E-09	4.29E-10	2.24E-09	
12	GOTERM_BP_FAT	GO:0050865*regulation of cell activation	48	3	8.68E-11	TRAF2, PDGF, 1331	175	13528	3	3.39E-07	2.82E-08	1.61E-07	
13	GOTERM_BP_FAT	GO:0002684*positive regulation of immune system process	58	3	1.25E-10	IL18, CRP, TI, 1331	238	13528	2	4.89E-07	3.76E-08	2.32E-07	
14	GOTERM_BP_FAT	GO:0050867*positive regulation of cell activation	36	2	1.95E-10	TRAF2, IL18, 1331	111	13528	3	7.62E-07	5.45E-08	3.62E-07	
15	GOTERM_BP_FAT	GO:0001775*cell activation	65	4	2.32E-10	GNA13, XRC, 1331	287	13528	2	9.06E-07	6.04E-08	4.30E-07	
16	GOTERM_BP_FAT	GO:0016477*cell migration	63	4	3.25E-10	NRP2, PDGF, 1331	276	13528	2	1.27E-06	7.92E-08	6.02E-07	
17	GOTERM_BP_FAT	GO:0045321*leukocyte activation	57	3	7.30E-10	XRCC4, LRR, 1331	242	13528	2	2.85E-06	1.68E-07	1.35E-06	
18	GOTERM_BP_FAT	GO:0001944*vasculature development	58	3	1.10E-09	NRP2, RTN4, 1331	251	13528	2	4.28E-06	2.38E-07	2.03E-06	
19	GOTERM_BP_FAT	GO:0002694*regulation of leukocyte activation	44	3	1.86E-09	TRAF2, IL18, 1331	166	13528	3	7.27E-06	3.82E-07	3.45E-06	
20	GOTERM_BP_FAT	GO:0001568*blood vessel development	56	3	3.34E-09	NRP2, RTN4, 1331	245	13528	2	1.31E-05	6.53E-07	6.20E-06	
21	GOTERM_BP_FAT	GO:0002696*positive regulation of leukocyte activation	33	2	3.93E-09	TRAF2, IL18, 1331	106	13528	3	1.53E-05	7.30E-07	7.28E-06	
22	GOTERM_BP_FAT	GO:0010033*response to organic substance	120	7	6.63E-09	A2M, PDGFE, 1331	721	13528	2	2.59E-05	1.18E-06	1.23E-05	
23	GOTERM_BP_FAT	GO:0042110*T cell activation	36	2	8.47E-09	XRCC4, ELF4, 1331	126	13528	3	3.30E-05	1.44E-06	1.57E-05	
24	GOTERM_BP_FAT	GO:0046649*lymphocyte activation	48	3	8.53E-09	GPR183, XRI, 1331	199	13528	2	3.33E-05	1.39E-06	1.58E-05	
25	GOTERM_BP_FAT	GO:0030198*extracellular matrix organization	32	2	9.62E-09	MIA, SPOCK, 1331	104	13528	3	3.75E-05	1.50E-06	1.78E-05	
26	GOTERM_BP_FAT	GO:0048870*cell motility	64	4	1.05E-08	NRP2, PDGF, 1331	307	13528	2	4.10E-05	1.58E-06	1.95E-05	
27	GOTERM_BP_FAT	GO:0051674*localization of cell	64	4	1.05E-08	NRP2, PDGF, 1331	307	13528	2	4.10E-05	1.58E-06	1.95E-05	
28	GOTERM_BP_FAT	GO:0048514*blood vessel morphogenesis	49	3	2.13E-08	GNA13, RTN, 1331	211	13528	2	8.33E-05	3.09E-06	3.96E-05	
29	GOTERM_BP_FAT	GO:0051251*positive regulation of lymphocyte activation	30	2	2.67E-08	TRAF2, IL18, 1331	97	13528	3	1.04E-04	3.72E-06	4.94E-05	
30	GOTERM_BP_FAT	GO:0042127*regulation of cell proliferation	126	8	2.80E-08	RARRES3, XR, 1331	787	13528	2	1.09E-04	3.77E-06	5.19E-05	
31	GOTERM_BP_FAT	GO:0051249*regulation of lymphocyte activation	38	2	6.81E-08	TRAF2, IL18, 1331	148	13528	3	2.66E-04	8.86E-06	1.26E-04	
32	GOTERM_BP_FAT	GO:0032535*regulation of cellular component size	56	3	1.32E-07	RTN4, ATP6V, 1331	271	13528	2	5.17E-04	1.67E-05	2.45E-04	
33	GOTERM_BP_FAT	GO:0008064*regulation of actin polymerization or depolymerization	22	1	1.54E-07	LIMA1, PLEK, 1331	61	13528	4	6.01E-04	1.88E-05	2.86E-04	
34	GOTERM_BP_FAT	GO:0042060*wound healing	44	3	1.57E-07	DCBLD2, GN, 1331	191	13528	2	6.14E-04	1.86E-05	2.92E-04	
35	GOTERM_BP_FAT	GO:0042981*regulation of apoptosis	125	7	1.73E-07	XRCC4, PTG, 1331	804	13528	2	6.74E-04	1.98E-05	3.20E-04	
36	GOTERM_BP_FAT	GO:0042330*taxis	39	2	1.93E-07	NRP2, CSAR, 1331	160	13528	2	7.51E-04	2.15E-05	3.57E-04	
37	GOTERM_BP_FAT												

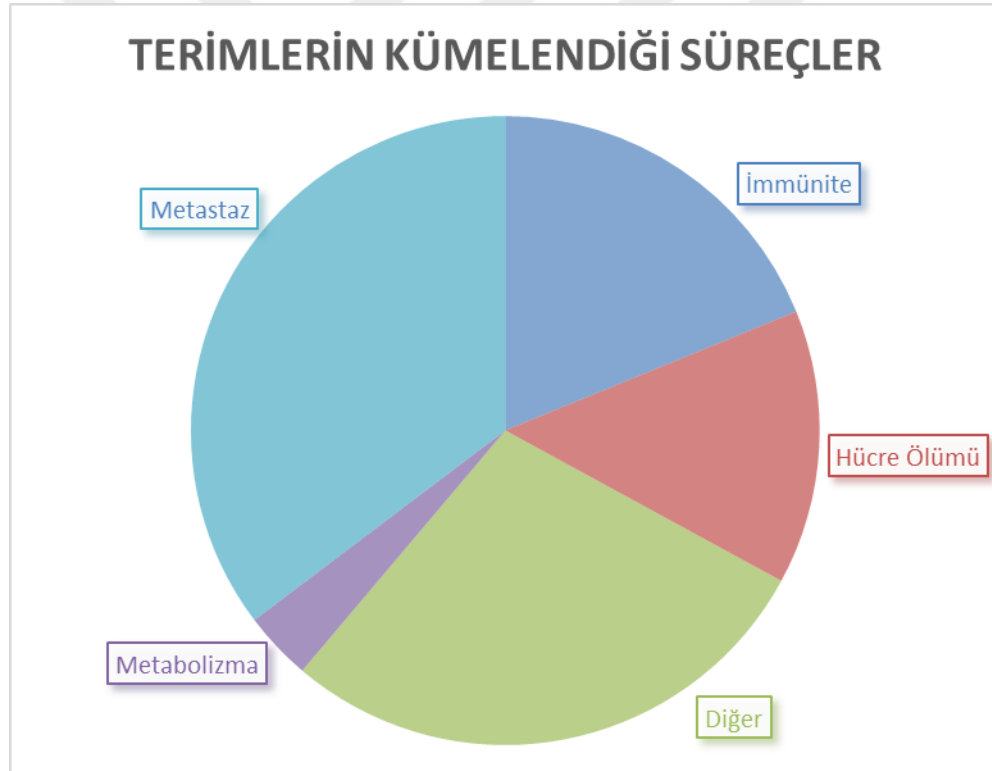
Şekil 4.7. GO\_BP terimlerinin excel dosyasından temsili ekran görüntüsü.

#### 4.4. Biyolojik Süreçlerin Kümelenme Sonuçları

GOTERM\_BP\_FAT kategorisinde Benjamini-Hochberg değeri  $< 0.001$  olacak şekilde filtreleme yapıldığında elde edilen 85 terimin ilişkili olabileceği hüresel

süreçler QuickGO ile araştırıldı. Bu terimlerin listesi EK-2’de görülebilmektedir. İlgili terimlerin tanımı ve bağlı olduğu atasal biyolojik süreçler incelendi.

Terimlerden 30 tanesinin hücre hareketi, hücre dışı matriks (ECM) düzenlenmesi, hücre adezyonu ve gelişimsel süreçler gibi metastatik karakteri oluşturan süreçlerde, 16 tanesinin immün sistem süreçlerinde, 12 tanesinin hücre ölümü süreçlerinde ve 3 tanesinin hücre metabolizması süreçlerinde kümelendiği görüldü (Şekil 4.8.) Bu incelemede belli bir kümelene göstermeyen terimlerin sayısı 24 olarak tespit edildi. Metastaz kategorisinde yer alan 30 terimden 16 tanesinin hücre hareketiyle, 6 tanesinin gelişimsel süreçlerle, yine 6 tanesinin adhezyon ve 2 tanesinin ECM yapılanması ile ilişkili olduğu saptandı. Gelişimsel süreçlerde ise anjiyogenez ve hücre farklılaşması ile ilişkili süreçler bulundu.



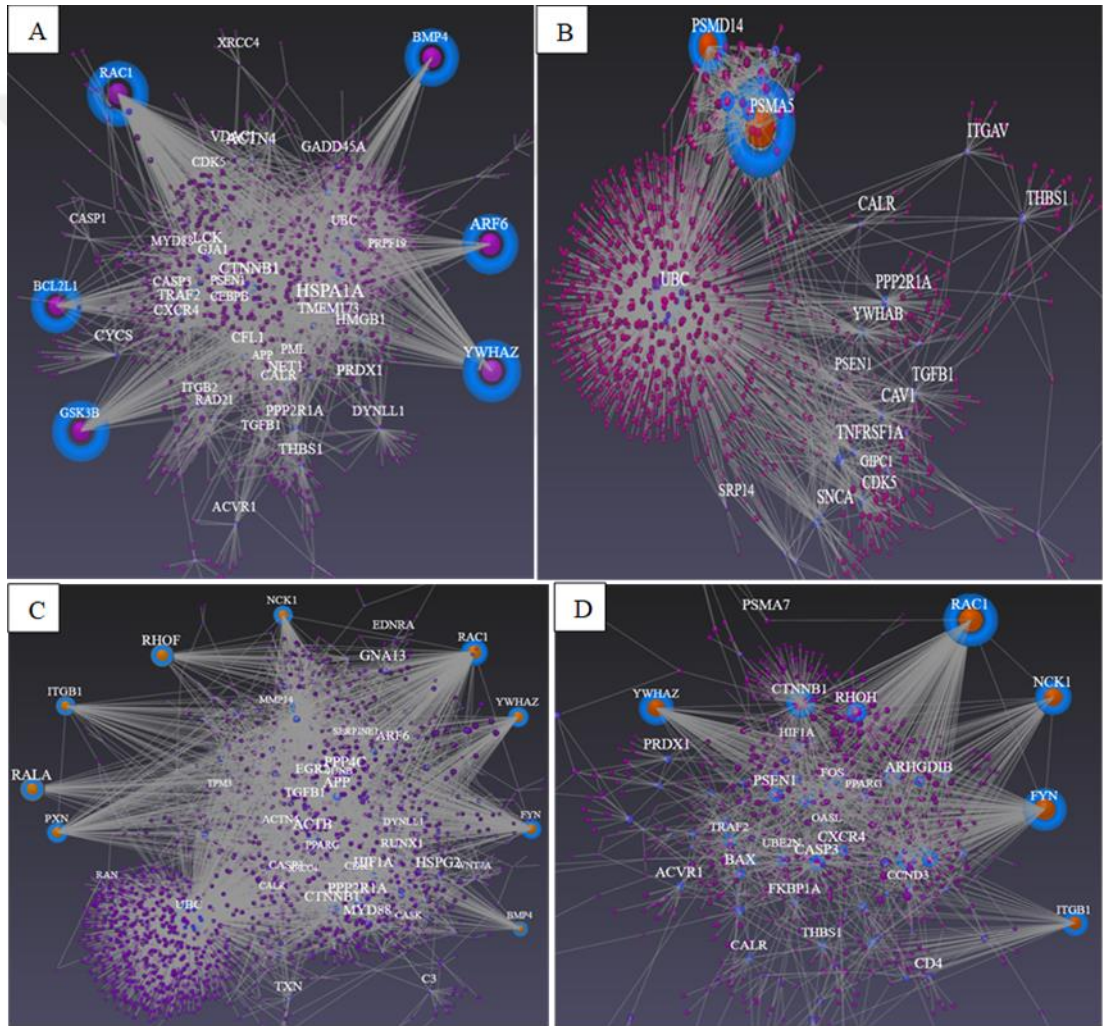
**Şekil 4.8.** Terimlerin kümelendiği hücresel süreçlerin grafiği.

#### **4.5. Protein-Protein Etkileşimindeki Merkezi Rol Üstlenmiş Genlerin Analiz Sonuçları**

İmmünite, metastaz, metabolizma ve hücre ölümünden oluşan dört gruptaki gen listelerinin OmicsNet ile yapılan PPI analizinde etkileşim ağında birbiriyle en

çok etkileşim kuran merkezi nitelikli genler tespit edildi. Oluşturulan PPI ağında Degree  $\geq 40$  olan genler “merkezi gen” olarak tanımlandı.

Dört grupta toplam 1027 gen ile yapılan bu analizde 83 adet merkezi gen tanımlandı. Metastaz kategorisinde analiz edilen 498 genden 30 tanesi, hücre ölümü kategorisinde analiz edilen 175 genden 23 tanesi, immünite kategorisinde analiz edilen 298 genden 17 tanesi ve metabolizma kategorisinde analiz edilen 56 genden 13 tanesi merkezi gen olarak tespit edildi. Bu analizde oluşturulan PPI ağlarının görselleştirilmiş hali Şekil 4.9.’da gösterilmektedir.



**Şekil 4.9.** OmicsNet PPI analizi ekran görüntüsü A- Hücre ölümü, B- Metabolizma, C- Metastaz, D- İmmünite.

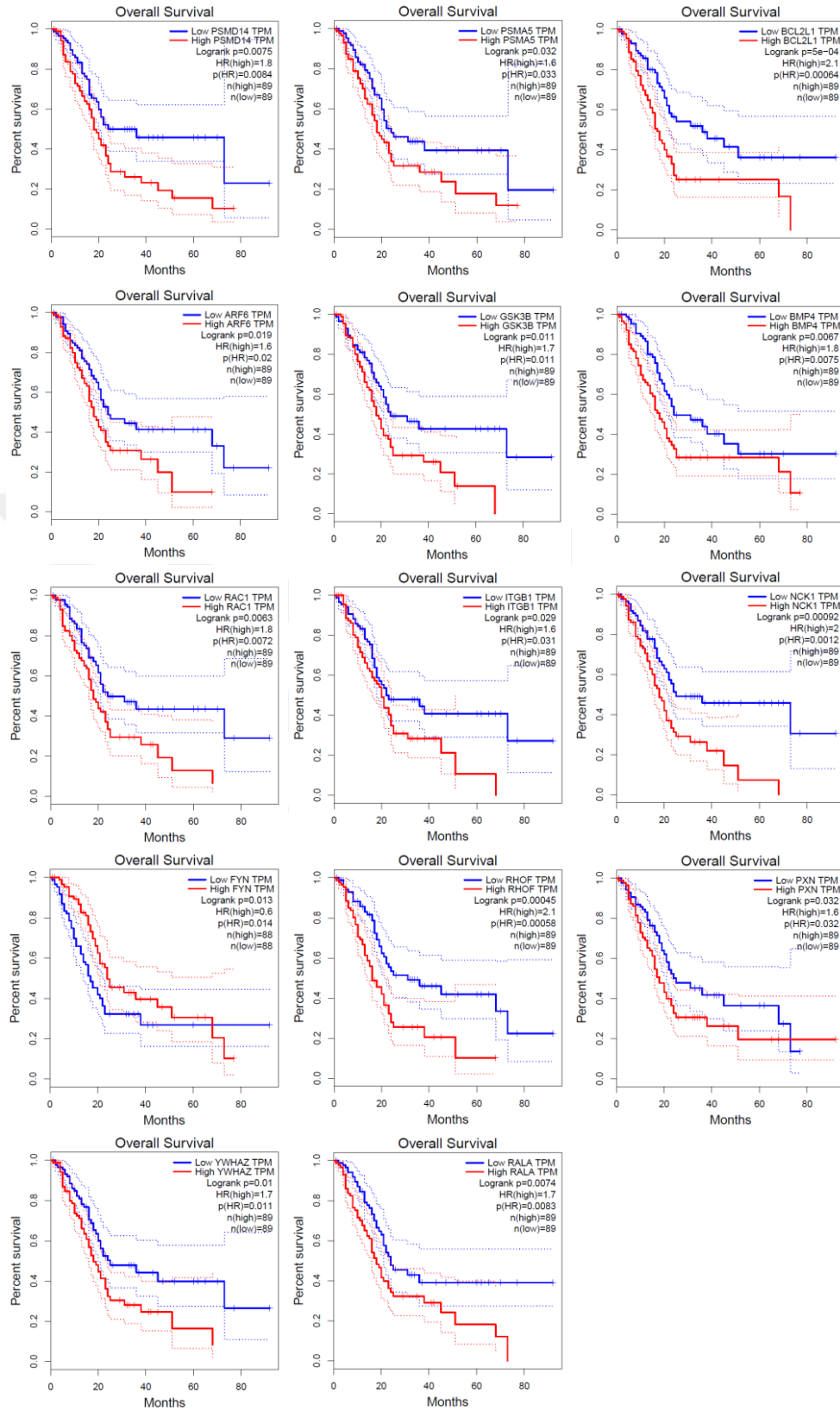
#### 4.6. Sağkalım Analizi Sonuçları

Her grup için belirlenen merkezi gen listesinde tüm genler için genel sağkalım analizi yapıldı. Bu analizde Log-rank p değeri  $\leq 0.05$  olan 14 adet gen OS için anlamlı olarak tanımlandı. Genel sağkalımda anlamlı gen sayısı metastaz grubu için dokuz, hücre ölümü grubu için altı, immünite grubu için beş ve metabolizma için iki olarak tespit edildi. Bu genlerden iki tanesi üç grupta, dört tanesi ise iki grupta yer almaktadır. İlgili genler detaylı olarak Tablo 4.1.'de, genel sağkalım analizlerine ait eğriler ise Şekil 4.10.'da gösterilmektedir.

**Tablo 4.1.** Genel sağkalımda anlamlı olan merkezi genler.

Gen Adı	Log2 Kat Değişimi	Genlerin Kümeleniği Biyolojik Süreçler				OS* Log-rank p-value
RALA	2,562	Metastaz				0,0074
RHOF	3,032	Metastaz				0,00045
PXN	2,052	Metastaz				0,032
FYN	2,379	Metastaz	İmmünite			0,013
NCK1	2,023	Metastaz	İmmünite			0,00092
ITGB1	3,29	Metastaz	İmmünite			0,029
YWHAZ	3,031	Metastaz	İmmünite	Hücre Ölümü		0,01
RAC1	2,719	Metastaz	İmmünite	Hücre Ölümü		0,0063
BMP4	3,622	Metastaz		Hücre Ölümü		0,0067
GSK3B	2,008			Hücre Ölümü		0,011
BCL2L1	2,559			Hücre Ölümü		0,00005
ARF6	2,743			Hücre Ölümü		0,019
PSMA5	2,037				Metabolizma	0,032
PSMD14	2,316				Metabolizma	0,0075

\*OS: Overall Survival



Şekil 4.10. Merkezi genlerin sağkalım eğrileri.

## 5. TARTIŞMA

Pankreas kanseri en yaygın görülen kanserler arasında dünyada on birinci ülkemizde ise onuncu sırada yer almaktadır (1, 25). Kanser ilişkili ölümlerde ilk üç sırada yer alan akciğer, kolon ve mide kanserlerinin beş yıllık sağkalımı sırasıyla %19, %65 ve %20 iken yedinci sırada yer alan pankreas kanserinde bu oranın %9 olması pankreatik tümörleri en ölümcül neoplazmlardan birisi yapmaktadır (2, 59, 70). Pankreas kanserinin diğer epitelyal kanserlerden daha agresif ve metastatik bir karaktere sahip olmasında rol oynayan değişimlerin transkriptom düzeyinde araştırılması ve bu kansere özgü olan gen ifade değişimlerinin incelenmesi hastalığın tanı ve tedavisinde kullanılabilecek spesifik biyobelirteçleri tespit edebilmek için önemlidir.

Bu amaçla tez çalışmamızda pankreas kanseri, akciğer kanseri, mide kanseri ve kolon kanserine ait TCGA transkriptom verileri ile normal dokulara ait GTEx transkriptom verileri farklı gen ifadesi analizi için karşılaştırıldı. Bu analiz ile ilgili kanserlerde ifadesi istatistiksel olarak anlamlı değişen genler saptandı. Ek olarak bu genlerin kromozom dağılımları da incelendi. PAAD ve STAD veri setinde gen ifadesi değişiminin sırasıyla %94 ve %75 oranında ifade artışı yönünde olduğu görüldü. Kromozom dağılımı incelendiğinde ifadesi artan bu genlerin herhangi bir kromozomda birikme olmaksızın Y kromozomu haricindeki tüm kromozomlara yayıldığı görülmektedir. Buna karşın LUAD veri setinde gen ifadesi değişiminin %74 oranında ifade azalması yönünde olduğu ve DEG'lerin herhangi bir kromozomda birikme göstermeksizin tüm kromozomlara yayıldığı gözlemlendi. COAD veri setinde ise ifadesi değişen genlerin yarısında ifade artışı yarısında ise ifade azalması mevcuttur. DEG'lerin Y kromozomu haricinde herhangi bir kromozomda birikim olmaksızın tüm kromozomlara yayıldığı görülmektedir.

Dört kansere ait veri setinin kromozom dağılımlarında Y kromozomunda sadece ifadesi azalan genlerin yer aldığı dikkat çekmektedir. Literatürde pankreatik adenokarsinomlarda Y kromozomundaki genlerin ekspresyon düzeyi hakkında yeterli veriye rastlamamakla beraber kromozomal incelemelerin mevcut olduğu görülmektedir. Wallrapp ve arkadaşlarının ekzokrin pankreas kanseri hastalarında Y kromozom kaybını araştırdığı çalışmada 11 pankreas kanseri hücre hattında Y

kromozomundaki sekans etiketli bölgeler (STS) polimeraz zincir reaksiyonu ile incelenmiş ve sekiz hücre hattının çalışmada kullanılan tüm STS belirteçleri için negatif olduğu bildirilmiştir (148). Yine bu çalışmada elde edilen sonuçları *in vivo* ortamda da doğrulamak için yedi primer pankreas tümörü interfaz *in situ* floresan hibridizasyon (FISH) ile incelenmiş ve kullanılan belirteç bölgelerindeki delesyonların primer tümörlerde de bulunduğu gösterilmiştir (148). Y kromozomu ile ilgili diğer bir araştırma Missiaglia ve arkadaşlarının pankreatik endokrin tümörlerde seks kromozomu anomalilerini incelediği çalışmadır (149). Bu çalışmada 14 hastanın primer pankreas endokrin tümöründe interfaz FISH analizi yapılmış ve 5 hastada Y kromozom kaybı olduğu gösterilmiştir (149). Her iki çalışmada da Y kromozomunda görülen bu delesyonların hastalığın agresifliğini arttırabileceği belirtilmiştir (148, 149).

Venn diyagramına göre PAAD veri setinde ifadesi artan DEG'lerin %61,4'ü PAAD spesifiktir. İfade artışı gösteren DEGs sayısının PAAD veri setinde oldukça fazla olduğu dikkate alınınca bu oran beklenmedik bir sonuç değildir.

Pankreas adenokarsinoması seçilen diğer üç epitelyal kansere göre daha agresif metastatik özellikler göstermektedir (150). Bu özelliklerde rol transkriptom değişimlerinin ve hücrel mekanizmaların araştırılması için PAAD veri setine spesifik genler ile zenginleştirme ve yolak analizi yapıldı. Çalışmamız bu analizde elde edilen gen ontolojisi kapsamındaki biyolojik süreç kategorisi üzerinden yürütüldü. Çok çeşitli hücrel süreçleri içeren GOTERM\_BP\_FAT kategorisindeki terimler Benjamini-Hochberg değeri  $< 0.001$  olacak şekilde filtrelendi ve elde edilen 85 terimin kümelenme gösterdiği atasal süreçler QuickGO ile araştırıldı. İncelenen terimlerin %18,8'i immünite, %14,1'i hücre ölümü ve %3,5'i metabolizma sürecinde kümelenme göstermektedir. Terimlerin %28,2'si herhangi bir atasal süreçle ilişkilendirilemez iken %35,3'ü metastatik karakteri ortaya çıkaran süreçlerde kümelenme gösterdiği için bu terimler metastaz başlığı altında değerlendirildi.

Çalışmamızın son aşamasında atasal süreçlerde kümelenen terimlerin içerdiği genlerin, protein-protein etkileşimini analiz ederek diğer genler ile en çok etkileşimde bulunan merkezi genler ve bunların sağkalım üzerindeki etkisi araştırıldı. PPI analizi sonucunda, incelenen genlerde merkezi genlerin oranı immünite için

%5,7; metastaz için %6; hücre ölümü için %13,1 ve metabolizma için %23 olarak elde edildi. Metabolizma kategorisinde incelenen BP terim sayısı ve terimlerin içerdiği gen sayısının diğer üç kategoriden daha düşük olmasına rağmen PPI analizinde en yüksek merkezi gen oranına sahip olması dikkat çekicidir. Bu analiz sonucunda pankreas adenokarsinomunda metabolizma, immün sistem ve hücre ölümü süreçleri ile metastatik karakterde etkili olan ve sağkalımda istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturan on dört adet gen elde edilmiştir. Bu genlerin %64,2 oranında metastatik süreçte etkili olması pankreatik adenokarsinomun agresif doğası dikkate alındığında beklenen bir bulgudur.

Hücre metabolizmasının yeniden programlanması kanserin ayırt edici özelliklerinden biridir (151, 152). Farklı çalışmalar metabolik değişikliklerin epigenetik regülasyonlar yoluyla pankreas tümör oluşumunu ve metastazı teşvik edebileceğini vurgulamaktadır (153-155). Pankreatik tümör metabolizmasının kemorezistans (156), immünsüpresyon (157) ve radyorezistans (158) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda PSMA5 ve PSMD14 genlerinin metabolizma kategorisinde merkezi gen olduğunu ve sağkalımda anlamlı olduğunu saptadık. PSMA5 ifadesinin pulmoner nöroendokrin tümörlerde (159) ve bazı solid tümörlerde (160) arttığı bildirilmiştir. Fu ve arkadaşları prostat kanseri hücre hatlarında PSMA5'in proliferasyon, apoptoz ve invazyon üzerinde etkili olduğunu, ayrıca proteazom inhibitörü Bortezomibe karşı dirençte rol oynadığını ifade etmiştir (161). Arlt ve arkadaşları kolon kanseri ve pankreas kanseri hücrelerinde NRF2 bağımlı artmış PSMA5 ifadesinin ve proteazom aktivitesinin apoptoza karşı bir koruma sağladığı bildirilmiştir (162). Pankreas kanserinde PSMA5'in sağkalım üzerinde etkisini belirten bir çalışmaya rastlanmadığından bilgimiz dahilinde bulgumuz bu yöndeki ilk veridir. Literatürde PSMA5 ile ilgili veriler kısıtlı olsa da PSMD14 için farklı kanserlerde yapılan çalışmalar mevcuttur. PSMD14 meme, kolon, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, özefagus, prostat, nöroblastoma, melanoma, hepatoselüler karsinoma ve multiple myeloma tümörlerinde *in vivo*, *in vitro*, hasta örnekleri ve biyoinformatik analizleri içeren farklı yöntemler ile araştırılarak proliferasyon, migrasyon, invazyon, apoptoz, metastaz, kemoteröpatik direnç gibi pek çok süreçte etkin bir rol oynadığı bildirilmiştir (163-174). Farklı tümörlerde sağkalımda etkili olduğu bildirilen (165, 171, 172, 174) PSMD14 meme kanseri ve

endometrial kanser ile yapılan iki biyoinformatik çalışmada da merkezi gen olarak tanımlanmıştır (164, 175). Literatürde pankreatik adenokarsinomda PSMD14 ile ilişkili herhangi bir veriye rastlanmadığından çalışmamızın sonuçları bilginiz dahilinde bu yöndeki ilk verileri sunmaktadır.

İmmün sistemden kaçabilmek kanser hücresinin ayırt edici özelliklerinden biridir (151). Düşük immünojeniteye sahip olmasına rağmen pankreas kanseri mikroçevresi güçlü bir immün baskılayıcı karaktere sahiptir (176). Çalışmamızın sonuçları FYN, NCK1, ITGB1, RAC1 ve YWHAZ genlerinin pankreas adenokarsinomunda immün süreçlerde etkili olduğunu ve sağkalımda anlamlı bir fark oluşturduğunu göstermektedir. FYN'in kanserde immün süreçlerle ilişkisi hakkında en detaylı çalışma Comba ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışma glioma hücrelerinin FYN ifadesi ile tümör mikroçevresindeki miyeloid türevi baskılayıcı hücrelerin büyümesini ve aktivitesini uyararak bağışıklık yanıtını baskıladığını göstermiştir (177). Literatürde NCK1'in kanserde immün süreçlerle ilişkisine yönelik bir bulguya rastlanmamıştır. Zhuang ve arkadaşları pankreatik kanserde, biyoinformatik analizlerle ITGB ailesi üyelerini inceledikleri çalışmada, ITGB1'in pankreatik kanserde immün baskılayıcı süreçler ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (178). Han ve arkadaşları YWHAZ'in oral skuamöz hücreli karsinomda STAT3 aracılığıyla tümör inflamasyonu ve bağışıklık tepkisini düzenleyebileceğini bildirmiştir (179). Yine YWHAZ ifadesinin hepatoselüler karsinomada tümörü infiltre eden lenfositlerin antitümör cevabını bozduğu (180) gösterilmiştir. D'Errico ve arkadaşları ise tümör ilişkili makrofajların kemoterapiye maruz kalmış YWHAZ ifadesi gösteren pankreatik duktal adenokarsinoma hücrelerini fagosite ettikten sonra, YWHAZ salgılayarak diğer tümör hücrelerinde kemoterapi direnci oluşmasını sağladığını bildirmiştir (181). Melzer ve arkadaşları pankreatik kanser ve meme kanserinde RAC1 ve TGF- $\beta$ 'nın tümör çevresindeki hücrelerle ilişkisine ve bu ilişkinin her iki kanserdeki etkilerini dair bilgi sunmuştur (182) ancak literatürde pankreatik kanserde RAC1'in immün hücrelerle doğrudan ilişkisine dair bir bulguya rastlanmamıştır. Literatüre pankreatik adenokarsinomda FYN ve NCK1'in immün süreçle ilişkili olabileceğine ve bulduğumuz beş genin de sağkalımda anlamlı bir fark gösterdiğine dair ilk veriler çalışmamız sonucunda sunulmaktadır. Ayrıca

literatürdeki deneysel çalışmalar bulduğumuz genlerin pankreas adenokarsinomunda immün süreçle ilişkisini destekler yöndedir.

Kanser hücrelerinin ayırt edici özelliklerinden bir tanesi de programlı hücre ölümünden kaçabilmektir (151). Çalışmamızın sonuçları YWHAZ, RAC1, BMP4, GSK3B, BCL2L1 ve ARF6 genlerinin pankreas adenokarsinomunda hücre ölümü süreçlerinde etkili olduğunu ve sağkalımda anlamlı bir fark oluşturduğunu göstermektedir. Guo ve arkadaşları YWHAZ geninin mide kanserinde susturulmasının apoptoz ve otofajiyi indüklediğini göstermiştir (183). D'Errico ve arkadaşları YWHAZ ilişkili bir mekanizmanın pankreatik kanserde anti-apoptotik etki oluşturduğunu bildirmiştir (181). Yan ve arkadaşları RAC1 ifadesi susturulduğunda pankreatik kanser hücrelerinin ionize radyasyon duyarlılığının arttığını ve hücrelerin apoptoza yönlendiğini öne sürmüştür (184). Zhao ve arkadaşları BMP4'ün miyeloid lösemi hücrelerinde otofaji ve apoptozu düzenleme yoluyla hücrelerin kemoterapi direnci kazanmasında rol oynadığını belirtmiştir (185). Literatürde BMP4'ün pankreas kanserinde hücre ölümü ile ilişkini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Marchand ve arkadaşları pankreatik kanser hücre hatlarında GSK3B inhibisyonunun JNK yolağı aracılığıyla apoptozu uyardığını bildirmiştir (186). Farklı çalışmalarda pankreas kanserinde GSK3B aktivitesinin küçük molekül inhibitörler kullanılarak durdurulması kemoterapi duyarlılığını arttırmıştır (187, 188). Schniewind ve arkadaşları pankreatik kanserde BCL2L1 ifadesi ile gemcitabine tedavisine direncinin ilişkili olduğunu bildirmiştir (189). Sharma ve arkadaşları da pankreatik kanserde BCL2L1 ifade düzeyinin apoptotik indeksi belirleyici olduğunu öne sürmüştür (190). Ye ve arkadaşları pankreatik kanserde ARF6'nın gemcitabine direncini arttırarak apoptotik olmayan programlı hücre ölümü çeşitlerinden biri olan ferroptosis duyarlılığını etkilediğini bildirmiştir (191). Liang ve arkadaşları ise TCGA PAAD veri setinde ARF6'nın sağkalımda anlamlı bir fark oluşturduğunu belirtmiş ve pankreatik kanser hücre hatlarında ARF6'nın proliferasyonu arttırdığını göstermiştir (192). BMP4 haricindeki genlerin pankreatik kanserde hücre ölümü ile ilişkisine yönelik çalışmalar bulgularımızı destekler niteliktedir.

Metastazın, neoplastik bir hücrenin konakçıdan özerk olabilme yönündeki evriminin nihai göstergesi olarak düşünüldüğünü belirten Welch ve arkadaşları

anjyogenez, hücre hareketi, ECM yeniden düzenlenmesi, invazyon, hücre adhezyonu ve gelişimsel hücre süreçlerindeki değişimleri metastazın ayırt edici özellikleri olarak bildirmiştir (193). Çalışmamızda metastaz başlığı altında değerlendirilen terimlerin %53,3'ü hücre hareketi, %20'si hücre farklılaşması ve anjyogenezi içeren gelişimsel süreçler, yine %20'si adhezyon ve %6,6'sı ECM süreçleri ile ilişkilidir. Metastaz ilişkili biyolojik süreçlerde rol aldığını ve sağkalımda anlamlı bir fark oluşturduğunu tespit ettiğimiz dokuz genden FYN, NCK1, ITGB1 çalışmamızın sonuçlarına göre immün süreçlerde YWHAZ ve RAC1 ise hem immün hem de hücre ölümü süreçlerinde etkili olan genlerdir. Chen ve arkadaşları FYN aktivitesinin proliferasyon ve apoptozun regülasyonu yoluyla pankreatik hücre metastazını düzenlediğini öne sürmüştür (194). Je ve arkadaşları da pankreatik kanserde FYN ve diğer SRC kinaz üyelerinin proliferasyon, migrasyon ve invazyonda etkili olduğunu bildirmiştir (195). NCK1'in servikal skuamöz karsinomada anjyogenezde (196), kolorektal kanserde anjyogenez ve metastazda (197) pankreatik karsinomada ise EGFR aracılı invazyon ve metastazda (198) rol oynadığı bildirilmiştir. Farklı araştırma grupları ITGB1'in pankreas kanserinde hücre büyümesi, invazyon, migrasyon ve metastazda rol aldığını bildirmiştir (199-201). Yine farklı çalışmalarda YWHAZ'ın pankreas (202), mide (203), yumurtalık (204), meme (205), küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (206) ve hepatoselüler karsinoma (207) gibi pek çok tümörde invazyon, migrasyon ve metastazda rol oynadığı ifade edilmiştir.

Metastatik süreçlerde etkili olan diğer genler ise RAS ailesinin üç üyesi RHOF, RALA, RAC1 ile BMP4 ve PXN genleridir. RHOF aktivitesinin mikrometastazda rol oynadığı bildirilmiştir ancak kanser tiplerindeki çalışmalar kısıtlıdır (208). Li ve arkadaşları RHOF'un migrasyon, invazyon, EMT ve metastazda rol oynadığını hepatoselüler karsinomada göstermiştir (209). Lim ve arkadaşları RALA'nın pankreatik kanserde invazyon, metastatik büyüme için gerekli olduğunu bildirilmiştir (210). RAC1'in pankreas kanserinde invazyon ve migrasyonda rol oynadığı farklı araştırma gruplarının çalışmalarında gösterilmiştir (211-213). PXN aktivitesinin pankreatik adenokarsinomda (214) ve kolorektal kanserde (215) migrasyon ve metastazda rol oynadığı ayrıca pankreas kanserinde kısa sağkalım ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (216). BMP4'ün pankreas kanserinde

EMT ve invazyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (217, 218). Literatürde yer alan bu veriler çalışmamızdan elde edilen bulguları destekler niteliktedir.

Çalışmamız, pankreatik kanserin agresif karakterinde önemli bir bileşen olan metastatik davranışa katkı sunan ve sağkalımda etkili olan dokuz genin biyoinformatik analiz ile literatüre sunulduğu bilgimiz dahilindeki ilk çalışmadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 6.1. Sonuç

Çalışmamız pankreas kanserinde yeni tedavi hedeflerine ve prognostik/prediktif biyobelirteçlerin tanımlanmasına duyulan ihtiyaç göz önüne alınarak tasarlanmıştır. Bu tez çalışmasında biyoinformatik yaklaşım kullanılarak transkriptomik düzeyde yapılan araştırma ile pankreas kanserine özgü ve genel sağkalımda istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturan on dört adet biyobelirteç adayı gen saptanmıştır. Bu genlerin pankreas kanserindeki hücresel süreçler ve metastatazdaki rolü detaylıca araştırılmıştır. Yapılan literatür incelemesi çalışmamızın bulgularını destekler niteliktedir. Ayrıca çalışmamızın sonuçları bilgimiz dahilinde literatüre ilgili genlerin pankreas kanserindeki rolleri hakkında yeni veriler sunmaktadır. Bu sonuçlar tez çalışmamızın tasarımında, analiz yaklaşımlarında ve kullanılan araçların seçiminde uyguladığımız metodolojik yaklaşımın başarılı olduğunu göstermektedir.

### 6.2. Öneriler

Bu tez çalışması kapsamında biyoinformatik analiz yaklaşımları ile elde edilen biyobelirteç adayları uygun deneysel prosedürler kullanılarak ileri düzeyde araştırılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Rawla P, Sunkara T, Gaduputi V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World J Oncol.* 2019;10(1):10-27.
3. Ducreux M, Cuhna AS, Caramella C, Hollebecque A, Burtin P, Goere D, et al. Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26 Suppl 5:v56-68.
4. Lambert A, Schwarz L, Borbath I, Henry A, Van Laethem JL, Malka D, et al. An update on treatment options for pancreatic adenocarcinoma. *Ther Adv Med Oncol.* 2019;11:1758835919875568.
5. Hidalgo M, Cascinu S, Kleeff J, Labianca R, Lohr JM, Neoptolemos J, et al. Addressing the challenges of pancreatic cancer: future directions for improving outcomes. *Pancreatology.* 2015;15(1):8-18.
6. Du YX, Liu ZW, You L, Wu WM, Zhao YP. Advances in understanding the molecular mechanism of pancreatic cancer metastasis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2016;15(4):361-70.
7. Vinay Kumar AA, Jon Aster. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Ninth ed 2015 14th July 2014. 1408 p.
8. Li D, Xie K, Wolff R, Abbruzzese JL. Pancreatic cancer. *Lancet.* 2004;363(9414):1049-57.
9. Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2016;22(44):9694-705.
10. Haeberle L, Esposito I. Pathology of pancreatic cancer. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2019;4:50.
11. Luo G, Fan Z, Gong Y, Jin K, Yang C, Cheng H, et al. Characteristics and Outcomes of Pancreatic Cancer by Histological Subtypes. *Pancreas.* 2019;48(6):817-22.
12. Cubilla AL, Fitzgerald PJ. Morphological lesions associated with human primary invasive nonendocrine pancreas cancer. *Cancer Res.* 1976;36(7 PT 2):2690-8.
13. Brat DJ, Lillemoe KD, Yeo CJ, Warfield PB, Hruban RH. Progression of pancreatic intraductal neoplasias to infiltrating adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 1998;22(2):163-9.
14. Brockie E, Anand A, Albores-Saavedra J. Progression of atypical ductal hyperplasia/carcinoma in situ of the pancreas to invasive adenocarcinoma. *Ann Diagn Pathol.* 1998;2(5):286-92.
15. Hruban RH, Wilentz RE, Kern SE. Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am J Pathol.* 2000;156(6):1821-5.

16. Kozuka S, Sassa R, Taki T, Masamoto K, Nagasawa S, Saga S, et al. Relation of pancreatic duct hyperplasia to carcinoma. *Cancer*. 1979;43(4):1418-28.
17. Hruban RH, Goggins M, Parsons J, Kern SE. Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2000;6(8):2969-72.
18. Hruban RH, Maitra A, Goggins M. Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. *Int J Clin Exp Pathol*. 2008;1(4):306-16.
19. Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address aadhe, Cancer Genome Atlas Research N. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell*. 2017;32(2):185-203 e13.
20. Luo Y, Tian L, Feng Y, Yi M, Chen X, Huang Q. The predictive role of p16 deletion, p53 deletion, and polysomy 9 and 17 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res*. 2013;19(1):35-40.
21. Yachida S, White CM, Naito Y, Zhong Y, Brosnan JA, Macgregor-Das AM, et al. Clinical significance of the genetic landscape of pancreatic cancer and implications for identification of potential long-term survivors. *Clin Cancer Res*. 2012;18(22):6339-47.
22. McCleary-Wheeler AL, McWilliams R, Fernandez-Zapico ME. Aberrant signaling pathways in pancreatic cancer: a two compartment view. *Mol Carcinog*. 2012;51(1):25-39.
23. Rhim AD, Stanger BZ. Molecular biology of pancreatic ductal adenocarcinoma progression: aberrant activation of developmental pathways. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2010;97:41-78.
24. Maitra A, Hruban RH. Pancreatic cancer. *Annu Rev Pathol*. 2008;3:157-88.
25. Müdürlüğü HSG. 2015 Türkiye Kanser İstatistikleri In: Müdürlüğü HSG, editor.: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2018.
26. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol*. 2018;24(43):4846-61.
27. Bosetti C, Lucenteforte E, Silverman DT, Petersen G, Bracci PM, Ji BT, et al. Cigarette smoking and pancreatic cancer: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (Panc4). *Ann Oncol*. 2012;23(7):1880-8.
28. 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.
29. Lynch SM, Vrieling A, Lubin JH, Kraft P, Mendelsohn JB, Hartge P, et al. Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. *Am J Epidemiol*. 2009;170(4):403-13.
30. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE, Bergkvist L, Bernstein L, van den Brandt PA, et al. Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(3):765-76.

31. Wang YT, Gou YW, Jin WW, Xiao M, Fang HY. Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer*. 2016;16:212.
32. Li D, Morris JS, Liu J, Hassan MM, Day RS, Bondy ML, et al. Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA*. 2009;301(24):2553-62.
33. Aune D, Greenwood DC, Chan DS, Vieira R, Vieira AR, Navarro Rosenblatt DA, et al. Body mass index, abdominal fatness and pancreatic cancer risk: a systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol*. 2012;23(4):843-52.
34. Paluszkiwicz P, Smolinska K, Debinska I, Turski WA. Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies. *Cancer Epidemiol*. 2012;36(1):60-7.
35. Larsson SC, Wolk A. Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies. *Br J Cancer*. 2012;106(3):603-7.
36. Bao Y, Hu FB, Giovannucci EL, Wolpin BM, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Nut consumption and risk of pancreatic cancer in women. *Br J Cancer*. 2013;109(11):2911-6.
37. Wu L, Wang Z, Zhu J, Murad AL, Prokop LJ, Murad MH. Nut consumption and risk of cancer and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 2015;73(7):409-25.
38. Appleby PN, Crowe FL, Bradbury KE, Travis RC, Key TJ. Mortality in vegetarians and comparable nonvegetarians in the United Kingdom. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(1):218-30.
39. Ojajarvi IA, Partanen TJ, Ahlbom A, Boffetta P, Hakulinen T, Jourenkova N, et al. Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2000;57(5):316-24.
40. Krieger AM, Soliman AS, Zhang Q, El-Ghawalby N, Ezzat F, Sultana A, et al. Serum cadmium levels in pancreatic cancer patients from the East Nile Delta region of Egypt. *Environ Health Perspect*. 2006;114(1):113-9.
41. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(1):7-34.
42. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1252-61.
43. Hruban RH, Canto MI, Goggins M, Schulick R, Klein AP. Update on familial pancreatic cancer. *Adv Surg*. 2010;44:293-311.
44. Lowenfels AB, Maisonneuve P, DiMagno EP, Elitsur Y, Gates LK, Jr., Perrault J, et al. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(6):442-6.

45. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A, Barzi F, Woodward M. Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer*. 2005;92(11):2076-83.
46. Maisonneuve P, Lowenfels AB. Risk factors for pancreatic cancer: a summary review of meta-analytical studies. *Int J Epidemiol*. 2015;44(1):186-98.
47. Risch HA, Yu H, Lu L, Kidd MS. ABO blood group, Helicobacter pylori seropositivity, and risk of pancreatic cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(7):502-5.
48. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2011;378(9791):607-20.
49. Ghiorzo P. Genetic predisposition to pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(31):10778-89.
50. Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon RZ, Fuchs CS, Petersen GM, Arslan AA, et al. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat Genet*. 2009;41(9):986-90.
51. Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, Chanock SJ, Kraft P, Hunter DJ, et al. ABO blood group and the risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(6):424-31.
52. Callery MP, Chang KJ, Fishman EK, Talamonti MS, William Traverso L, Linehan DC. Pretreatment assessment of resectable and borderline resectable pancreatic cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(7):1727-33.
53. (UK) NGA. Pancreatic cancer in adults: diagnosis and management.: London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2018 Feb. (NICE Guideline, No. 85.); 2018 [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536649/>].
54. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463-6.
55. Hasan S, Jacob R, Manne U, Paluri R. Advances in pancreatic cancer biomarkers. *Oncol Rev*. 2019;13(1):410.
56. Ballehaninna UK, Chamberlain RS. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(2):105-19.
57. Ishige F, Hoshino I, Iwatate Y, Chiba S, Arimitsu H, Yanagibashi H, et al. MIR1246 in body fluids as a biomarker for pancreatic cancer. *Sci Rep*. 2020;10(1):8723.
58. Hruban RH, Gaida MM, Thompson E, Hong SM, Noe M, Brosens LA, et al. Why is pancreatic cancer so deadly? The pathologist's view. *J Pathol*. 2019;248(2):131-41.
59. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(1):7-30.
60. Rao SS, Saha S. Timeliness of lung cancer diagnosis and treatment: a single-center experience. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2019;27(8):670-6.

61. Jones GS, Baldwin DR. Recent advances in the management of lung cancer. *Clin Med (Lond)*. 2018;18(Suppl 2):s41-s6.
62. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res*. 2004;64(24):8919-23.
63. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(5):339-46.
64. Warth A, Penzel R, Lindenmaier H, Brandt R, Stenzinger A, Herpel E, et al. EGFR, KRAS, BRAF and ALK gene alterations in lung adenocarcinomas: patient outcome, interplay with morphology and immunophenotype. *Eur Respir J*. 2014;43(3):872-83.
65. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50.
66. Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:479-507.
67. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339(6127):1546-58.
68. Cancer Genome Atlas N. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330-7.
69. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(1):26-38.
70. Collaborators GBDSC. The global, regional, and national burden of stomach cancer in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(1):42-54.
71. Ye DM, Xu G, Ma W, Li Y, Luo W, Xiao Y, et al. Significant function and research progress of biomarkers in gastric cancer. *Oncol Lett*. 2020;19(1):17-29.
72. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*. 2014;513(7517):202-9.
73. Sablina AA, Chen W, Arroyo JD, Corral L, Hector M, Bulmer SE, et al. The tumor suppressor PP2A Abeta regulates the RalA GTPase. *Cell*. 2007;129(5):969-82.
74. Moskalenko S, Tong C, Rosse C, Mirey G, Formstecher E, Daviet L, et al. Ral GTPases regulate exocyst assembly through dual subunit interactions. *J Biol Chem*. 2003;278(51):51743-8.
75. Kashatus DF, Lim KH, Brady DC, Pershing NL, Cox AD, Counter CM. RALA and RALBP1 regulate mitochondrial fission at mitosis. *Nat Cell Biol*. 2011;13(9):1108-15.
76. Skorobogatko Y, Dragan M, Cordon C, Reilly SM, Hung CW, Xia W, et al. RalA controls glucose homeostasis by regulating glucose uptake in brown fat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(30):7819-24.

77. DeMartino GN, Orth K, McCullough ML, Lee LW, Munn TZ, Moomaw CR, et al. The primary structures of four subunits of the human, high-molecular-weight proteinase, macropain (proteasome), are distinct but homologous. *Biochim Biophys Acta*. 1991;1079(1):29-38.
78. Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annu Rev Biochem*. 1996;65:801-47.
79. (OMIM) OMiM. RAS HOMOLOG GENE FAMILY, MEMBER F, FILOPODIA-ASSOCIATED; RHOF 2020 [Available from: <https://omim.org/entry/618867#4>].
80. Ellis S, Mellor H. The novel Rho-family GTPase rif regulates coordinated actin-based membrane rearrangements. *Curr Biol*. 2000;10(21):1387-90.
81. Fan L, Pellegrin S, Scott A, Mellor H. The small GTPase Rif is an alternative trigger for the formation of actin stress fibers in epithelial cells. *J Cell Sci*. 2010;123(Pt 8):1247-52.
82. Fan L, Yan H, Pellegrin S, Morigen, Mellor H. The Rif GTPase regulates cytoskeletal signaling from plexinA4 to promote neurite retraction. *Neurosci Lett*. 2015;590:178-83.
83. O00487 (PSDE\_HUMAN)- 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 [Internet]. December 2020 Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/O00487>.
84. Yao T, Cohen RE. A cryptic protease couples deubiquitination and degradation by the proteasome. *Nature*. 2002;419(6905):403-7.
85. Butler LR, Densham RM, Jia J, Garvin AJ, Stone HR, Shah V, et al. The proteasomal de-ubiquitinating enzyme POH1 promotes the double-strand DNA break response. *EMBO J*. 2012;31(19):3918-34.
86. P16333 (NCK1\_HUMAN)[Internet]. December 2020 Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P16333>.
87. Buday L, Wunderlich L, Tamas P. The Nck family of adapter proteins: regulators of actin cytoskeleton. *Cell Signal*. 2002;14(9):723-31.
88. Kremer BE, Adang LA, Macara IG. Septins regulate actin organization and cell-cycle arrest through nuclear accumulation of NCK mediated by SOCS7. *Cell*. 2007;130(5):837-50.
89. (OMIM) OMiM. ADP-RIBOSYLATION FACTOR 6; ARF6. [Internet]. December 2020 Available from: <https://omim.org/entry/600464>
90. Fang Z, Miao Y, Ding X, Deng H, Liu S, Wang F, et al. Proteomic identification and functional characterization of a novel ARF6 GTPase-activating protein, ACAP4. *Mol Cell Proteomics*. 2006;5(8):1437-49.
91. Gauthier-Campbell C, Bredt DS, Murphy TH, El-Husseini Ael D. Regulation of dendritic branching and filopodia formation in hippocampal neurons by specific acylated protein motifs. *Mol Biol Cell*. 2004;15(5):2205-17.
92. Matos P, Skaug J, Marques B, Beck S, Verissimo F, Gespach C, et al. Small GTPase Rac1: structure, localization, and expression of the human gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;277(3):741-51.

93. Reijnders MRF, Anson NM, Kousi M, Yue WW, Tan PL, Clarkson K, et al. RAC1 Missense Mutations in Developmental Disorders with Diverse Phenotypes. *Am J Hum Genet.* 2017;101(3):466-77.
94. Moore KA, Sethi R, Doanes AM, Johnson TM, Pracyk JB, Kirby M, et al. Rac1 is required for cell proliferation and G2/M progression. *Biochem J.* 1997;326 ( Pt 1):17-20.
95. Wu JS, Giuffra LA, Goodfellow PJ, Myers S, Carson NL, Anderson L, et al. The beta subunit locus of the human fibronectin receptor: DNA restriction fragment length polymorphism and linkage mapping studies. *Hum Genet.* 1989;83(4):383-90.
96. Goodfellow PJ, Nevanlinna HA, Gorman P, Sheer D, Lam G, Goodfellow PN. Assignment of the gene encoding the beta-subunit of the human fibronectin receptor (beta-FNR) to chromosome 10p11.2. *Ann Hum Genet.* 1989;53(1):15-22.
97. UniProt. UniProtKB - P05556 (ITB1\_HUMAN)-ITGB1 functions. December 2020 Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P05556#function>
98. Dulabon L, Olson EC, Taglienti MG, Eisenhuth S, McGrath B, Walsh CA, et al. Reelin binds alpha3beta1 integrin and inhibits neuronal migration. *Neuron.* 2000;27(1):33-44.
99. Friedland JC, Lee MH, Boettiger D. Mechanically activated integrin switch controls alpha5beta1 function. *Science.* 2009;323(5914):642-4.
100. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, et al. bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell.* 1993;74(4):597-608.
101. Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, et al. Mutations in BMP4 cause eye, brain, and digit developmental anomalies: overlap between the BMP4 and hedgehog signaling pathways. *Am J Hum Genet.* 2008;82(2):304-19.
102. Zupan LA, Steffens DL, Berry CA, Landt M, Gross RW. Cloning and expression of a human 14-3-3 protein mediating phospholipolysis. Identification of an arachidonoyl-enzyme intermediate during catalysis. *J Biol Chem.* 1992;267(13):8707-10.
103. Ogihara T, Isobe T, Ichimura T, Taoka M, Funaki M, Sakoda H, et al. 14-3-3 protein binds to insulin receptor substrate-1, one of the binding sites of which is in the phosphotyrosine binding domain. *J Biol Chem.* 1997;272(40):25267-74.
104. Li Y, Zou L, Li Q, Haibe-Kains B, Tian R, Li Y, et al. Amplification of LAPTM4B and YWHAZ contributes to chemotherapy resistance and recurrence of breast cancer. *Nat Med.* 2010;16(2):214-8.
105. Semba K, Nishizawa M, Miyajima N, Yoshida MC, Sukegawa J, Yamanashi Y, et al. yes-related protooncogene, syn, belongs to the protein-tyrosine kinase family. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(15):5459-63.
106. Palacios EH, Weiss A. Function of the Src-family kinases, Lck and Fyn, in T-cell development and activation. *Oncogene.* 2004;23(48):7990-8000.

107. Zamoyska R, Basson A, Filby A, Legname G, Lovatt M, Seddon B. The influence of the src-family kinases, Lck and Fyn, on T cell differentiation, survival and activation. *Immunol Rev.* 2003;191:107-18.
108. Lu KV, Zhu S, Cvrljevic A, Huang TT, Sarkaria S, Ahkavan D, et al. Fyn and SRC are effectors of oncogenic epidermal growth factor receptor signaling in glioblastoma patients. *Cancer Res.* 2009;69(17):6889-98.
109. Yadav V, Denning MF. Fyn is induced by Ras/PI3K/Akt signaling and is required for enhanced invasion/migration. *Mol Carcinog.* 2011;50(5):346-52.
110. Stambolic V, Woodgett JR. Mitogen inactivation of glycogen synthase kinase-3 beta in intact cells via serine 9 phosphorylation. *Biochem J.* 1994;303 ( Pt 3):701-4.
111. Lau KF, Miller CC, Anderton BH, Shaw PC. Molecular cloning and characterization of the human glycogen synthase kinase-3beta promoter. *Genomics.* 1999;60(2):121-8.
112. Plyte SE, Hughes K, Nikolakaki E, Pulverer BJ, Woodgett JR. Glycogen synthase kinase-3: functions in oncogenesis and development. *Biochim Biophys Acta.* 1992;1114(2-3):147-62.
113. Sun M, Song L, Li Y, Zhou T, Jope RS. Identification of an antiapoptotic protein complex at death receptors. *Cell Death Differ.* 2008;15(12):1887-900.
114. Beurel E, Jope RS. The paradoxical pro- and anti-apoptotic actions of GSK3 in the intrinsic and extrinsic apoptosis signaling pathways. *Prog Neurobiol.* 2006;79(4):173-89.
115. Mazaki Y, Hashimoto S, Sabe H. Monocyte cells and cancer cells express novel paxillin isoforms with different binding properties to focal adhesion proteins. *J Biol Chem.* 1997;272(11):7437-44.
116. P49023 (PAXI\_HUMAN)-Sequences [Internet]. December 2020 Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P49023#sequences>.
117. Kanchanawong P, Shtengel G, Pasapera AM, Ramko EB, Davidson MW, Hess HF, et al. Nanoscale architecture of integrin-based cell adhesions. *Nature.* 2010;468(7323):580-4.
118. Huang C, Rajfur Z, Borchers C, Schaller MD, Jacobson K. JNK phosphorylates paxillin and regulates cell migration. *Nature.* 2003;424(6945):219-23.
119. National Cancer Institute, The Cancer Genome Atlas Program 2019, December 2020 [Available from: <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>].
120. National Cancer Institute Outcomes and Impact of The Cancer Genome Atlas 2019, December 2020 [Available from: <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga/history>].
121. National Cancer Institute, NCI's Genome Characterization Pipeline. 2017.
122. Tomczak K, Czerwinska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemp Oncol (Pozn).* 2015;19(1A):A68-77.

123. Consortium GT. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. *Nat Genet.* 2013;45(6):580-5.
124. Consortium GT. Human genomics. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: multitissue gene regulation in humans. *Science.* 2015;348(6235):648-60.
125. Tang Z, Li C, Kang B, Gao G, Li C, Zhang Z. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(W1):W98-W102.
126. Tang Z, Kang B, Li C, Chen T, Zhang Z. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1):W556-W60.
127. Goldman MJ, Craft, B., Hastie, M. et al. Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform. *Nature Biotechnology* 2020.
128. Alpar R. *Uygulamalı İstatistik ve Geçerlik-Güvenirlik.* 4 ed: Detay Yayıncılık; 2016.
129. Chen JJ, Wang SJ, Tsai CA, Lin CJ. Selection of differentially expressed genes in microarray data analysis. *Pharmacogenomics J.* 2007;7(3):212-20.
130. Patterson TA, Lobenhofer EK, Fulmer-Smentek SB, Collins PJ, Chu TM, Bao W, et al. Performance comparison of one-color and two-color platforms within the MicroArray Quality Control (MAQC) project. *Nat Biotechnol.* 2006;24(9):1140-50.
131. Benjamini Y. HY. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological).* 1995;57(1):289-300.
132. GEPIA. Help-Differential analysis- Survival Analysis 2017 [Available from: <http://gepia.cancer-pku.cn/help.html>].
133. Tipney H, Hunter L. An introduction to effective use of enrichment analysis software. *Hum Genomics.* 2010;4(3):202-6.
134. Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc.* 2009;4(1):44-57.
135. Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):27-30.
136. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet.* 2000;25(1):25-9.
137. The Gene Ontology C. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D330-D8.
138. Jassal B, Matthews L, Viteri G, Gong C, Lorente P, Fabregat A, et al. The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D498-D503.
139. Zhou G, Xia J. Using OmicsNet for Network Integration and 3D Visualization. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2019;65(1):e69.

140. Zhou G, Xia J. OmicsNet: a web-based tool for creation and visual analysis of biological networks in 3D space. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(W1):W514-W22.
141. Binns D, Dimmer E, Huntley R, Barrell D, O'Donovan C, Apweiler R. QuickGO: a web-based tool for Gene Ontology searching. *Bioinformatics.* 2009;25(22):3045-6.
142. Dennis G, Jr., Sherman BT, Hosack DA, Yang J, Gao W, Lane HC, et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biol.* 2003;4(5):P3.
143. DAVID. DAVID- Technical Center- Tool Manuals- Functional Annotation Tool 2007 [Available from: [https://david.ncifcrf.gov/content.jsp?file=functional\\_annotation.html](https://david.ncifcrf.gov/content.jsp?file=functional_annotation.html)].
144. Hosack DA, Dennis G, Jr., Sherman BT, Lane HC, Lempicki RA. Identifying biological themes within lists of genes with EASE. *Genome Biol.* 2003;4(10):R70.
145. Clark TG, Bradburn MJ, Love SB, Altman DG. Survival analysis part I: basic concepts and first analyses. *Br J Cancer.* 2003;89(2):232-8.
146. Oliveros JC. (2007-2015) Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. [Available from: <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>].
147. Coordinators NR. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D7-19.
148. Wallrapp C, Hahnel S, Boeck W, Soder A, Mincheva A, Lichter P, et al. Loss of the Y chromosome is a frequent chromosomal imbalance in pancreatic cancer and allows differentiation to chronic pancreatitis. *Int J Cancer.* 2001;91(3):340-4.
149. Missiaglia E, Moore PS, Williamson J, Lemoine NR, Falconi M, Zamboni G, et al. Sex chromosome anomalies in pancreatic endocrine tumors. *Int J Cancer.* 2002;98(4):532-8.
150. Weledji EP, Enoworock G, Mokake M, Sinju M. How Grim is Pancreatic Cancer? *Oncol Rev.* 2016;10(1):294.
151. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
152. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(2):85-95.
153. McDonald OG, Li X, Saunders T, Tryggvadottir R, Mentch SJ, Warmoes MO, et al. Epigenomic reprogramming during pancreatic cancer progression links anabolic glucose metabolism to distant metastasis. *Nat Genet.* 2017;49(3):367-76.
154. Carrer A, Trefely S, Zhao S, Campbell SL, Norgard RJ, Schultz KC, et al. Acetyl-CoA Metabolism Supports Multistep Pancreatic Tumorigenesis. *Cancer Discov.* 2019;9(3):416-35.
155. Qin C, Yang G, Yang J, Ren B, Wang H, Chen G, et al. Metabolism of pancreatic cancer: paving the way to better anticancer strategies. *Mol Cancer.* 2020;19(1):50.

156. Grasso C, Jansen G, Giovannetti E. Drug resistance in pancreatic cancer: Impact of altered energy metabolism. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017;114:139-52.
157. Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, Buck MD, Noguchi T, Curtis JD, et al. Metabolic Competition in the Tumor Microenvironment Is a Driver of Cancer Progression. *Cell*. 2015;162(6):1229-41.
158. Gunda V, Soucek J, Abrego J, Shukla SK, Goode GD, Vernucci E, et al. MUC1-Mediated Metabolic Alterations Regulate Response to Radiotherapy in Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23(19):5881-91.
159. Mairinger FD, Walter RF, Theegarten D, Hager T, Vollbrecht C, Christoph DC, et al. Gene Expression Analysis of the 26S Proteasome Subunit PSMB4 Reveals Significant Upregulation, Different Expression and Association with Proliferation in Human Pulmonary Neuroendocrine Tumours. *J Cancer*. 2014;5(8):646-54.
160. Li Y, Huang J, Sun J, Xiang S, Yang D, Ying X, et al. The transcription levels and prognostic values of seven proteasome alpha subunits in human cancers. *Oncotarget*. 2017;8(3):4501-19.
161. Fu Z, Lu C, Zhang C, Qiao B. PSMA5 promotes the tumorigenic process of prostate cancer and is related to bortezomib resistance. *Anticancer Drugs*. 2019;30(7):e0773.
162. Arlt A, Bauer I, Schafmayer C, Tepel J, Muerkoster SS, Brosch M, et al. Increased proteasome subunit protein expression and proteasome activity in colon cancer relate to an enhanced activation of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2). *Oncogene*. 2009;28(45):3983-96.
163. Luo G, Hu N, Xia X, Zhou J, Ye C. RPN11 deubiquitinase promotes proliferation and migration of breast cancer cells. *Mol Med Rep*. 2017;16(1):331-8.
164. Qi L, Zhou B, Chen J, Hu W, Bai R, Ye C, et al. Significant prognostic values of differentially expressed-aberrantly methylated hub genes in breast cancer. *J Cancer*. 2019;10(26):6618-34.
165. Seo D, Jung SM, Park JS, Lee J, Ha J, Kim M, et al. The deubiquitinating enzyme PSMD14 facilitates tumor growth and chemoresistance through stabilizing the ALK2 receptor in the initiation of BMP6 signaling pathway. *EBioMedicine*. 2019;49:55-71.
166. Wang CH, Lu SX, Liu LL, Li Y, Yang X, He YF, et al. POH1 Knockdown Induces Cancer Cell Apoptosis via p53 and Bim. *Neoplasia*. 2018;20(5):411-24.
167. Zhu R, Liu Y, Zhou H, Li L, Li Y, Ding F, et al. Deubiquitinating enzyme PSMD14 promotes tumor metastasis through stabilizing SNAIL in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett*. 2018;418:125-34.
168. Yu W, Li J, Wang Q, Wang B, Zhang L, Liu Y, et al. Targeting POH1 inhibits prostate cancer cell growth and enhances the suppressive efficacy of androgen deprivation and docetaxel. *Prostate*. 2019;79(11):1304-15.
169. Laetsch TW, Liu X, Vu A, Sliozberg M, Vido M, Elci OU, et al. Multiple components of the spliceosome regulate Mcl1 activity in neuroblastoma. *Cell Death Dis*. 2014;5:e1072.

170. Yokoyama S, Iwakami Y, Hang Z, Kin R, Zhou Y, Yasuta Y, et al. Targeting PSMD14 inhibits melanoma growth through SMAD3 stabilization. *Sci Rep.* 2020;10(1):19214.
171. Zhang L, Xu H, Ma C, Zhang J, Zhao Y, Yang X, et al. Upregulation of deubiquitinase PSMD14 in lung adenocarcinoma (LUAD) and its prognostic significance. *J Cancer.* 2020;11(10):2962-71.
172. Lv J, Zhang S, Wu H, Lu J, Lu Y, Wang F, et al. Deubiquitinase PSMD14 enhances hepatocellular carcinoma growth and metastasis by stabilizing GRB2. *Cancer Lett.* 2020;469:22-34.
173. Song Y, Li S, Ray A, Das DS, Qi J, Samur MK, et al. Blockade of deubiquitylating enzyme Rpn11 triggers apoptosis in multiple myeloma cells and overcomes bortezomib resistance. *Oncogene.* 2017;36(40):5631-8.
174. Wang B, Xu X, Yang Z, Zhang L, Liu Y, Ma A, et al. POH1 contributes to hyperactivation of TGF-beta signaling and facilitates hepatocellular carcinoma metastasis through deubiquitinating TGF-beta receptors and caveolin-1. *EBioMedicine.* 2019;41:320-32.
175. Wang L, Zhou W, Li H, Yang H, Shan N. Clinical Significance, Cellular Function, and Potential Molecular Pathways of CCT7 in Endometrial Cancer. *Front Oncol.* 2020;10:1468.
176. Li KY, Yuan JL, Trafton D, Wang JX, Niu N, Yuan CH, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma immune microenvironment and immunotherapy prospects. *Chronic Dis Transl Med.* 2020;6(1):6-17.
177. Comba A, Dunn PJ, Argento AE, Kadiyala P, Ventosa M, Patel P, et al. Fyn tyrosine kinase, a downstream target of receptor tyrosine kinases, modulates antiglioma immune responses. *Neuro Oncol.* 2020;22(6):806-18.
178. Zhuang H, Zhou Z, Ma Z, Li Z, Liu C, Huang S, et al. Characterization of the prognostic and oncologic values of ITGB superfamily members in pancreatic cancer. *J Cell Mol Med.* 2020.
179. Han X, Han Y, Jiao H, Jie Y. 14-3-3zeta regulates immune response through Stat3 signaling in oral squamous cell carcinoma. *Mol Cells.* 2015;38(2):112-21.
180. Wang X, Shen H, Zhangyuan G, Huang R, Zhang W, He Q, et al. 14-3-3zeta delivered by hepatocellular carcinoma-derived exosomes impaired anti-tumor function of tumor-infiltrating T lymphocytes. *Cell Death Dis.* 2018;9(2):159.
181. D'Errico G, Alonso-Nocelo M, Vallespinos M, Hermann PC, Alcalá S, García CP, et al. Tumor-associated macrophage-secreted 14-3-3zeta signals via AXL to promote pancreatic cancer chemoresistance. *Oncogene.* 2019;38(27):5469-85.
182. Melzer C, Hass R, von der Ohe J, Lehnert H, Ungefroren H. The role of TGF-beta and its crosstalk with RAC1/RAC1b signaling in breast and pancreas carcinoma. *Cell Commun Signal.* 2017;15(1):19.
183. Guo F, Jiao D, Sui GQ, Sun LN, Gao YJ, Fu QF, et al. Anticancer effect of YWHAZ silencing via inducing apoptosis and autophagy in gastric cancer cells. *Neoplasma.* 2018;65(5):693-700.

184. Yan Y, Hein AL, Etekpó A, Burchett KM, Lin C, Enke CA, et al. Inhibition of RAC1 GTPase sensitizes pancreatic cancer cells to gamma-irradiation. *Oncotarget*. 2014;5(21):10251-70.
185. Zhao X, Liu J, Peng M, Liu J, Chen F. BMP4 is involved in the chemoresistance of myeloid leukemia cells through regulating autophagy-apoptosis balance. *Cancer Invest*. 2013;31(8):555-62.
186. Marchand B, Tremblay I, Cagnol S, Boucher MJ. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 activity triggers an apoptotic response in pancreatic cancer cells through JNK-dependent mechanisms. *Carcinogenesis*. 2012;33(3):529-37.
187. Ding L, Madamsetty VS, Kiers S, Alekhina O, Ugolkov A, Dube J, et al. Glycogen Synthase Kinase-3 Inhibition Sensitizes Pancreatic Cancer Cells to Chemotherapy by Abrogating the TopBP1/ATR-Mediated DNA Damage Response. *Clin Cancer Res*. 2019;25(21):6452-62.
188. Ougolkov AV, Fernandez-Zapico ME, Savoy DN, Urrutia RA, Billadeau DD. Glycogen synthase kinase-3beta participates in nuclear factor kappaB-mediated gene transcription and cell survival in pancreatic cancer cells. *Cancer Res*. 2005;65(6):2076-81.
189. Schniewind B, Christgen M, Kurdow R, Haye S, Kremer B, Kalthoff H, et al. Resistance of pancreatic cancer to gemcitabine treatment is dependent on mitochondria-mediated apoptosis. *Int J Cancer*. 2004;109(2):182-8.
190. Sharma J, Srinivasan R, Majumdar S, Mir S, Radotra BD, Wig JD. Bcl-XL protein levels determine apoptotic index in pancreatic carcinoma. *Pancreas*. 2005;30(4):337-42.
191. Ye Z, Hu Q, Zhuo Q, Zhu Y, Fan G, Liu M, et al. Abrogation of ARF6 promotes RSL3-induced ferroptosis and mitigates gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells. *Am J Cancer Res*. 2020;10(4):1182-93.
192. Liang C, Qin Y, Zhang B, Ji S, Shi S, Xu W, et al. ARF6, induced by mutant Kras, promotes proliferation and Warburg effect in pancreatic cancer. *Cancer Lett*. 2017;388:303-11.

193. Welch DR, Hurst DR. Defining the Hallmarks of Metastasis. *Cancer Res.* 2019;79(12):3011-27.
194. Chen ZY, Cai L, Bie P, Wang SG, Jiang Y, Dong JH, et al. Roles of Fyn in pancreatic cancer metastasis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25(2):293-301.
195. Je DW, O YM, Ji YG, Cho Y, Lee DH. The inhibition of SRC family kinase suppresses pancreatic cancer cell proliferation, migration, and invasion. *Pancreas.* 2014;43(5):768-76.
196. Xia P, Huang M, Zhang Y, Xiong X, Yan M, Xiong X, et al. NCK1 promotes the angiogenesis of cervical squamous carcinoma via Rac1/PAK1/MMP2 signal pathway. *Gynecol Oncol.* 2019;152(2):387-95.
197. Zhang F, Lu YX, Chen Q, Zou HM, Zhang JM, Hu YH, et al. Identification of NCK1 as a novel downstream effector of STAT3 in colorectal cancer metastasis and angiogenesis. *Cell Signal.* 2017;36:67-78.
198. Huang M, Anand S, Murphy EA, Desgrosellier JS, Stupack DG, Shattil SJ, et al. EGFR-dependent pancreatic carcinoma cell metastasis through Rap1 activation. *Oncogene.* 2012;31(22):2783-93.
199. Lu Y, Hu J, Sun W, Li S, Deng S, Li M. MiR-29c inhibits cell growth, invasion, and migration of pancreatic cancer by targeting ITGB1. *Onco Targets Ther.* 2016;9:99-109.
200. Arao S, Masumoto A, Otsuki M. Beta1 integrins play an essential role in adhesion and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Pancreas.* 2000;20(2):129-37.
201. Grzesiak JJ, Tran Cao HS, Burton DW, Kaushal S, Vargas F, Clopton P, et al. Knockdown of the beta(1) integrin subunit reduces primary tumor growth and inhibits pancreatic cancer metastasis. *Int J Cancer.* 2011;129(12):2905-15.
202. Neupane D, Korc M. 14-3-3sigma Modulates pancreatic cancer cell survival and invasiveness. *Clin Cancer Res.* 2008;14(23):7614-23.
203. Nishimura Y, Komatsu S, Ichikawa D, Nagata H, Hirajima S, Takeshita H, et al. Overexpression of YWHAZ relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of gastric carcinoma. *Br J Cancer.* 2013;108(6):1324-31.
204. Shi J, Ye J, Fei H, Jiang SH, Wu ZY, Chen YP, et al. YWHAZ promotes ovarian cancer metastasis by modulating glycolysis. *Oncol Rep.* 2019;41(2):1101-12.
205. Lu J, Guo H, Treekitkarnmongkol W, Li P, Zhang J, Shi B, et al. 14-3-3zeta Cooperates with ErbB2 to promote ductal carcinoma in situ progression to invasive breast cancer by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell.* 2009;16(3):195-207.
206. Deng Y, Zheng J, Ma J. The clinical and prognostic significance of YWHAZ in non-small-cell lung cancer patients: Immunohistochemical analysis. *J Cell Biochem.* 2019;120(4):6290-8.
207. Tang Y, Liu S, Li N, Guo W, Shi J, Yu H, et al. 14-3-3zeta promotes hepatocellular carcinoma venous metastasis by modulating hypoxia-inducible factor-1alpha. *Oncotarget.* 2016;7(13):15854-67.

208. Shibue T, Brooks MW, Inan MF, Reinhardt F, Weinberg RA. The outgrowth of micrometastases is enabled by the formation of filopodium-like protrusions. *Cancer Discov.* 2012;2(8):706-21.
209. Li S, Liu Y, Bai Y, Chen M, Cheng D, Wu M, et al. RHOA promotes hepatocellular carcinoma metastasis by altering the metabolic status of cancer cells via RAB3D. *Hepatology.* 2020.
210. Lim KH, O'Hayer K, Adam SJ, Kendall SD, Campbell PM, Der CJ, et al. Divergent roles for RalA and RalB in malignant growth of human pancreatic carcinoma cells. *Curr Biol.* 2006;16(24):2385-94.
211. Cruz-Monserrate Z, O'Connor KL. Integrin alpha 6 beta 4 promotes migration, invasion through Tiam1 upregulation, and subsequent Rac activation. *Neoplasia.* 2008;10(5):408-17.
212. Guo X, Wang M, Jiang J, Xie C, Peng F, Li X, et al. Balanced Tiam1-rac1 and RhoA drives proliferation and invasion of pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Res.* 2013;11(3):230-9.
213. Witte D, Bartscht T, Kaufmann R, Pries R, Settmacher U, Lehnert H, et al. TGF-beta1-induced cell migration in pancreatic carcinoma cells is RAC1 and NOX4-dependent and requires RAC1 and NOX4-dependent activation of p38 MAPK. *Oncol Rep.* 2017;38(6):3693-701.
214. Lu W, Wei W, de Bock GH, Zhou H, Li Q, Shen X. The roles of Wnt5a, JNK and paxillin in the occurrence of metastasis of pancreatic adenocarcinoma. *Int J Clin Oncol.* 2014;19(6):1011-9.
215. Wen L, Zhang X, Zhang J, Chen S, Ma Y, Hu J, et al. Paxillin knockdown suppresses metastasis and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer via the ERK signalling pathway. *Oncol Rep.* 2020;44(3):1105-15.
216. Haider S, Wang J, Nagano A, Desai A, Arumugam P, Dumartin L, et al. A multi-gene signature predicts outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genome Med.* 2014;6(12):105.
217. Gordon KJ, Kirkbride KC, How T, Blobe GC. Bone morphogenetic proteins induce pancreatic cancer cell invasiveness through a Smad1-dependent mechanism that involves matrix metalloproteinase-2. *Carcinogenesis.* 2009;30(2):238-48.
218. Hamada S, Satoh K, Hirota M, Kimura K, Kanno A, Masamune A, et al. Bone morphogenetic protein 4 induces epithelial-mesenchymal transition through MSX2 induction on pancreatic cancer cell line. *J Cell Physiol.* 2007;213(3):768-74.

## 8. EKLER

### EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzini



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-1494

Konu :

04.09.2018

**Dr. Öğr. Üyesi Ceren SUCULARLI**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Biyoinformatik Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi

**Sayın Dr. Öğr. Üyesi SUCULARLI,**

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunduğunuz GO 18/894 kayıt numaralı ve **“Dört Farklı Kansere Ait Transkriptom Verisinin İn Silico Karşılaştırılması ve Pankreas Kanserine Özgü Biyobelirteç Adaylarının Belirlenmesi”** başlıklı proje Kurulumuzun 04.09.2018 tarihli toplantısında değerlendirilmiş olup, çalışmanın açık veri tabanlarından elde edilecek veri seti kullanılarak tamamlanacağı görülmüştür. Gönüllü insanlar üzerinde gerçekleştirilecek nitelikte olmayan bu tip çalışmalar Etik Kurulların kapsamı dışında kalmaktadır.

Bu yazı ilgili protokolün etik açıdan incelendiğini belirtmek için Etik Kurul kararı yerine geçmek üzere hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Nürten AKARSU  
Başkan

EK \_\_\_\_\_ :  
Toplantı Katılım Tutanağı.

**EK-2: QuickGO ile Analiz Edilen GO-BP Terimleri**

<b>Term</b>	<b>Count</b>	<b>P Value</b>	<b>Benjamini</b>
GO:0006955~immune response	156	3.56E-24	1.39E-20
GO:0007155~cell adhesion	148	5.12E-20	9.99E-17
GO:0022610~biological adhesion	148	5.88E-20	7.65E-17
GO:0006928~cell motion	113	2.34E-19	2.28E-16
GO:0009611~response to wounding	120	1.04E-18	8.11E-16
GO:0030036~actin cytoskeleton organization	69	6.44E-18	4.19E-15
GO:0030029~actin filament-based process	71	1.69E-17	9.43E-15
GO:0006952~defense response	119	4.14E-13	2.02E-10
GO:0007010~cytoskeleton organization	93	7.39E-13	3.21E-10
GO:0006954~inflammatory response	76	1.06E-12	4.15E-10
GO:0007015~actin filament organization	31	1.21E-12	4.29E-10
GO:0050865~regulation of cell activation	48	8.68E-11	2.82E-08
GO:0002684~positive regulation of immune system process	58	1.25E-10	3.76E-08
GO:0050867~positive regulation of cell activation	36	1.95E-10	5.45E-08
GO:0001775~cell activation	65	2.32E-10	6.04E-08
GO:0016477~cell migration	63	3.25E-10	7.92E-08
GO:0045321~leukocyte activation	57	7.30E-10	1.68E-07
GO:0001944~vasculature development	58	1.10E-09	2.38E-07
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	44	1.86E-09	3.82E-07
GO:0001568~blood vessel development	56	3.34E-09	6.53E-07
GO:0002696~positive regulation of leukocyte activation	33	3.93E-09	7.30E-07
GO:0010033~response to organic substance	120	6.63E-09	1.18E-06
GO:0042110~T cell activation	36	8.47E-09	1.44E-06
GO:0046649~lymphocyte activation	48	8.53E-09	1.39E-06
GO:0030198~extracellular matrix organization	32	9.62E-09	1.50E-06
GO:0048870~cell motility	64	1.05E-08	1.58E-06
GO:0051674~localization of cell	64	1.05E-08	1.58E-06
GO:0048514~blood vessel morphogenesis	49	2.13E-08	3.09E-06
GO:0051251~positive regulation of lymphocyte activation	30	2.67E-08	3.72E-06
GO:0042127~regulation of cell proliferation	126	2.80E-08	3.77E-06
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	38	6.81E-08	8.86E-06
GO:0032535~regulation of cellular component size	56	1.32E-07	1.67E-05
GO:0008064~regulation of actin polymerization or depolymerization	22	1.54E-07	1.88E-05
GO:0042060~wound healing	44	1.57E-07	1.86E-05
GO:0042981~regulation of apoptosis	125	1.73E-07	1.98E-05
GO:0042330~taxis	39	1.93E-07	2.15E-05
GO:0006935~chemotaxis	39	1.93E-07	2.15E-05
GO:0050863~regulation of T cell activation	32	1.93E-07	2.09E-05
GO:0010941~regulation of cell death	126	2.09E-07	2.20E-05
GO:0001525~angiogenesis	37	2.14E-07	2.19E-05
GO:0030832~regulation of actin filament length	22	2.88E-07	2.88E-05
GO:0043254~regulation of protein complex assembly	27	2.95E-07	2.88E-05
GO:0043067~regulation of programmed cell death	125	2.99E-07	2.85E-05
GO:0031589~cell-substrate adhesion	28	5.03E-07	4.67E-05
GO:0050870~positive regulation of T cell activation	24	5.69E-07	5.16E-05

GO:0010740~positive regulation of protein kinase cascade	39	6.16E-07	5.46E-05
GO:0010627~regulation of protein kinase cascade	51	6.84E-07	5.94E-05
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	14	6.90E-07	5.85E-05
GO:0051094~positive regulation of developmental process	55	7.45E-07	6.19E-05
GO:0045597~positive regulation of cell differentiation	48	7.66E-07	6.23E-05
GO:0002474~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I	11	8.31E-07	6.62E-05
GO:0007160~cell-matrix adhesion	26	8.89E-07	6.94E-05
GO:0032271~regulation of protein polymerization	22	1.21E-06	9.27E-05
GO:0008219~cell death	111	1.33E-06	1.00E-04
GO:0007264~small GTPase mediated signal transduction	58	1.37E-06	1.01E-04
GO:0002252~immune effector process	33	1.54E-06	1.11E-04
GO:0010942~positive regulation of cell death	75	1.70E-06	1.20E-04
GO:0016265~death	111	1.90E-06	1.32E-04
GO:0030833~regulation of actin filament polymerization	19	2.02E-06	1.39E-04
GO:0044087~regulation of cellular component biogenesis	34	2.03E-06	1.36E-04
GO:0012501~programmed cell death	97	2.03E-06	1.35E-04
GO:0007229~integrin-mediated signaling pathway	22	2.05E-06	1.33E-04
GO:0043065~positive regulation of apoptosis	74	2.15E-06	1.38E-04
GO:0009967~positive regulation of signal transduction	56	2.24E-06	1.41E-04
GO:0043062~extracellular structure organization	37	2.54E-06	1.58E-04
GO:0043068~positive regulation of programmed cell death	74	2.80E-06	1.70E-04
GO:0043122~regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade	28	3.25E-06	1.95E-04
GO:0006915~apoptosis	95	3.43E-06	2.03E-04
GO:0032269~negative regulation of cellular protein metabolic process	39	4.27E-06	2.49E-04
GO:0051248~negative regulation of protein metabolic process	40	4.38E-06	2.51E-04
GO:0043123~positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade	26	4.95E-06	2.80E-04
GO:0007159~leukocyte adhesion	13	5.28E-06	2.94E-04
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	24	6.01E-06	3.30E-04
GO:0010647~positive regulation of cell communication	59	7.40E-06	4.01E-04
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	21	8.16E-06	4.36E-04
GO:0045087~innate immune response	32	8.62E-06	4.55E-04
GO:0050727~regulation of inflammatory response	22	8.69E-06	4.52E-04
GO:0051270~regulation of cell motion	40	9.64E-06	4.95E-04
GO:0008283~cell proliferation	72	1.30E-05	6.59E-04
GO:0006917~induction of apoptosis	57	1.33E-05	6.64E-04
GO:0012502~induction of programmed cell death	57	1.46E-05	7.21E-04
GO:0033559~unsaturated fatty acid metabolic process	17	1.78E-05	8.70E-04
GO:0007242~intracellular signaling cascade	168	1.95E-05	9.39E-04
GO:0031348~negative regulation of defense response	14	2.01E-05	9.55E-04
GO:0030155~regulation of cell adhesion	31	2.03E-05	9.54E-04

**EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu****Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: **Sidika Öztop**  
Ödev başlığı: **SIDIKA ÖZTOP-TEZ-2**  
Gönderi Başlığı: **DÖRT FARKLI KANSERE AİT TRAN..**  
Dosya adı: **O\_ZGU\_BI\_YOBELI\_RTEC\_ADAYL...**  
Dosya boyutu: **2.42M**  
Sayfa sayısı: **41**  
Kelime sayısı: **8,448**  
Karakter sayısı: **56,967**  
Gönderim Tarihi: **22-Şub-2021 05:00PM (UTC+0300)**  
Gönderim Numarası: **1515197122**



## DÖRT FARKLI KANSERE AİT TRANSKRİPTOM VERİSİNİN İN SILICO KARŞILAŞTIRILMASI VE PANKREAS KANSERİNE ÖZGÜ BİYOBELİRTEÇ ADAYLARININ BELİRLENMESİ

### ORJİNALLİK RAPORU

<b>%4</b>	<b>%3</b>	<b>%1</b>	<b>%0</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://www.biyoinformatik.hacettepe.edu.tr">www.biyoinformatik.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>2</b>	<a href="http://earsiv.etu.edu.tr">earsiv.etu.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>3</b>	<a href="http://birdgenenames.org">birdgenenames.org</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>4</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>5</b>	Ashutosh Tiwari, Kojiro Tashiro, Ajay Dixit, Aditi Soni et al. "Loss of HIF1A From Pancreatic Cancer Cells Increases Expression of PPP1R1B and Degradation of p53 to Promote Invasion and Metastasis", Gastroenterology, 2020 Yayın	<b>&lt;%1</b>
<b>6</b>	<a href="http://www.cancerindex.org">www.cancerindex.org</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

