



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**PANKREAS KANSERLİ HASTALARDA OGG1 EKSPRESYONU ve
PROMOTÖR METİLASYONUNUN SAĞ KALIM SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Çağlayan AKKAYA ENGİN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yıldız DİNÇER**

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Haziran, 2023



Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

PANKREAS KANSERLİ HASTALARDA OGG1 EKSPRESYONU ve PROMOTÖR METİLASYONUNUN SAĞ KALIM SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TDK-2019-33970

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora eğitimim süresince katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Hüseyin Avni Sönmez başta olmak üzere tüm hocalarıma,

Eğitim sürecimde her gün kendisinden yeni bilgiler edindiğim, tezimin hazırlanmasında büyük bir özveri ve katkıda bulunan değerli danışman hocam Prof. Dr. Yıldız DİNÇER'e

Çalışmam süresince her türlü desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, immünohistokimya yöntemini bana kazandıran Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR ve doktora öğrencisi Metehan KARATAŞ'a

Tez çalışmamda hasta grubunun belirlenmesindeki katkılarından dolayı Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nevra DURSUN KEPKER'e, İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Enver YARIKKAYA'ya; hasta dosyalarına ulaşmamı ve tezimde organizasyonu sağlayan İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Yalçın HACIOĞLU'na,

Eğitimim boyunca her anımda yanımda olan, her zaman desteklerini ve yardımlarını gördüğüm, değerli dostlarım Doç. Dr. Karolin YANAR ve Dr. Öğr. Üyesi Duygu VARDAĞLI'ya,

Eğitimim boyunca desteği ile yanımda olan sevgili eşim Samet ENGİN'e

Hayatımın her anında koşulsuz ve daima destekleyicim olan, beni bu günlere getiren sevgili ANNEM ve BABAM'a

teşekkür ederim.

Haziran 2023

Çağlayan AKKAYA ENGİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	
BÜTÇE DESTEKLERİ	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	5
2.1. PANKREAS	5
2.2. PANKREAS KANSERİ	7
2.2.1. Pankreas Kanserinin Epidemiyolojisi	7
2.2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri	8
2.2.3. Pankreas Kanserinin Histolojik Tipleri	18
2.2.4. Moleküler Patogenezi.....	19
2.2.5. Genetik Değişiklikler	21
2.2.6. Hastalığın Kliniği	25
2.2.7. Tedavi.....	27
2.3. DNA HASARI	28
2.3.1. DNA Hasar Tipleri	28

2.3.2. DNA Tamir Mekanizmaları	33
2.4. EPİGENETİK	38
2.4.1. DNA Metilasyonu	40
3. YÖNTEM	45
3.1. GEREÇLER.....	45
3.2. KİMYASALLAR	46
3.3. HASTA ve KONTROL GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ	46
3.4. YÖNTEMLER.....	47
3.4.1. DNA İzolasyonu.....	48
3.4.2. DNA'nın Bisülfıt Modifikasyonu	50
3.4.3. MSP Yöntemi Kullanılarak OGG1 Promotör Metilasyonunun Belirlenmesi.....	54
3.4.4. İmmünohistokimya.....	59
3.4.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	61
4. BULGULAR	62
5. TARTIŞMA.....	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
KAYNAKLAR.....	79
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	103
ETİK KURUL İZİN YAZISI	104
KURUM İZNİ YAZILARI.....	105
ÖZGEÇMİŞ.....	

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Pankreas anatomik parçaları.....	6
Şekil 2.2: Endokrin ve ekzokrin pankreas.	7
Şekil 2.3: Normal pankreatik kanal yapısından pankreas adenokarsinomuna ilerleme sırasındaki olaylar.....	20
Şekil 2.4: Pankreas adenokarsinomunda gerçekleşen genetik değişiklikler.....	23
Şekil 2.5: DNA hasarı.....	28
Şekil 2.6: ROS oluşumu ve DNA'ya etkileri.	30
Şekil 2.7: Hidroksil radikalının guanin ile reaksiyonları.....	31
Şekil 2.8: 8-oksoG'nin 8-OH-Gua ve FapyGua oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonları.	32
Şekil 2.9: G→T transversiyon mutasyonunun oluşumu.....	33
Şekil 2.10: DNA hasar kaynakları, lezyonlar ve tamir yolları.	34
Şekil 2.11: Monofonksiyonel glikozilazlar tarafından başlatılan klasik BER mekanizması. ..	36
Şekil 2.12: Bifonksiyonel glikozilazlar tarafından başlatılan BER mekanizması.....	36
Şekil 2.13: Çevresel faktörler ve fenotipik değişiklikler arasındaki bağlantıyı sağlayan epigenetik mekanizmalar.....	39
Şekil 2.14: SAM varlığında DNMT tarafından katalizlenen sitozinin 5'konumundan metilasyonu.....	41
Şekil 3.1: Sitozinin bisülfid dönüşümü.	51
Şekil 3.2: Standart eğri grafiği.....	56
Şekil 3.3: DNA standartlarına ait amplifikasyon eğrileri.	58
Şekil 3.4: Tümör doku örneklerine ait amplifikasyon eğrileri.	58
Şekil 3.5: Normal doku örneklerine ait amplifikasyon eğrileri.	59
Şekil 4.1: Metilasyon sınıflandırması ve immüno pozitiflik.	66

Şekil 4.2: Pankreas adenokarsinom tümörlerindeki hOGG1 promotör metilasyon yüzdelerinin prediktif potansiyelini gösteren ROC eğrisi. 68



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Pankreas neoplazmları ve alt tipleri.	19
Tablo 2.2: TNM evreleme sistemi (8.bs.).....	26
Tablo 2.3: TNM evreleme sistemine göre evre grupları (8.bs.).	27
Tablo 3.1: OGG1 primer özellikleri.	54
Tablo 3.2: DNA standartları.	55
Tablo 3.3: Reaksiyon karışımı.....	56
Tablo 3.4: MPS reaksiyon koşulları.	57
Tablo 4.1: Hastalara ait demografik veriler ve klinopatolojik veriler.	62
Tablo 4.2: Hastalara ait klinopatolojik veriler.....	63
Tablo 4.3: IHC skorum.	63
Tablo 4.4: hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.....	64
Tablo 4.5: Kadın OGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.	64
Tablo 4.6: Erkek OGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.	64
Tablo 4.7: TNM evre gruplarında hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri, hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.	65
Tablo 4.8: Tümör dokuda metilasyon sınıflandırmasına göre hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.	66
Tablo 4.9: Tümör dokuda hOGG1 IHC skor sınıflandırmasına göre % metilasyon ve sağ kalım süreleri.	67
Tablo 4.10: Kesim değerine göre gruplarda hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.	68
Tablo 4.11: Korelasyonlar 1.	70
Tablo 4.12: Korelasyonlar 2.	71
Tablo 4.13: Korelasyonlar 3.	72

Tablo 4.14: Korelasyonlar 4.	73
-----------------------------------	----



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
δ	: Delta
κ	: Kappa
λ	: Lamda

Kisaltmalar Açıklama

$^1\text{O}_2$	: Singlet oksijen
5-mC	: 5-metilsitozin
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
8-OHGua	: 8-hidroksiguanin
8-oksoG	: 7,8-dihidro-8-oksoguanin
ADH	: Alkol dehidrojenaz
AFP	: Alfa feto protein
AJCC	: Amerikan Ortak Kanser Komitesi
ALDH	: Aldehid dehidrojenaz
ALP	: Alkalen fosfataz
AP	: Abazik/apürinik/aprimidinik
APE1	: AP-endonükleaz 1
ARF/p14	: Alternatif okuma çerçevesi geni/protein 14
BER	: Baz eksizyon onarımı
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CA-125	: Karbohidrat antijen 125
CA-15-3	: Karbohidrat antijen 15-3
CA-19-9	: Karbohidrat antijen 19-9
CDK 4/6	: Siklin bağımlı kinaz 4 ve 6
CDKN2A/B	: Siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A/B

CEA	: Karsinoembriyonik antijen
CpG	: Sitozin-guanin dinükleotid
DAB	: 3,3'-diaminobenzidin
dAMP	: Deoksiadenozin 5'-monofosfat
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNMT	: DNA metiltransferaz
dRP	: 5'-deoksiribozfosfat
DSB	: Çift zincir kırıkları
EMT	: Epitelyal mezenkimal geçiş
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi
EUS	: Endoskopik ultrason
EPIC	: Avrupa Prosoektif Kanser Araştırması
EUROCORE-5	: Avrupa Kanser Kayıt Temelli Çalışma-5
FAMMM	: Ailesel atipik çoklu mole melanom
FapyGua	: 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin
FOLFIRINOX	: 5-fluorourasil, lökovorin, irinotekan, oksaliplatin
GDP	: Guanozin difosfat
GGT	: Gamma glutamil transferaz
GLOBOCAN	: Küresel kanser istatistikleri
GTP	: Guanozin trifosfat
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
hOGG1	: İnsan 8-Oksoguanin DNA glikosilaz 1
H.pylori	: <i>Helicobacter pylori</i>
HRR	: Homolog rekombinasyon tamiridir
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IHC	: İmmünohistokimyasal skrolama
INK4A/p16	: Siklin bağımlı kinaz 4 inhibitör geni/ protein 16
IPMN	: İntraduktal papiller müsinöz neoplazma
JAK2/STAT3	: Janus kinaz / sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
KRAS	: Kirsten rat sarcoma virüs
MCN	: Müsinöz kistik neoplazma
mCyt	: Metillenmiş sitozin
MDM2	: Mouse double minute 2 homolog

MMR	: Yanlış eşleşme tamiri
MRI	: Manyetik rezonans
MSP	: Metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonu
MUC4	: Musin 4
NER	: Nükleotid eksizyon tamiri
NHEJ	: Homolog olmayan uç birleştirme tamiri
O₂^{•-}	: Süperoksit radikali
OD	: Optik yoğunluk
•OH	: Hidroksil radikali
OGG1	: 8-Oksoguanin DNA glikosilaz 1
PanIN	: Pankreas intraepitelyal neoplazisi
PBS	: Fosfat tuz tamponu
PDAC	: Pankreas duktal adenokarsinomu
PET	: Pozitron emisyon tomografisi
PI3K	: Fosfatidil inositol 3 kinaz
PNK	: 3'-fosfat grubu polinükleotit kinaz
Pol β	: Polimeraz beta
PRSS1	: Katyonik tripsinojen geni
RB	: Retinoblastoma duyarlı tümör baskılayıcı protein
ROC	: Receiver operating characteristic
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RR	: Rölatif risk
SAM	: S-adenosil metionin
SEER	: Sürveyans, Epidemiyoloji ve Sonuç Raporları
SMAD4	: Mothers against decapentaplegic homolog 4
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SPINK1	: Serin proteaz inhibitörü kazal tip 1
SSB	: Tek zincir kırıkları
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TP53	: Tümör protein 53
UV	: Ultraviyole
VKİ	: Vücut kitle endeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XRCC1	: X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı protein 1

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[PANKREAS KANSERLİ HASTALARDA OGG1 EKSPRESYONU ve PROMOTÖR METİLASYONUNUN SAĞ KALIM SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ]

[Çağlayan AKKAYA ENGİN]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

[Danışman : Prof. Dr. Yıldız DİNÇER]

[Amaç: Pankreas adenokarsinomu invaziv ve kemoterapiye direnç göstermesi nedeniyle oldukça ölümcül bir hastalıktır. Bu çalışmada amaç pankreas kanserli hastalarda DNA onarımında görev alan hOGG1 (8-Oksoguanin DNA glikosilaz 1) geninin ekspresyon ve promotör bölge metilasyonunun hastaların sağ kalım süresi ile ilişkisini belirleyerek, tedavi yanıtını öngörebilecek, sağ kalım süresini uzatabilecek moleküler bir belirteç ve yeni bir epigenetik tedavi hedefi tanımlamaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada yeni pankreas adenokarsinom tanısı almış 50 hastadan alınan tümör doku örnekleri ve tümöre komşu normal doku örnekleri kullanıldı. Formalinle fiks edilmiş parafin doku kesitlerinden total DNA kit ile izole edildi. DNA örneklerinde bisülfid modifikasyonu sonrasında hOGG1 promotör metilasyonu metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi. Tümör ve normal pankreas dokularda hOGG1 ekspresyonu Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi kullanılarak immunohistokimyasal boyama ile belirlendi.

Bulgular: DNA onarım geni hOGG1 promotör metilasyonu pankreas tümör dokusunda normal pankreas dokusuna göre yüksek bulundu. Tümör ve normal pankreas dokusundaki hOGG1 ekspresyon IHC skoru açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Kadın ve erkekler hOGG1 promotör metilasyonu, hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağ kalım süreleri açısından karşılaştırıldığında erkeklerde tümör dokuda normal dokuya kıysla hOGG1 promotör metilasyonu yüksek bulundu. hOGG1 promotör metilasyonu, hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağ kalım süreleri arasında bir ilişki bulunmadı. hOGG1 promotör metilasyon düzeyinin pankreas kanseri tanı ve takibinde klinik yararlılığını belirlemek için yapılan ROC (Receiver operating characteristic) analizinde, eğrinin altında kalan alan 0,63 olarak bulundu (%95 güven aralığında), kesim değeri 2,39 olarak belirlendi. Bu kesim değeri kullanılarak hOGG1 promotör metilasyonu için %60 duyarlılık, %60,4 özgüllük, %61,2 pozitif prediktif değer, %59,1 negatif prediktif değer ve %71,5 doğruluk elde edildi.

Sonuç: Pankreas adenokarsinomlu hastaların tümör dokusunda hOGG1 metilasyonu artmıştır. Ancak bu hastalarda artan hOGG1 metilasyonunun hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağ kalım süreleri ile ilişkisi bulunmamaktadır. hOGG1 hipermetilasyonunun hastalığın erken tanısında belirteç adayı olabileceği düşünülmektedir. |

Haziran 2023 , [128] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Pankreas Kanseri, OGG1, Metilasyon, Sağkalım]

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

**THE EFFECT OF OGG1 EXPRESSION AND PROMOTER METHYLATION ON
SURVIVAL RATE IN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER**

Çağlayan AKKAYA ENGİN

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Biochemistry Programme

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız DİNÇER

Objective: Pancreatic adenocarcinoma is a deadly disease due to its invasiveness and resistance to chemotherapy. The aim of this study is to define a molecular marker and a new epigenetic treatment target that can predict treatment response and prolong survival by determining the relationship between the expression and promoter region methylation of the hOGG1 gene, which is involved in DNA repair, in patients with pancreatic cancer.

Materials and Methods: In the study, tumor tissue samples from 50 patients with pancreatic adenocarcinoma and normal tissue samples adjacent to the tumor were used. Total DNA was isolated from formalin-fixed paraffin tissue sections with the isolation kit. hOGG1 promoter methylation was determined by methylation specific polymerase chain reaction (MSP) after bisulfite modification was performed in DNA samples. hOGG1 expression in tumor and normal pancreatic tissues was determined by immunohistochemical staining using the Streptavidin-Biotin-Peroxidase method.

Results: DNA repair gene hOGG1 promoter methylation was found to be higher in pancreatic tumor tissue compared to normal pancreatic tissue. No significant difference was found in terms of hOGG1 immunopositivity in tumor and normal pancreatic tissue. When women and men were compared in terms of OGG1 promoter % methylation, hOGG1 immunopositivity, and survival times, hOGG1 promoter methylation was found to be higher in tumor tissue compared to normal tissue in men. No correlation was found between hOGG1 promoter methylation, hOGG1 immunopositivity and survival times. In the ROC (Receiver operating characteristic) analysis performed to determine the clinical usefulness of hOGG1 promoter methylation level in the diagnosis and follow-up of pancreatic cancer, the area under the curve was found to be 0.63 (95% confidence interval), the cut-off value was determined as 2.39. Using this cut-off value, 60% sensitivity, 60.4% specificity, 61.2% positive predictive value, 59.1% negative predictive value and 71.5% accuracy were obtained for hOGG1 promoter methylation.

Conclusion: hOGG1 methylation is increased in tumor tissue of patients with pancreatic adenocarcinoma. However, increased hOGG1 methylation in these patients is not associated with hOGG1 immunopositivity and survival. hOGG1 hypermethylation is thought to be a marker candidate for early diagnosis of the disease. |

June 2023, |128| pages.

Keywords: |Pancreatic cancer, OGG1, Methylation, Survival|

1. GİRİŞ

Pankreas adenokarsinomu invaziv ve kemoterapiye direnç göstermesi nedeniyle oldukça ölümcül bir hastalıktır[1]. Pankreas kanseri riski yüksek hastaları taramak için standart bir belirteç olmaması ve çoğu hastanın hastalık ileri bir aşamaya ulaşana kadar asemptomatik kalması nedeniyle sıklıkla ileri evrede tanı konulmaktadır[2]. Pankreas kanseri için mevcut standart tedavi cerrahi rezeksiyon ve kemoterapidir[1]. Hastaların sadece % 20'si ilk rezeksiyon için uygundur[3]. Potansiyel küratif rezeksiyondan sonra dahi, çoğu hastada nüks olur ve tamamen rezekte edilen hastaların 5 yıllık sağkalım oranı sadece % 25'tir[1]. Pankreas kanseri tümör biyolojisi erken nüks ve metastaz, kemoterapi ve radyoterapiye direnç sağlar[4]. Pankreas kanserinde erken tanı ve tedavi yanıtını öngörmeyi sağlayacak biyobelirteçlere, sağ kalım süresini uzatacak yeni tedavi yaklaşımlarına büyük ihtiyaç vardır.

Oksidatif stres başta kanser olmak üzere pek çok hastalığın etiyolojisinde rol oynamaktadır. Çeşitli endojen fizyolojik işlemler ve / veya çevresel ajanlar tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmektedir ve hücrel makromoleküller zarar görmektedir. Oksidatif olarak hasarlanan proteinler, lipitler ve RNA genellikle degradasyona ve geri dönüşüme maruz kalırken, genomik bütünlüğü korumak için DNA lezyonları onarılmalıdır [5, 6]. Oksidatif DNA hasarı, oksitlenmiş bazları, oksitlenmiş şeker fragmanlarını, abazik / apuridik / apirimidinik (AP) bölgeleri ve tek zincir kırıklarını içermektedir. Oksitlenmiş bazların onarımı sırasında ortaya çıkan yakın mesafedeki tek zincir kırıkları, DNA çift zincir kırıkları ile sonuçlanabilmektedir [7].

Guanin bazı diğer DNA bazları arasında en düşük oksidasyon potansiyeline sahip olması nedeniyle ROS temel olarak guanine zarar vermektedir. Guaninin oksidasyon ürünü olan 7,8-dihidro-8-oksoguanin (8-oksoG), genomdaki en baskın DNA oksidatif lezyonudur. Hücre başına DNA'da günlük olarak 100.000'e kadar 8-oksoG lezyonu oluşturulabileceği tahmin edilmektedir ve bu nedenle 8-oksoG oksidatif stresin bir biyobelirtecidir [8]–[10]. 8-OksoG mutajeniktir, çünkü sitozin yerine adenin ile eşleşmekte ve DNA replikasyonu sırasında bir G: C ile T: A transversiyonu ile sonuçlanmaktadır [11]. Ökaryotik hücrelerde, guanine lezyonları (8-oksoG ve onun açık halka ürünü 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin, FapyG dahil) esas olarak baz eksizyon onarımı (BER) yolu ile onarılmaktadırlar. Bu işlemin

ilk basamağında 8-okso-deoksiguanin DNA glikozilaz 1 enzimi (OGG1) görev almaktadır [12-14]. 8-oksoG, yüksek derecede DNA yanlış eşleşmesine yol açan bir lezyondur, düşük hOGG1 ekspresyon seviyesi, daha yüksek mutasyon sıklığına neden olmaktadır. Oluşan bu mutasyonlar tamir mekanizmasının yetersiz olması ile kalıcı hale gelir ve oksidatif stres altındaki bir bireyin kanser riskini artırmaktadır. Çeşitli kanser türleri ile hOGG1 genotipi arasındaki ilişkiyi destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur [15].

Oksidatif stresin, pankreas karsinogenezinin etiyolojisinde önemli bir rol oynadığı ve oksidatif stres ile ilişkili DNA hasarının pankreas dokularında mevcut olduğu çeşitli çalışmalar gösterilmiştir [16–18]. Bu sonuçlar pankreas kanseri etiyolojisinde oksidatif olarak indüklenen DNA hasarını işaret etmekte ve bu lezyonların tamirinin pankreas kanserinde kritik bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Uygun genetik bütünlüğü korumak ve kanser riskini en aza indirmek için bu lezyon etkin bir şekilde onarılmalıdır [19].

Kanser hücreleri, hücre sağkalım mekanizmalarını, apoptoz yolunu, kanser kök hücrelerini, ilacın kimyasal ve biyolojik özelliklerini, terapötik ajanların detoksifikasyonunu (ilaç hedef etkileşimleri) ve DNA hasarını ve onarım yollarını değiştirerek kemoterapötik maddelere karşı direnç kazanır. Kontrol edilemeyen kanser hücrelerinin büyümesi, radyoterapi veya kemoterapi kullanımı ile inhibe edilmektedir. Radyasyonun ve kemoterapötiklerin çoğu, aktif olarak çoğalan kanser hücrelerinde DNA hasarı indükleyerek etki göstermektedir [20]. DNA hasarı cevabı normal hücre sağkalımı için önemli olmakla birlikte, bu yol aynı zamanda kanser hücrelerinde terapötik ajanların neden olduğu hasarın üstesinden gelmek için geniş ölçüde uyarlanmaktadır, böylece kemo-direncini uyarmaktadır. Spesifik olarak, DNA tamir mekanizmaları, kanser hücrelerinde çeşitli onkojenik sinyal molekülleri tarafından düzenlenmektedir. Bu kemoterapötik ajanların neden olduğu DNA hasarının onarımı, kanser hücrelerinin kemo-direnç göstermesine neden olmaktadır. Bu kemo-direçli kanser hücreleri, hastalığın tekrarlanmasındaki sık görülen nedenlerden ve en agresif tümör tiplerinden birini oluşturmaktadır [21]. DNA onarımı, iki ucu keskin bir kılıç olarak adlandırılmıştır, çünkü DNA onarımının azalması, kanser gelişim riskini artırabilmektedir, fakat DNA'ya zarar veren ajanlarla tedavi edildiğinde zaten kanser tanısı alan hastalarda hayatta kalma süresini iyileştirmektedir [22].

Gen ekspresyonunu düzenleyen önemli mekanizmalardan birisi DNA metilasyonudur. DNA metilasyonu kovalent kimyasal bir modifikasyondur [23]. DNA'nın metilasyonu ve daha

sonra bir genin susturulması, sitozin pirimidin halkasının 5 'karbonuna bir metil grubu ekleyen DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) tarafından katalizlenmektedir. Bu, tercihen sitozin-guanin dinükleotitlerini (CpG'ler) içeren bölgelerde meydana gelir; bu CpG adaları, birçok genin düzenleyici bölgelerin ile ilişkili bölgelerde yer almaktadır [24]. CpG'deki sitozin metilasyon taşıyıcısı olsa da çoğu kez komşu guanin DNA hasarı için bir hedeftir. Özellikle guanin, DNA polimerazlarının karşısına dAMPyi dahil eden ve böylece G-T transversiyonlarını indükleyen bir ön-mutajenik baz olan 8-oksoG üretecek şekilde kolayca okside edilmektedir. 8-oksoG'nin insanlardaki olumsuz etkileri normalde BER sistemi tarafından kontrol altında tutulmaktadır. Memelilerde, CpG dinükleotitlerinin %70-80'i metillenmiştir, metillenmiş CpG durumunda 8-oksoG'nin ortaya çıkması potansiyel biyolojik ilişkili bir olaydır. Timine kolayca deamine olan metile Sitozinin (mCyt) mutajenik risk taşıdığı ve CpG'deki G-T geçişlerinin insanlarda en sık görülen nokta mutasyonları arasında olduğu iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, guanin de sıcak bir mutasyon noktasıdır [25].

DNA metilasyonu ile oluşan, pankreas kanserinde regülasyonu ortadan kalktığı bilinen gen ekspresyonunun epigenetik değişimi, değiştirilmiş gen ekspresyonu genom yapısının yeniden yapılanması, tümör derecesi, tümör evresi ve hastaların hayatta kalma süresi ile sonuçlanmaktadır [26]. DNA metilasyonu gibi epigenetik değişiklikler, normal gelişimde gen düzenlemesini etkilemektedir. Normal hücrelerde, DNA metilasyonu, gen ekspresyonunun uygun şekilde düzenlenmesini ve fizyolojik homeostaza yol açan stabil gen susturma işlemini sağlamaktadır[27].

Bugüne kadar pankreas kanseri alt tipleri boyunca DNA metilasyonundaki değişiklikler hakkında daha az şey bilinmektedir. CpG adalarının genom çapında çalışmaları, diferansiyel metilasyonun pankreas tümör dokusunu normal dokudan ayırabildiği binlerce bölgeyi ortaya çıkarmıştır. Bu ilerlemeye rağmen, pankreas hastasının hayatta kalmasını öngörmek için HOGG1 geninde DNA metilasyonundaki değişikliklerin kullanımı keşfedilmemiştir. Guaninin kırılabilirliğine ve 8-oksoG mutajenitesine rağmen, insan genomunun kompozisyon modeli yüksek düzeyde bir heterojenlik göstermektedir ve genlerin yoğunluğu GC bakımından zengin bölgelerde çok daha fazladır. Ek olarak, insan gen promotörlerinin %72'si guanin bakımından zengindir. Şaşırtıcı bir şekilde, genlerin transkripsiyonel aktivitesi, gen düzenleme bölgelerinde GC içeriği ile pozitif korelasyon göstermektedir. Aktif olarak kopyalanmaya eğilimli genler yüksek GC içerikli bölgelerde yoğun bir şekilde dağılmaktadır, oysa dokuya bağlı veya gelişimsel olarak düzenlenmiş bir şekilde olanlar genellikle seyrek olarak GC-fakir

bölgelerinde dağılmaktadır [28]. Promotör bölgesindeki CpG adacıkları hipermetile durumdaki genin ekspresyonu baskılanmaktadır. Promotör bölgenin hipometilasyonu ise gen ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır [29]. DNA onarım geni OGG1 promotör metilasyonunun OGG1 ekspresyonunu değiştirdiği ve bu durumun kemoterapiye yanıtı azaltarak kanser hastalarının sağ kalım süreleri üzerinde rol oynadığı düşünülmektedir.

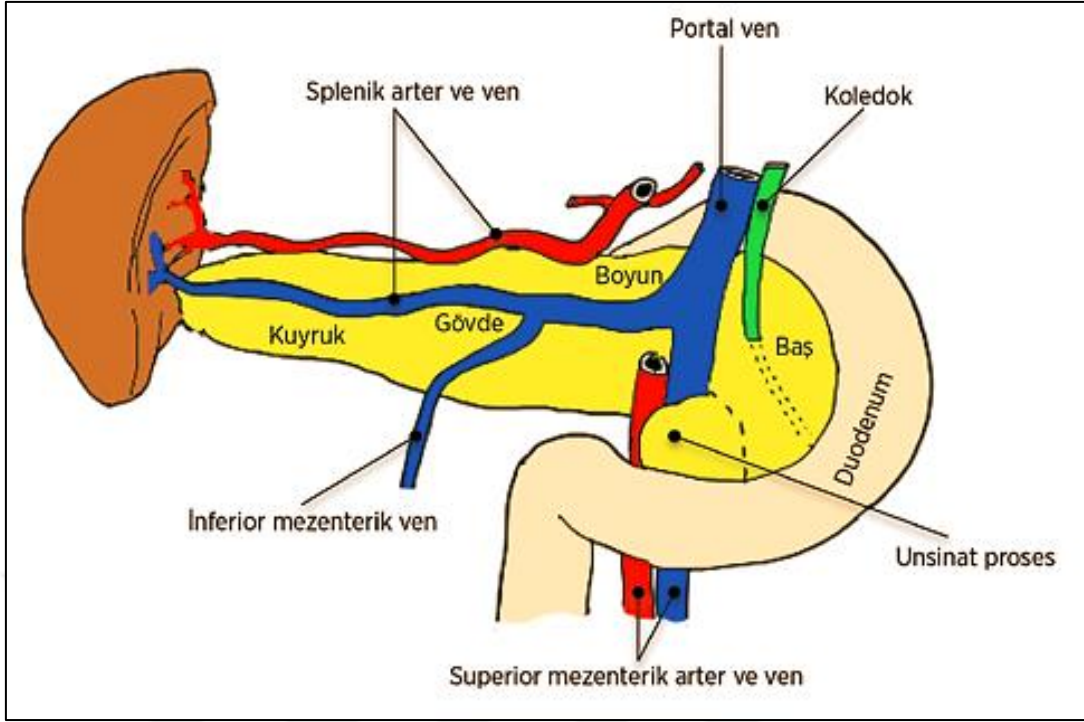


2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. PANKREAS

Antik Yunan anatomistleri Herophilus (Chalcedon'lu), Erasistratos ve Eudemos'un MÖ 300'lü yıllarda pankreas hakkında bilgi sahibi oldukları bilinmektedir. Aristoteles, pankreasın işlevinin büyük damarları korumak olduğuna inanmıştır. 4 yüzyıl sonra Galen bunun mide için bir yastık olduğunu iddia etmiştir. MÖ 100'lü yıllarda insan kadavraları üzerinde, pankreasın kıkırdağı veya kemiği olmadığını gözlemleyen Efesli Ruphos, On the Names of Parts adlı eserinde bu organa "pankreas" (Yunanca pan:bütün + kreas:et) adını vermiştir[30]. 1642 yılında Johann Wirsüng ana pankreatik kanalı, 1724 yılında ise Giovanni Domenico Santorini aksesuar kanalı tanımlamıştır[31].

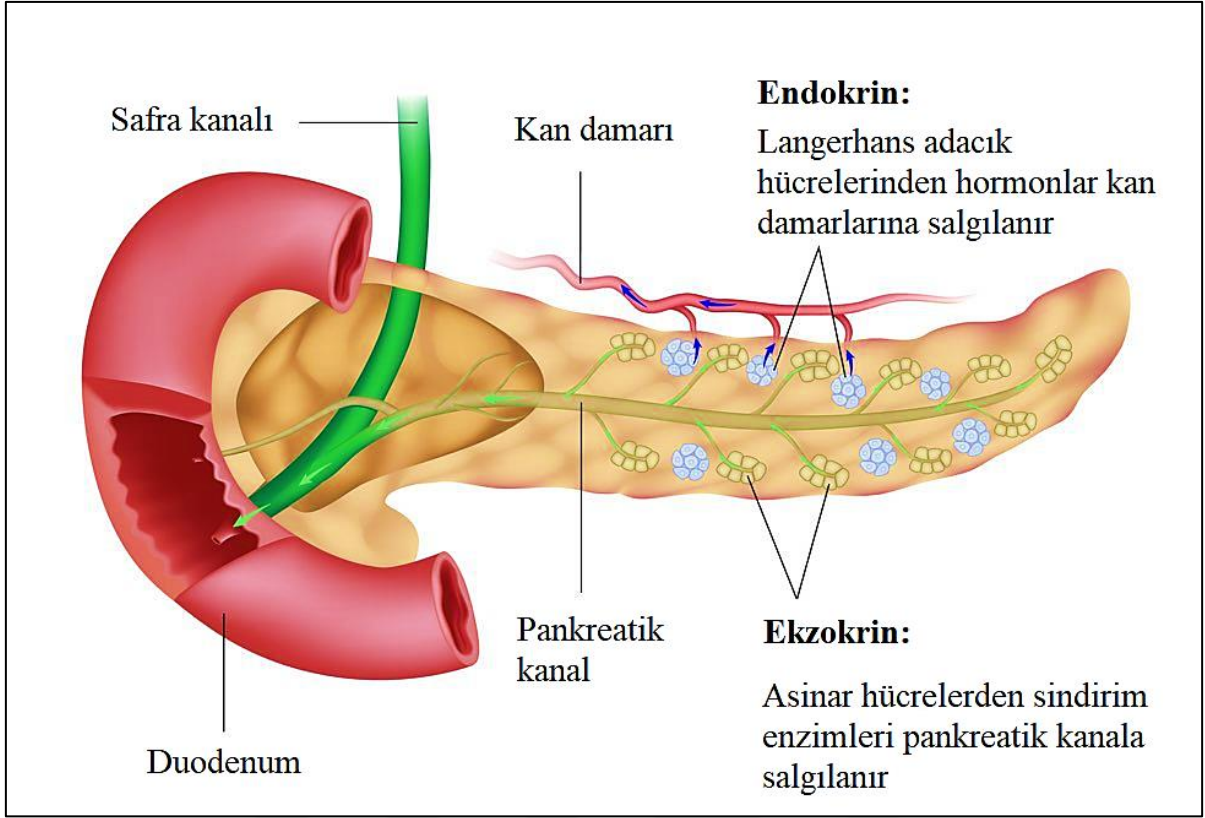
Kesitsel olarak prizmoid yapıda olan pankreas, 12-15cm uzunluğunda, 4-5 cm yüksekliğinde ve 2-3 cm enindedir. Yatay bir ters J harfi şeklinde retroperitonda yerleşmiştir. Yüzeyi düzensiz ve sarımsı renkte olan pankreas kadınlarda yaklaşık 66 gr, erkeklerde ise 70 gr ağırlığındadır. Pankreas, gestasyonun 4. haftasında duodenumun iç yüzünü döşeyen endoderm hücrelerinden köken alan dorsal ve ventral pankreas tomurcuklarından gelişmektedir. Ventral parça arkaya doğru dönerek dorsal parça ile birleşmektedir. Dorsal parçadan pankreas başının yukarı bölümü, kuyruk ve göve oluşurken ventral parçadan pankreas başının inferior bölümünü ve unsinat uzantısı oluşturmaktadır. Pankreas 5 parçadan oluşmaktadır: Pankreas başı (+ unsinat proses), boyun, gövde ve kuyruk (Şekil 2.1)[32, 33].



Şekil 2.1: Pankreas anatomik parçaları.

Ekzokrin ve endokrin salgı salgı yapma özelliği olan pankreas hepatobiliyer sistem içinde yer almaktadır ve karaciğerden sonraki ikinci büyük glandüler organdır. Beslenme ve metabolizmanın düzenlenmesinde önemli görevleri vardır[34].

Ekzokrin pankreas, sindirim enzimlerini sentezleyen, salgılayan ve bağırsaklara taşıyan asiner ve kanal hücrelerinden oluşan bir tübül ağıdır. Asinüs, zimojen granülleri halinde pankreas sindirim enzimlerini içeren bir asiner hücre kümesidir. Salgılarını bir kanal sistemi üzerinden duodenuma dökmektedir. Bu asinüs yapısının içinde gömülü, küçük kümeler halinde Langerhans adacıkları adı verilen endokrin hücreler vardır. Bu hücre grubunda dört tip hücre bulunmaktadır. β -hücreleri, toplam endokrin hücrelerinin %75-80'ini oluşturur ve insülin salgılanmasından sorumludur. %15-20 oranında bulunan α -hücrelerinden glukagon, az sayıdaki δ -hücreleri somatostatin, daha da az sayıdaki pankreatik polipeptid hücreleri de pankreatik polipeptit salgılanmaktadır (Şekil 2.2)[35, 36].



Şekil 2.2: Endokrin ve ekzokrin pankreas.[37]

2.2. PANKREAS KANSERİ

Kanser dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Pankreas kanseri en agresif ve ölümcül kanserlerden biridir. Pankreas kanserinin en yaygın şekli pankreas duktal adenokarsinomudur. Pankreas kanserinin uzun vadeli sonucu son derece kötüdür. Tanıdan itibaren genel medyan sağkalım süresi tedavisiz 3-6 ay olup rezeksiyonel cerrahi ve adjuvan tedavi ile yaklaşık 23 aya çıkmaktadır. Pankreas kanseri genellikle geç teşhis edilir ve tüm kanser tedavi modalitelerine direnç ve erken metastaz ile karakterize biyolojik bir fenotipe sahiptir[38].

2.2.1. Pankreas Kanserinin Epidemiyolojisi

Kanser tüm dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden birisidir. Kanser insidansı ve ölüm oranı dünya çapında hızla artmaktadır. Bu durum sosyoekonomik gelişme ile ilişkili olan kanser

için ana risk faktörlerinin arttığını da göstermektedir[39]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2019'daki tahminlerine göre 70 yaşından önce kanser 183 ülkenin 112'sinde birinci veya ikinci ve 23 ülkede üçüncü veya dördüncü ölüm nedenidir[40].

GLOBOCAN 2020 verilerine göre pankreas kanseri, kötü prognozu nedeniyle neredeyse vaka kadar ölümden sorumludur ve her iki cinsiyette de yedinci önde gelen kanser ölüm nedenidir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya/Yeni Zelanda'da en yüksek insidans oranlarına sahiptir. Tüm dünyadaki yeni vaka sayısı 496.000 olup insidansı %2,6'dır, 466.000 ölüm sayısı ile total kanserden ölümlerin %4,7'sinin nedenini oluşturmaktadır[41]. Pankreas kanseri insidans oranı 2000 yılından bu yana her yıl yaklaşık %1 artmıştır. Pankreas kanserine bağlı ölüm oranı 2000'li yılların ortalarından bu yana yılda %0,2 oranında artmıştır[42].

28 Avrupa ülkesinde yapılan bir çalışmaya göre pankreas kanserinin 2025 yılına kadar kanser ölümlerinin üçüncü önde gelen nedeni olarak meme kanserini geride bırakacağı tahmin edilmektedir[43].

Pankreas kanseri, 2011-2017 yılları arasında ABD'de 5 yıllık sağ kalım oranı %11.0 ile diğer kanser türleri arasındaki en düşük orana sahiptir[1]. Küresel olarak pankreas kanseri için 2014 yılında %6 olan 5 yıllık sağ kalım oranı her yıl biraz daha artmaktadır. Bu durum ilerleme kaydedildiğini ve sağ kalımı daha da iyileştirmeye acil bir ihtiyaç olduğunu göstermektedir[44]. 2022 yılında ABD'de tahminen 62.210 yeni pankreas kanseri vakası teşhis edileceği ve 49.830 kişinin bu hastalıktan öleceği düşünülmektedir. Vakaların %90'ından fazlası, pankreasın sindirim enzimleri üreten ekzokrin dokusunda gelişmektedir[42]. EURO CARE-5 ortak çalışması, Avrupa ülkelerinde 2000 ile 2007 yılları arasında pankreas kanseri tanısı konan hastaların verilerini analiz etmiş ve yetişkin hastalar için yaşa göre standardize edilmiş ortalama 5 yıllık göreceli sağkalımın, 46 kanser türü arasında en düşük (%7) olduğunu göstermiştir[45].

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 2017 yılında yayınladığı Türkiye Kanser İstatistikleri Raporuna göre Türkiye'deki kanser nedenli ölümlerin %6,4'ü pankreasın malign tümörleri nedeniyle olmaktadır[46].

2.2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Pankreas kanseri ile ilişkili çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır ve bu faktörler değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır.

Değiştirilebilir risk faktörleri arasında sigara, alkol, obezite, beslenme ve toksik maddelere maruz kalma bulunmaktadır.

Değiştirilemeyen risk faktörleri arasında ise cinsiyet, yaş, etnik köken, diyabet, ailede pankreas kanseri öyküsü, genetik faktörler, kronik enfeksiyonlar, O olmayan kan grubu ve pankreatit bulunmaktadır.

2.2.2.1. *Sigara*

Sigara, pankreas kanseri için en önemli çevresel risk faktörüdür. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, sigara içmenin pankreas kanseri ile nedensel olarak ilişkili olduğunu doğrulamıştır[47]. Pankreas kanseri riski, sigara içme süresi ve günlük içilen sigara sayısı ile artmaktadır. Sigara içenlerde, içmeyenlere göre risk yaklaşık iki kat daha fazladır; ek olarak, 82 çalışmanın dahil edildiği meta-analiz, pankreas kanserinin rölatif riskinin (RR) şu anda sigara içenler için $RR = 1.74$ ve eski sigara içenler için $RR = 1.2$ olduğunu ve sigarayı bıraktıktan sonra en az 10 yıl boyunca riskin devam ettiği belirlenmiştir [48]. 2012 yılında, Avrupa Prospektif Kanser Araştırması (EPIC) çalışması, günde içilen her beş sigara için pankreas kanseri riskinin arttığını ve ayrıca pasif içiciliğin pankreas kanseri riskini %50 artırabildiğini göstermiştir[49].

Pankreas kanseri ve sigara arasındaki olası bağlantı mekanizmalarını belirlemek için yapılan önceki çalışmalar, tütüne özgü nitrozaminler veya diğer N-nitroso bileşiklerinin uygulanmasıyla hayvanlarda pankreas tümörlerinin gelişebileceğini göstermiştir[44]. Mekanizma, tütüne özgü kanserojenlerin onkogenlerin aktivasyona ve tümör baskılayıcı genlerde mutasyona yol açması olabilir. Büyük olasılıkla, heterosiklik aminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi tütün dumanı dumanı bileşenlerinin protoonkogenler üzerindeki mutajenik etkisiyle (özellikle Kras mutasyonları) bağlantılıdır[50]. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar organizmaya girdiğinde, detoksifiye edici enzimler tarafından DNA ile etkileşime girebilecek formlara metabolize edilmektedirler. P450 enzim sisteminin (CYP1A Sitokrom P450 1A ve CYP1B1 Sitokrom P450 1B1) aktivitesi sonucunda aktif epoksi bileşikleri oluşmaktadır. Bunlar daha sonra epoksi hidrolaz tarafından DNA ile bağlanabilen ve P53 geni mutasyonuna yol açabilen diol epoksit türevlerine hidrolize edilmektedirler. Bu nedenle, sigaranın neden olduğu onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin mutasyonu, pankreas kanseri gelişimine ve ilerlemesine yatkın bir ortam yaratmaktadır[44].

2.2.2.2. **Obezite**

Obezite pankreas kanserinin artan riski ile ilişkilidir. Amerikan Kanser Derneği'ne göre, obez hastalar, sağlıklı vücut kitle indeksi (VKİ) (18,5–24,9 kg/m²) olan kişilere göre daha yüksek PC riskine sahiptir[51].

Li ve diğ. [52] tarafından yapılan bir araştırmada, erken erişkinlik döneminde fazla kilolu olmanın (VKİ: 25,0 - 29,9 kg/m²) veya obez olmanın (VKİ $\geq$ 30 kg/m²) daha yüksek pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Ayrıca, ileri yaştaki (30 - 79 yaş) obezite, daha düşük genel sağkalım ile ilişkilendirilmiştir.

Larsson ve diğ. [53] 83.053 kişi arasında VKİ'nin pankreas kanseri riski ile ilişkisini incelemiş ve obez hastalarda pankreas kanseri riskinin normal kilolu hastalarla karşılaştırıldığında neredeyse iki katı olduğunu bulmuştur. Yapılan bir başka meta analiz çalışmasında, VKİ'deki genel 5 kg/m²'lik bir artışın, %12'lik bir pankreas kanseri riski artışı ile ilişkili olduğunu kanıtlamış, bu da obez bireylerin erken teşhis için geçerli bir hedef olabileceğini öne sürmüştür[54].

Obezitenin metabolik bir sonucu, pankreastan insülin salgılanmasında artışa yol açan insülin direncinin gelişmesidir. Hiperinsülinemi, pankreasta lokal kan akışına ve hücre bölünmesinde artışa sebep olmaktadır. Yüksek insülin konsantrasyonları, insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) reseptörünü aktive edebilmektedir. Artan insülin, hücre proliferasyonunu desteklemek için daha fazla IGF-1 salınımına neden olarak insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-I'i downregüle edebilmektedir[44]. 2001'de yapılan bir çalışma, IGF-1'in PI3K-mTOR ve MAPK sinyal yollarını aktive ederek kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını desteklediğini kanıtlamıştır[55].

Obezite ve pankreas kanseri arasındaki ilişki için alternatif bir mekanizma, DNA hasarı oluşumu ile ilgilidir. Kanserli hastalarda obezite ve lipid peroksidasyonu ile ilişkili DNA hasarı arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Bu nedenle, bireylerde artan lipid peroksidasyonunun pankreasta neden olduğu DNA hasarındaki artış, pankreas kanserinin VKİ ile ilişkisi için bir mekanizma olabilmektedir[44].

Son araştırmalar, pankreas çevresindeki yağ hücrelerinin obezite ile ilişkili bir inflamatuvar ortam üretebileceğini bulmuştur. Peripankreatik yağ dokusu mikroçevresindeki kanserle ilişkili adipositlerin yanı sıra infiltre inflamatuvar ve immün hücreler pankreas

kanserinin ilerlemesini hızlandırabilen adipokin, proinflamatuvar sitokin, kemokin ve büyüme faktörlerinin normalden daha yüksek seviyelerde salgılayabilmektedir. Obezitede artan leptin seviyeleri ve azalan adiponektin seviyeleri daha agresif bir malign fenotip ile ilişkilidir[32]. Babic ve diğ.[56] yaptığı vaka kontrol çalışması, yüksek plazma leptin düzeylerinin yüksek pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Artmış lipid metabolizması, hipoksik tümör mikroçevresinde lipidlerin kullanımını artıran kanser invazivliğinin önemli bir işaretidir. Hipoksik bir mikro ortamda, adipositler, kanser hücrelerine enerji sağlayan daha fazla yağ asidi üretmek için lipoliz geçirmektedir. Bu nedenle, adipokinlerin sistemik dolaşımı, adiposit aracılı inflamatuvar ve immünosupresif mikro ortam, pankreas kanserinin gelişimi ve ilerlemesi için uygun ortam oluşturmaktadır[57].

2.2.2.3. *Alkol*

Pek çok çalışmada, pankreas kanseri riski yüksek alkol tüketimi (günde üçten fazla içki) ile artarken, düşük ila orta derecede alkol alımı ile bir ilişki bulunamamıştır[58–60]. 2010'da yapılan büyük bir vaka kontrol çalışması, 60 g/gün veya daha fazla likör tüketiminde bile riskin arttığını göstermiştir, ancak bira veya şarapla hiçbir ilişki bulunamamıştır[61]. 2018 yılında yapılan büyük bir prospektif çalışma ise, ömür boyu alkol tüketiminin pankreas kanseri geliştirme riski ile pozitif olarak ilişkili olduğunu, bira ve likörler için tahmini riskin şaraptan daha belirgin olduğunu öne sürmüştür[62].

Alkol dehidrojenaz (ADH) ve aldehit dehidrojenaz (ALDH) olmak üzere iki NAD'ye bağımlı enzim, esas olarak insanda alkol metabolizmasında rol oynamaktadır. Vücutta alkol önce ADH oksidasyonu ile asetaldehite dönüştürülmekte ve daha sonra atılım için ALDH oksidasyonu ile asetaldehit toksik olmayan asetata dönüştürülmektedir. İnsan karaciğerinde, ALDH1 (sitosolik) ve ALDH2 (mitokondriyal) dahil olmak üzere iki tür ALDH vardır ve fizyolojik konsantrasyonlarda sadece mitokondriyal ALDH2 asetaldehiti asetata oksitlemektedir. ALDH2*2 alleli varyantı, ALDH2 enzim aktivitesini önemli ölçüde azaltabilir ve çarpıcı bir genetik polimorfizm olan alkol yanıtını etkileyebilmektedir[63].

Birçok Doğu Asya ülkesinde, azaltılmış enzim aktivitesi ile ilişkili ALDH2*2 aleli, popülasyonun %30-50'sinde bulunmaktadır ve bu durum alkol metabolizmasından üretilen kanserojen asetaldehitin birikmesi ile sonuçlanmaktadır[64]. Asetaldehit, orta düzeyde etanol (0.5 g/kg) alımından sonra bile ALDH2*2 taşıyıcılarında birikmekte ve bu bireylerde alkole bağlı kanser geliştirme riskinin daha yüksek olmasına yol açmaktadır[65]. Kanda ve diğ.[66],

alkolün pankreas kanseri riski üzerindeki etkisinin, asetaldehitin hızlı üretimi veya yüksek birikimi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır, bu da asetaldehitin pankreas kanserinin potansiyel mekanizmasında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Ek olarak, alkol oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu indükleyerek kanser gelişimini destekleyebilmekte ve aşırı alkol tüketimi de pankreas inflamasyonunu artırarak tümörün ilerlemesini hızlandırabilmektedir[63].

2.2.2.4. *Diyet*

Diyet, pankreas da dahil olmak üzere farklı sindirim hastalıkları ve kanser riskini etkilemektedir. Yapılan çalışmalar bazı gıdaların pankreas riskini arttırırken bazılarının ise bu riski azalttığını göstermektedir. Folat, meyve, kırmızı et, tahıllar ve yağ gibi beslenme faktörlerinin pankreas kanseri riskini etkileyebileceği gösterilmiştir[44].

Kırmızı et (özellikle yüksek sıcaklıkta pişirildiğinde), işlenmiş et, kolesterol, kızarmış yiyecekler ve nitrozamin içeren diğer yiyeceklerin tüketimi pankreas kanseri riskini arttırabilmektedir[67, 68]. Etteki kanserojenlerin ve işlenmiş etleri korumak için kullanılan nitrit veya N-nitroso bileşiklerinin pankreas kanserine oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir[69]. Yapılan bir meta-analizin sonuçları, kırmızı et alımının pankreas kanseri riskini yaklaşık %48 oranında arttırdığını, öte yandan, özellikle narenciye ve antioksidanlarla zenginleştirilmiş sebze ve meyvelerin yüksek alımının koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ve riski %38 oranında azalttığını göstermektedir[70]. Pankreas kanseri morbiditesi verilerini analiz eden bir başka çalışmada pankreas kanseri insidans oranları ile kolesterol, hayvansal yağ tüketimi, şeker ve alkol arasında pozitif bir ilişki bulunmuşken, meyve, folat alımı, kümes hayvanları eti, tahıllar ve lif arasında negatif bir ilişki olduğu gösterilmiştir[71].

Bununla birlikte, bazı çalışmalar bu bulguları desteklememiştir[72] veya yalnızca erkekler arasında ilişki olduğunu belirtmiştir[73]. Ek olarak, Rohrmann ve diğ. [74] yaptıkları geniş çaplı bir çalışmada, pankreatik kanser riski ile kırmızı et, işlenmiş et ve balık tüketimi arasında hiçbir ilişki bulunmazken, kümes hayvanı tüketimi artmış risk ile ilişkilendirilmiştir.

Kırmızı etin bir demir kaynağı olması nedeniyle serbest radikalleri artırabileceği düşünülürken, meyvelerin, C vitamini ve diğer antioksidanları içermeleri nedeniyle serbest radikalleri ve reaktif oksijen moleküllerini yakalayarak oksidatif hasara karşı koruyucu olmaları bunların pankreası kanserine karşı koruyucu olduklarını düşündürmektedir[75]. Ayrıca,

meyvelerdeki flavonoidler, sitokrom P450 enzimleri veya detoksifiye edici ve hücrel savunma enzimleri tarafından karsinojenlerin metabolik aktivasyonunu inhibe etmektedir. Bazı çalışmalar, tam tahıllı veya yüksek lifli gıdaların, insülin direnci, trigliseritler ve yüksek lipoprotein seviyeleri ile ilişkisi ile açıklanabilecek pankreas kanseri riskini azaltabileceğini desteklemektedir[76].

2.2.2.5. *Mesleki Maruziyet*

Mesleki maruziyetler ve pankreas kanserine ilişkin yapılan bir meta-analiz, nikel maruziyeti ile riskin arttığını bildirmiştir[77]. Nikelin kanserojen mekanizmaları, artan DNA metilasyonunu, DNA onarımını inhibe etmeyi ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu yoluyla apoptozu indüklemeyi içermektedir[78, 79]. Ek olarak, az sayıda çalışma kadmiyuma maruz kalma ile arsenik ve pankreas kanseri riski arasında bir bağlantı bulmuştur. Kadmiyum, insan pankreasında biriktiği ve pankreas kanseri riskini ve mortalitesini arttırdığı bilinen esansiyel olmayan bir metaldir[80]. Kadmiyum pankreas hücrelerinin farklılaşmasına neden olmakta, DNA onarımını inhibe etmekte ve insan pankreas kanserinde eksprese edilen birkaç onkogen veya tümör baskılayıcı proteinin aktivitesini indüklemekte veya düzenlemektedir[81,82]. Arsenik maruziyeti artmış kanser riski ile ilişkilendirilmiştir ancak pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında çok az yayın yapılmıştır [83]. Temel bir mikro besin maddesi olan selenyum, pankreas dahil olmak üzere birçok kanser riski ile ters olarak ilişkilendirilirken[84-86], 1989'da yayınlanan sadece bir çalışma, yüksek selenyum nedeniyle pankreas kanseri riskinin arttığını göstermektedir[87].

2.2.2.6. *Cinsiyet*

Pankreas kanseri erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir. Küresel olarak, pankreas kanseri insidansı erkekler için 100.000'de 5.7 ve kadınlar için 100.000'de 4.1'dir[41]. Pankreas kanseri erkeklerde çevresel veya mesleki risk faktörlerinin yanı sıra yoğun sigara içme ve yüksek alkol alımı gibi yaşam tarzları nedeniyle ortaya çıkmaktadır; bununla birlikte, erkeklerde ve kadınlarda kanser insidansı ve mortalitesini etkileyen henüz keşfedilmemiş genetik faktörlerin varlığı da düşünülmektedir[88].

2.2.2.7. *Yaş*

SEER Kanser İstatistikleri derlemesi, pankreas kanserinin ağırlıklı olarak daha yaşlı bir popülasyonun hastalığı olduğunu ve hastaların çoğunun 50 yaşın üzerinde olduğunu belirtmektedir[89]. Yapılan çalışmalar, pankreas kanseri gelişme riskinin yaşla birlikte arttığını

ve en yüksek pikin 60 ile 80 yaşları arasında görüldüğünü göstermiştir[1,41]. Nadiren 40 yaşından önce ortaya çıkmaktadır ve pankreas adenokarsinomu vakalarının yarısından fazlasının ortalama yaşı 71'dir. Hastalığın geç yaşta başlamasının nedeni henüz belli değildir. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır[88].

2.2.2.8. *Etnik Köken*

Birçok çalışma, pankreas kanseri insidansında ırklar arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir[88,90]. Afrikalı-Amerikalılar için pankreas kanseri insidans oranları Kafkasyalılardan daha yüksekken, insidans Asyalı-Amerikalılarda ve Pasifik Adalılarında en düşüktür[42]. Genel olarak, siyah insanlarda pankreas kanseri riski, diğer herhangi bir ırk grubuna göre oldukça yüksektir[91]. Irklar arasında pankreas kanseri insidansındaki farklılıklar diyet, alkol, sigara ve D vitamini yetersizliği gibi değiştirilebilir risk faktörlerine bağlanabilir.

Çinli, Japon ve Batılı hastalar arasında onkogen mutasyonlarını ve biyobelirteç immün ekspresyonunu karşılaştıran çalışmalar, pankreas kanserli Asyalı hastaların Batılı hastalardan farklı KRAS ve p53 ekspresyonlarına sahip olduğunu göstermektedir. Her ırkın sahip olduğu genetik ve moleküler çeşitliliğin pankreas kanseri insidansını etkileyebildiğini ve pankreas kanseri tedavisinden sonra hayatta kalma oranlarındaki farkı açıklayabileceğini öne sürmektedir[92, 93]. Genel olarak, Asyalı hastaların Asyalı olmayan hastalardan daha iyi bir sağ kalım oranına sahip olduğu görülmektedir[94]

2.2.2.9. *Genetik Faktörler*

Genetik varyasyon veya Germ-hattı mutasyonu pankreas kanseri riskinin artmasında önemli bir rol oynamaktadır[95]. Pankreas kanserli hastaların yaklaşık %10'unda gen varyasyonları veya hastalığı geliştirmeye yönelik değişiklikler gibi bazı genetik yatkınlıklar vardır[96] KRAS, BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, CDKN2A, APC, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, PRSS1 ve STK11 gibi pankreas kanserinin kalıtsal formlarında yer alan birkaç germ hattı mutasyonu tanımlanmıştır[97]. Onkojenik KRAS'ın mutasyonu, pankreas kanserindeki ana olaydır ve KRAS proteinini kalıcı olarak aktive ederek hücrelerde çeşitli sinyal yollarını ve transkripsiyon faktörlerini aktive etmek için moleküler bir anahtar olarak görev yapmakta, hücre proliferasyonunu, göçünü, transformasyonunu ve hayatta kalmasını indüklemektedir[98]. Pankreas kanserinin ayrıca Lynch sendromu, Ailesel Atipik Çoklu Mole Melanom (FAMMM) sendromu, Peutz-Jeghers sendromu, kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri sendromu, ailesel adenomatöz polipozis ve Li-Fraumeni sendromu gibi bazı ailesel kanser sendromları ile ilişkili

olduğu bulunmuştur. Germ-hattı BRCA2 gen mutasyonları, kalıtsal pankreas kanserinin bilinen en önemli nedenidir ve ailesel pankreas kanseri olan ailelerin %5-17'sinde tanımlanmıştır[99]. PALB2 bir pankreas kanserine yatkınlık geni olarak tanımlanmıştır ve ailesel pankreas kanseri olan hastaların %3'üne kadar germ hattı mutasyonları kaydedilmiştir[100, 101].

2.2.2.10. *Aile Hikayesi*

Pankreas kanserli bireylerin yaklaşık %5-10'unun ailede pankreas kanseri öyküsü olduğu tahmin edilmektedir[88, 102]. Bu malign hastalığı olan ailelerin ileriye dönük analizi, ailesel pankreas kanseri olan bireylerin birinci derece akrabalarının genel popülasyona göre dokuz kat artmış pankreas kanseri riskine sahip olduğunu göstermektedir[103]. Bu risk, ailede en az iki birinci derece akrabada pankreas kanseri olduğunda iki katına çıkmaktadır[104], üç veya daha fazla birinci derece akrabada pankreas kanseri olduğunda 32 kat artmaktadır[97]. Ayrıca, kanıtlar ailesinde genç başlangıçlı ailesel pankreas kanseri vakası olan (yaş < 50 yaş) kişilerde riskin sporadik pankreas kanseri vakası olanlara kıyasla en yüksek olduğunu göstermektedir[105]. Ailesel pankreas kanserli hastalarda sporadik pankreas kanserli hastalardan daha fazla prekanseröz lezyonların bulunduğu ve ekstra pankreas kanserleri geliştirme riski daha yüksek olduğu gösterilmiştir[102].

2.2.2.11. *Diabetes Mellitus*

Diabetes mellitus (DM), dünyadaki en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. Hem tip I hem de tip II diyabet ile pankreas kanseri riski arasındaki pozitif ilişki çok sayıda çalışmada bildirilmiştir. Pankreas kanserinde DM prevalansı %4 ile %65 arasında değişmektedir[106]. Bu nedenle, DM'li bireyler önemli ölçüde artmış pankreas kanseri riskine sahiptir. Diabetes mellitus, özellikle Asyalılar ve Hispanik erkeklerde, Beyazlar ve Siyahlara kıyasla pankreas kanseri gelişme riskinde 1.8 kat artış ile ilişkilidir[107]. Diyabeti olmayan hastalarla karşılaştırıldığında, yakın zamanda diyabet teşhisi konanların pankreas kanseri geliştirme riskinde yaklaşık 7 kat artış görülmektedir [108].

DM ve pankreas kanseri arasındaki potansiyel ilişkiyi açıklamak için çeşitli biyolojik mekanizmalar belirtilmiştir. DM, insülin direnci ve artan IGF-1 seviyeleri ile ilişkilidir. Hiperinsülinemi, prediyabetli veya erken tip 2 DM'li hastalarda obezite ve insülin direncine bağlı olarak, gözlenen pankreas kanseri gelişme riskinde artışa neden olabilmektedir. Kandaki yüksek adacık hormonları seviyesi, doğrudan asiner ve duktal hücre gruplarına ulaşarak asiner ve duktal hücrelerin hayatta kalmasını ve çoğalmasını desteklemek için IGF-1 reseptörleri

üzerinde etki etmektedir. IGF-1 ve IGF-1R, pankreas kanseri hücre hatlarında yüksek oranda eksprese edilmektedir, bu da artan proliferasyon, invazyon ve anjiyogenez teşvikine yol açabilmektedir[109, 110].

Pannala ve diğ.[111] DM ve pankreas kanseri arasında bir “ikili nedensellik” olduğunu öne sürmektedir. Hem uzun süredir devam eden tip 2 DM pankreas kanseri gelişimi için bir risk faktörüdür, hem de birçok hastada pankreas kanserinin diyabetin bir nedeni olduğu varsayılmaktadır. Özetle, DM hem olası bir risk faktörü hem de PC'nin erken bir belirtisidir.

Yapılan çalışmalarda oral anti-diyabetik ilaçlar veya insülin kullanımı, pankreas kanseri riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir[108, 112]. Pankreas kanseri ve periferik insülin direnci olan bazı hastalarda, tümörün çıkarılması, glukoz metabolizmasını iyileştirmiş, bu da değişen glukoz metabolizmasının tümörün bir sonucu olabileceğine dair kanıt sağlamıştır[88]

2.2.2.12. **Enfeksiyon**

Esas olarak midede bulunan *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), dünya nüfusunun yarısını kronik olarak enfekte eden Gram-negatif mikroaerofilik bir patojendir. *H. pylori*'nin mide kolonizasyonu oldukça yüksek pankreas kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur[113]. Risch ve diğ.[114] tarafından yapılan çalışmada, *H. pylori* ile enfekte kişilerde pankreas kanseri riskinde artış olduğu bildirilmiştir. Bunun arkasındaki varsayımsal mekanizmalardan biri, *H. Pylori* kolonizasyonunun sigara veya diyet kaynaklarıyla taşınan N-nitrozaminlerin pankreas kanserojen etkisini arttırmasıdır. Bu etki, *H. pylori*'nin kendisinin çeşitli virülans ve diğer özellikleri tarafından organizmaya karşı oluşturulan enflamatuvar tepkileri ve konakçı-organizma etkileşimleri tarafından düzenlenmektedir[115]. Diğer taraftan, birçok çalışmada *H. pylori* enfeksiyonu ile pankreas kanseri riski arasında herhangi bir ilişki gözlemlenmemiştir[116].

Bazı çalışmalar, pankreas kanseri ile hepatit B ve C virüsü gibi bazı kronik enfeksiyonlar arasındaki ilişkiyi de bildirmiştir[88, 102].

2.2.2.13. **ABO Kan Grubu**

ABO kan grubunun kanser biyolojisindeki rolü birçok araştırmacı tarafından yoğun bir şekilde incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda A kan grubuna sahip bireyleri için pankreas kanseri riskinin arttığını gözlemlenmiştir[63]. ABD'de yapılan bir kohort çalışması A, B ve AB kan gruplarına sahip bireyleri O kan grubuna sahip bireyler ile karşılaştırdığında pankreas kanseri

riskini artmış bulmuştur[117]. 2016'da 1,6 milyon kan donörü ile yapılan bir kohort çalışması, A kan grubuna sahip olmanın artan pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir[118].

Ben ve diğ.[119] 1.431 Çinli hasta üzerindeki çalışması, O kan grubuna sahip hastaların genel sağkalımının, O olmayan kan grubuna kıyasla daha uzun olduğunu göstermiştir. El Jellas ve diğ.[120] rezekte edilmemiş vakalar arasında A kan grubu ve A1 alt tip prevalansının en yüksek olduğunu, rezekte edilmemiş vakaların en düşük O kan grubu sıklığına sahip olduğunu, kan grubu O olan hastaların rezekte edilmemiş olgular grubunda O olmayan hastalardan daha uzun süre hayatta kaldığını bildirmiştir.

Ek olarak, O olmayan kan grubuna sahip bireylerde, H. pylori kolonizasyonu ve pankreas kanseri riski arasındaki ilişki bir meta-analiz çalışmasında tanımlanmıştır. Hipotez, gastrointestinal müsinlerde terminal A veya B kan grubu antijenlerinin varlığının H. pylori bağlanma özelliklerini etkilediği ve dolayısıyla H. pylori için seropozitifliği olan O kan grubu olmayan bireylerde pankreas kanseri riskinin daha önemli olduğunu göstermektedir[121].

2.2.2.14. **Pankreatit**

Pankreatit, akut veya kronik olabilen pankreas iltihabıdır. Pankreastan zimojen formda salınan sindirim enzimlerinin aktivasyonunun ince bağırsakta serbest bırakılmadan önce gerçekleşmesi nedeniyle oluşur. Pankreas hasarına neden olabilen tekrarlayan akut pankreatit nöbetleri, pankreasın tamamen yok edilmesiyle sonuçlanan ilerleyici, yıkıcı bir inflamatuvar süreci indükleyip glandüler hasara neden olarak kronik pankreatite yol açabilmekte ve diyet besinlerinin emilim bozukluğu, diabetes mellitus ve şiddetli ağrı ile sonuçlanmaktadır[122]. Akut pankreatitin pankreas kanserinin erken bir belirtisi olabileceği bildirilmiştir. Rijkers ve diğ. [123], ilk akut pankreatit vakası geçiren ve kronik pankreatite ilerlemeyen hastalarda pankreas kanseri gelişme riskinin %0.4 olduğunu, ancak kronik pankreatite ilerleyenlerde pankreas kanseri riskinin 9 kat arttığını bulmuşlardır. Özellikle kronik pankreatite ilerleyen hastalarda, ilk akut pankreatit vakasından sonra yapılacak pankreas kanseri taramasının, potansiyel olarak daha iyi tedavi edilebilir rezeksiyonlar ve daha iyi sağkalım ile sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir. Tekrarlayan akut pankreatit ataklarının sayısındaki artışın, pankreas kanseri gelişme riskinin artmasıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir[124]. Kronik pankreatit tedavisi için ameliyat olması gereken hastalarda pankreas kanseri gelişme riski çok

yüksektir ve erken cerrahi müdahale kronik pankreatitin pankreas kanserine ilerlemesini önlemede rol oynayabilmektedir[125].

Katyonik tripsinojen geni (PRSS1) ve serin proteaz inhibitörü Kazal tip 1 geni (SPINK1) ile ilişkili mutasyonlara sahip kalıtsal pankreatitli hastalarda beklenenden 50-60 kat daha fazla pankreas kanseri gelişme riski görülmektedir[126]. Bu mutasyonlara sahip kişilerde daha genç yaşlarda pankreatit tanısı riski ve bu hastaların bazılarında daha genç yaşta pankreas kanseri tanısı riski artmaktadır[127].

2.2.3. Pankreas Kanserinin Histolojik Tipleri

Pankreasın primer tümörlerinin çoğu maligndir ve çoğunluğu duktal karsinom olarak sınıflandırılır. Pankreas neoplazmalarının en yaygın patolojik sınıflandırması Tablo 2.1'de verilmiştir[128].

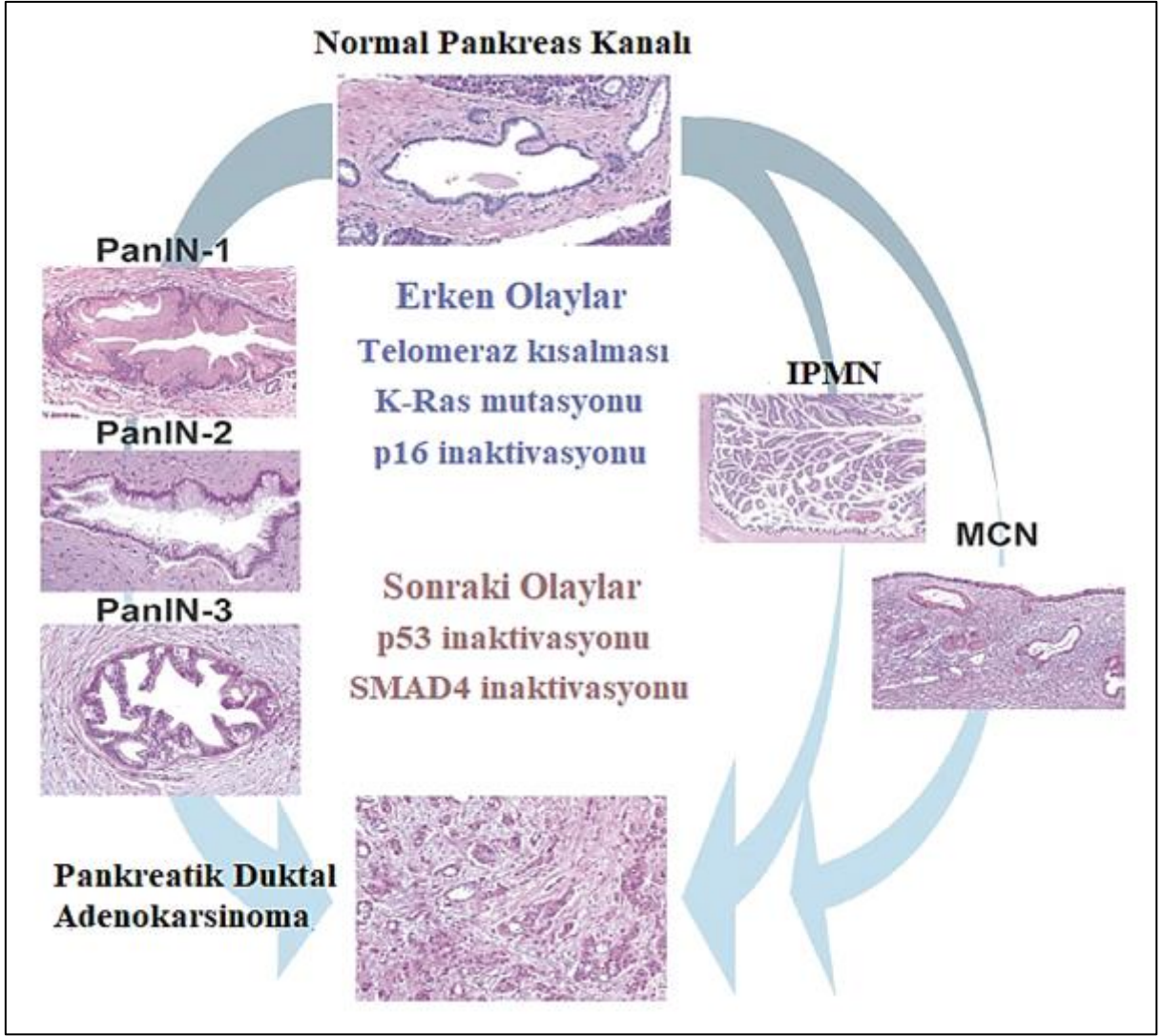
Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC) ve varyantları, tüm pankreas karsinomlarının %90'ını oluşturmaktadır. Çoğunlukla sporadik kanserlerdir. PDAC'ların yaklaşık %60-70'i pankreasın başında ortaya çıkmakta, geri kalanı vücutta (%15) ve kuyrukta (%15) bulunmaktadır. Tanı anında çoğu pankreas adenokarsinomu pankreasın ötesine yayılmıştır ve nodal metastazlar yaygındır. [129].

Tablo 2.1: Pankreas neoplazmları ve alt tipleri.

Pankreas Neoplazmları	Alt Tipleri
Duktal Adenokarsinoma [M8500/3]	Tübüler Tip [M8211/3] Müsinöz Tip Taşlı Yüzük Hücreli Tip Adenoskuamoz Karsinoma Berrak Hücreli Tip Karma Duktal Endokrin Karsinoma
Farklılaşmamış Karsinom	Anaplastik Dev Hücreli Karsinom Osteoklastik Dev Hücreli Karsinom
Sarkomatoid Karsinom/Karsinosarkom	
Asiner Hücreli Karsinom	Asiner Hücreli Sistoadenokarsinom [M8551/3] Karışık Asiner-Endokrin Karsinom [M8154/3] Karışık Asiner-Duktal Karsinom [M8154/3] Karışık Asiner Endokrin Duktal Karsinom
Seröz Kistik Neoplazmalar	Mikrokistik Seröz Kistadenom [M8441/0] Makrokistik Seröz Kistadenom
Müsinöz Kistik Neoplazmalar (MCNS)	Müsinöz kistadenom [M8470/0] MCN Borderline [M8472/1] Müsinöz kistadenokarsinom, NOS [M8470/3] - İnvaziv olmayan [M8470/2] - İnvaziv
İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazmalar	İntraduktal papiller müsinöz adenom [M8453/0]
İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazm, Borderline	
İntraduktal Papiller Müsinöz Karsinom	Noninvaziv [M8453/2] İnvaziv [M8453/3]

2.2.4. Moleküler Patogenezi

PDAC, normal mukozadan spesifik öncü lezyonlara ve nihayetinde invaziv maligniteye kadar bir dizi aşamalı mutasyonu takiben gelişmektedir (Şekil 2.3)[130]. Bu malignitenin en iyi karakterize edilen üç öncüsü pankreas intraepitelyal neoplazisi (PanIN), intraduktal papiller müsinöz neoplazmalar (IPMN) ve müsinöz kistik neoplazmalardır (MCN)[129].



Şekil 2.3: Normal pankreatik kanal yapısından pankreas adenokarsinomuna ilerleme sırasındaki olaylar.[130]

2.2.4.1. *PanIN*

PanIN, pankreas kanallarında meydana gelen, invaziv olmayan ve genellikle 0,5 cm'den küçük mikroskobik bir lezyondur [129]. Epitelyal atipiye göre 3 alt gruba ayrılır. 1) PanIN-1 (minimal atipi), 2 alt grubu vardır; A) PanIN-1A (düz tip) B) PanIN-1B (papiller tip); 2) PanIN-2 ve 3) PanIN-3 (sınırlı atipi) [131]. PanIN-1A ve PanIN-1B minimal sitolojik ve yapısal atipi gösteren erken lezyonlardır; PanIN-2 lezyonları, sık papiller oluşumu ile birlikte hafif ila orta derecede atipi göstermektedir ve "in situ karsinoma" olarak da adlandırılan PanIN-3 lezyonları, ağırlıklı olarak papiller bir patern ile ciddi sitolojik ve yapısal atipi göstermektedir [132]. PanIN tip 1, 2 ve 3'te düşükten yüksek dereceye kademeli bir ilerleme göstermektedir, bu ilerleme ile

birlikte genetik ve epigenetik mutasyonlar birikmektedir. Bir öncü neoplastik klonun, malign bir klona dönüşmesinin 10 yıldan fazla sürdüğü ve ardından metastatik alt klonların ortaya çıkması için birkaç yıl daha sürdüğü tahmin edilmektedir. PanIN mutasyonlarla ilişkilidir, prevalansı yaşla birlikte artmaktadır ve genellikle pankreasın başında yer almaktadır[38].

2.2.4.2. *IPMN*

IPMN, PanIN'den sonra ikinci majör pankreas kanseri öncü lezyonudur. IPMN'ler, ana veya dal pankreas kanallarından kaynaklanabilen invaziv olmayan, heterojen bir kistik makroskopik lezyon grubudur. Bu tümörler sıklıkla büyük miktarlarda müsin üretmektedir ve bu da duktal dilatasyona ve bazen de pankreas kanalının tıkanmasının bir sonucu olarak pankreatite yol açmaktadır. Dört histolojik alt tip tanımlanmıştır (gastrik, intestinal, pankreatobiliyer ve onkositik). Pankreas yan dal kanalı IPMN'leri esas olarak gastrik fenotiptedir. İntestinal tipi çoğunlukla kolloid veya tübüler tipte invaziv kansere ilerleyen pankreas ana kanal IPMN'de görülmektedir [133].

2.2.4.3. *MCN*

Müsinöz kistik neoplazmalar (MCN), çoğunlukla bezin gövdesi veya kuyruğunda ortaya çıkan pankreasın büyük premalign lezyonlarıdır. Genellikle soliterdir ve boyları 5 ile 35 cm arasında değişebilmektedir. Kalın/fibrotik duvarlıdır ve müsin, hemorajik sıvı ve nekrotik materyal içerebilmektedirler. MCN'ler pankreatik kanalla bağlantılı değildir ve tipik olarak birkaç septasyona sahip benzersiz, uniloküler veya pluriloküler kistlerdir. Genellikle kalın bir duvar gösterirler (>2 mm) ve patognomonik over tipi stroma ile çevrilidirler[131,133]. Mikroskopik olarak displazi şiddetine göre a) hafif MCN b) orta MCN ve c) şiddetli MCN olarak 3 gruba ayrılmaktadır. Makroskopik olarak ise soliter, multiloküler ve uniloküler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Genellikle yavaş büyürler, epigastrik rahatsızlık ve şişkinliğe neden olabilmektedirler ve abdominal kitle taraması sırasında tesadüfen saptanmaktadır [131].

2.2.5. Genetik Değişiklikler

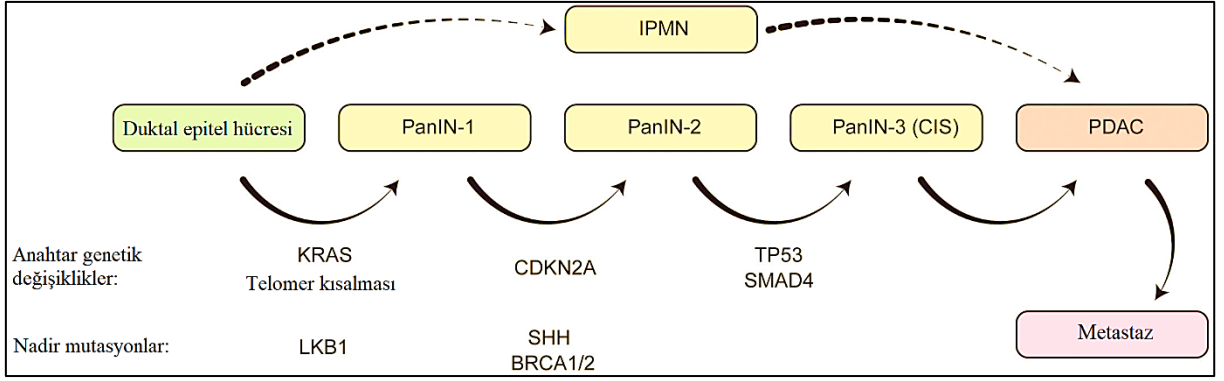
Yapılan çalışmalar PDAC'ın dört yaygın genetik değişiklikle karakterize, moleküler olarak heterojen bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur. Bunlar onkojenik KRAS mutasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, TGF- β /SMAD4 değişiklikleri ve telomer anormallikleridir.

2.2.5.1. *Onkojenik KRAS Mutasyonları*

Aktive edici Kristen rat sorkoma virüs (KRAS) mutasyonları, PDAC ilerlemesinin tanımlayıcı genetik özelliğidir ve PDAC'ın yaklaşık %92'sinde bulunmaktadır. RAS süper ailesinin bir üyesi olan KRAS, hücre çoğalması, farklılaşması, canlılığı ve göçü dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçleri düzenleyen küçük bir GTPaz'ı kodlamaktadır. Normal fizyolojik koşullar altında, KRAS, GTP'ye bağlı aktif formu ve GDP'ye bağlı inaktif formu arasında döngü yapmaktadır. Bu iki durum arasındaki geçiş, KRAS'ın GTP'yi hidrolizini aktive eden GTPaz aktive edici proteinler ve GDP'nin ayrılmasını sağlayan guanin nükleotid değişim faktörleri tarafından düzenlenmektedir. Pek çok kanser türünde, KRAS GTP'yi hidrolize etme yeteneğini bozan mutasyonlara uğramaktadır[134]. PDAC'da en yaygın olan kodon 12'deki KRAS nokta mutasyonları, nükleotit bağlanma bölgesinin yakınında meydana gelir, KRAS'ı GAP'lere karşı duyarsızlaştırır ve GTP hidrolizini inhibe ederek yapısal olarak aktif bir KRAS oluşmasına neden olmaktadır. KRAS mutasyonu, RAF/MEK/ERK ve fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K) dahil olmak üzere temel mitojenik ve hayatta kalma sinyal yollarının aktivasyonlarına yol açmaktadır[135]. Genetiği değiştirilmiş fare modellerinin in vivo çalışmaları, PanIN'lerin KRAS'ı aktive eden mutasyonların bir sonucu olarak geliştiğini, ancak tek başına PDAC'ye yol açmadığını göstermiştir. Malign tümör ilerlemesi için çoklu tümör baskılayıcı genlerin (CDK2NA, P53 ve SMAD4) izleyen ve kombine inaktivasyonu da gereklidir [134].

2.2.5.2. *Tümör Baskılayıcı Genler*

Tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü durmasını, apoptozu veya yaşlanmayı indükleyerek onkojenik mutasyonlarının varlığında hücre çoğalmasını kısıtlamaktadır. Bu genlerin fonksiyonel inaktivasyonu tümör gelişimi için esastır. PDAC'de bir dizi tümör baskılayıcı gen fonksiyonel kayba uğramaktadır. PDAC'da fonksiyonel kayba uğrayan en yaygın üç gen CDKN2A, TP53 ve SMAD4/DPC4'dür. Bu genlerin inaktivasyonu, onkojenik KRAS mutasyonunun ortaya çıkmasını takiben sıralı bir şekilde gerçekleşmektedir (Şekil 2.4)[134].



Şekil 2.4: Pankreas adenokarsinomunda gerçekleşen genetik değişiklikler.

Siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A(CDKN2A) inaktivasyonu, tipik olarak PDAC'nin gelişmesinden önce orta derecede gelişmiş PanIN'lerde tespit edilmektedir. CDKN2A, sikline bağımlı bir kinaz inhibitörü olan p16^{INK4A} proteinini kodlar. p16^{INK4A} retinoblastoma duyarlı tümör baskılayıcı proteinin (RB) siklin bağımlı kinaz 4/6 (CDK4/6) aracılı fosforilasyonunu inhibe ederek hücre döngüsünün S fazına girişini engellemektedir. PDAC'de gözlenen en erken ve en sık değişen tümör baskılayıcı genidir. Tümörlerin yaklaşık %95'i, ikinci alel kaybı (%40), homozigot delesyon (%40) veya promotör hipermetilasyonu (%15) ile birlikte intragenik mutasyonun bir sonucu olarak bu genin fonksiyonel kaybını sergiler[134,138]. CDKN2A ayrıca diğer bir tümör baskılayıcı p14^{ARF} (alternatif okuma çerçevesi geni/protein 14) proteinini kodlar [135]. p14^{ARF}, p53'ün aktivitesini ve stabilitesini kontrol eden bir E3 ubiquitin ligaz olan MDM2 (Mouse double minute 2 homolog)'nin fizyolojik inhibitörüdür ve p14^{ARF} aktivitesinin kaybı, p53'ün kaybına benzer bir etkiye sahip olabilmektedir[136]. p14^{ARF}, G2 fazında hücre döngüsü durmasını ve ardından p53'e bağımlı ve p53'ten bağımsız bir şekilde apoptozu indükler ve bu nedenle bir tümör baskılayıcı olarak kabul edilmektedir[137]. CDKN2A geninde mutasyonlara sahip pankreas kanserlerinde, hem p16^{INK4A} hem de p14^{ARF} tümör baskılama yollarının kaybı ortaya çıkmaktadır[138,139].

PDAC'deki bir diğer önemli tümör baskılayıcı gen, p53 transkripsiyon faktörünü kodlayan TP53'tür. Hücre stresine ve/veya onkogen aktivasyonuna yanıt olarak p53 hücre döngüsü durması, apoptoz, DNA hasarı onarımı ve hücre metabolizma ile ilgili genlerin aktivasyonunu hedeflemektedir[135]. Bu genin fonksiyonel kaybı, yanlış anlamalı mutasyon ve heterozigotluk kaybının bir sonucu olarak tümörlerin %75'ine kadar gözlenmektedir. Amino asit değişimi, p53'ün DNA'yı bağlama yeteneğini bozmakta, böylece bir transkripsiyon faktörü

olarak işlevini ortadan kaldırmaktadır. Sonuç olarak, mutant p53, hücresel strese veya DNA hasarına yanıt olarak hücre döngüsü durmasını veya apoptozu destekleyen genlerin ekspresyonunu indükleyemez[134, 130]. p53'ün inaktivasyonu tipik olarak CDKN2A kaybını takiben gelişmiş PanIN'lerde gözlenmektedir [140]. PDAC'deki TP53 mutasyonlarının, hastalığın yüksek oranda metastatik doğasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir[141]. TP53 kayıplarının, pankreatik tümör büyümesini ve gemsitabin tedavilerine direnci teşvik etmek için Janus kinaz/sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (JAK2/STAT3) sinyal yolunu aktive ettiği, bunun da kötü prognoz ve düşük hasta sağkalımıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir[142].

2.2.5.3. *TGF- β /SMAD4 Değişiklikleri*

SMAD4 (Mothers against decapentaplegic homolog 4/ DPC4) geni çoğalma, hücre göçü, apoptoz ve epitelyal-mezenkimal geçişe (EMT) aracılık eden bir yol olan dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) sinyal kaskadının anahtar transkripsiyonel düzenleyicisidir [135]. TGF- β sinyal yolundaki değişiklikler, hem apoptozu hem de invazyon ve metastazı indüklediği için PDAC patogenezinde önemli rol oynamaktadır. SMAD4 mutasyonları ve homozigot delesyonları PDAC tümör gelişimine yol açmaktadır[143]. PDAC vakalarının yaklaşık %90'ı SMAD4 lokusu için heterozigosite kaybı sergilemektedir[134]. Tümörlerin ~%50 ila %60'ında SMAD4 fonksiyonunun kaybı bulunmaktadır ve cerrahi hastalarda kötü sonuçlarla ilişkilidir[135]. SMAD4 inaktivasyonu, yalnızca PanIN-3 lezyonlarında ve invaziv tümörlerde saptanan geç bir olaydır[144]. SMAD4 kaybı, ROS indüksiyonu ve otofajinin teşvik edilmesi nedeniyle pankreas kanserinin radyoterapiye direncini sağlamaktadır [145].

2.2.5.4. *Telomer Anormallikleri*

Telomerler, lineer kromozomların uçlarını koruyarak genomun bütünlüğünü koruyan özel nükleoprotein yapılarıdır. Bu yapılar, DNA replikasyonu nedeniyle hücre bölünmesi nedeniyle kısalmaktadır. Telomerler kritik derecede kısalduğunda, kardeş kromatitler uçlarında birleşerek bir köprü oluşturabilmekte ve bu bağlantı anafaz sırasında bir sorun teşkil etmektedir[134]. Mitoz bölünme sırasında kaynaşmış kardeş kromatitler kırıldığında, kromozomal kırılma bölgelerinde bölgesel amplifikasyonları ve delesyonları teşvik eden kırılma füzyon-köprü (BFB) döngüleri yoluyla prokarsinogenik kromozomal yeniden düzenlemelerin üretilmesine neden olmaktadır[146]. Kritik derecede kısa telomerlere ve devam eden BFB olaylarına sahip hücrelerin hayatta kalması, p53'e bağlı DNA hasar cevabının devre dışı bırakılmasıyla arttırılmaktadır; bu nedenle telomer disfonksiyonu ve p53 kaybı, çoklu

dokularda karsinomların gelişimini desteklemek için işbirliği yapmaktadır[130]. Düşük dereceli PanIN'lerin %90'ından fazlasında telomer erozyonu gözlemlenmesi, bunun PDAC patogeneğinde erken bir olay olduğunu düşündürmektedir. Bu genomik değişiklik tipik olarak p53 kaynaklı yaşlanma ile sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte, p53'ün sık inaktivasyonu, devam eden tümör hücresi proliferasyonunu sürdürmektedir. Sağlam telomer kısalması, p53 kaybından önce gelmektedir ve p53 kaybına katkıda bulunmaktadır [134].

2.2.6. Hastalığın Kliniği

2.2.6.1. *Kliniği*

Pankreas kanserli hastaların yaklaşık %70-80'inde epigastriumda ağrı görülmektedir. Ağrı mide bölgesindedir ve bazen yanlara ve arkaya yayılabilmektedir. Sarılık, kolestaz bulguları, iştahsızlık, açıklanamayan kilo kaybı, depresyon ve bazen ishal/steatore görülmektedir. Pankreas başındaki kanserlerde safra kanalının tıkanmasına bağlı ilerleyici ve koyu sarılık görülmektedir [132]. Pankreatik vücut-kuyruk karsinomları safra kanalından daha uzakta oldukları için nadiren sarılık ile ortaya çıkmakta ve sadece kilo kaybı ve karın ağrısı ile ortaya çıkabilmektedir. Lokasyondan bağımsız olarak, belirsiz semptomlar nedeniyle pankreas kanseri teşhisi son derece zor olabilmektedir [131].

Pankreas kanseri tanısında karbohidrat antijen (CA) 19-9, CA 125, CA 72-4, CA 50, CA 242 gibi tümör belirteçleri kullanılmaktadır. CA 19-9, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi tarafından pankreas kanserinin rutin tedavisinde kullanım için onaylanan tek belirteçtir [129]. CA 19-9 pankreas, safra sistemi ve mide, kolon, rahim ve tükürük bezlerindeki epitelial hücrelerdeki duktal hücreler tarafından üretilmektedir. PDAC ile birlikte, CA 19-9 aynı zamanda her çeşit benign ve malign mide-bağırsak ve mide-bağırsak dışı hastalıkta da aşırı eksprese edilmektedir [147]. Bu nedenle bu test pankreas kanserini taramak ve teşhis etmek için yeterince hassas değildir [132].

Hastalığın tanısında çeşitli görüntüleme tekniklerinden yararlanılmaktadır. Bilgisayarlı tomografi (BT), pankreas kanserini değerlendirmek için birincil görüntüleme yöntemi ve altın standarttır. Primer pankreas malignitesini teşhis etmek, rezektabiliteyi değerlendirmek ve metastazları değerlendirmek için kullanılmaktadır. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI),

alternatif bir görüntüleme yöntemidir. Fakat pankreas kanseri tanısında veya değerlendirilmesinde BT'den daha doğru değildir. Endoskopik ultrason (EUS), pankreas başı çevresindeki lezyonların daha yakından incelenmesi, biyopsisi veya evrelemesi için kullanılabilir. Tanıda kullanılan diğer görüntüleme yöntemleri ise Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi (ERCP), Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ve Tanısal/Evreleme Laparoskopisidir [132].

2.2.6.2. *TNM Evrelemesi*

Pankreas kanseri için en yaygın kullanılan evreleme sistemi Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC) tarafından belirlenen TNM evreleme sistemidir [148].

Tablo 2.2: TNM evreleme sistemi (8.bs.).

	Primer Tümör (T)		Bölgesel Lenf Düğümleri (N)		Uzak Metastazlar (M)
T1	Maksimum tümör çapı ≤ 2	N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok	M0	Uzak metastaz yok
T2	Maksimum tümör çapı >2 ya da ≥ 4	N1	1-3 bölgesel lenf düğümünde metastaz	M1	Uzak metastaz var
T3	Maksimum tümör çapı ≥ 4	N2	≥ 4 bölgesel lenf düğümünde metastaz		
T4	Tümör çölyak eksenini veya superior mezenterik arteri içerir (rezeke edilemeyen primer tümör)				

Tablo 2.3: TNM evreleme sistemine göre evre grupları (8.bs.).

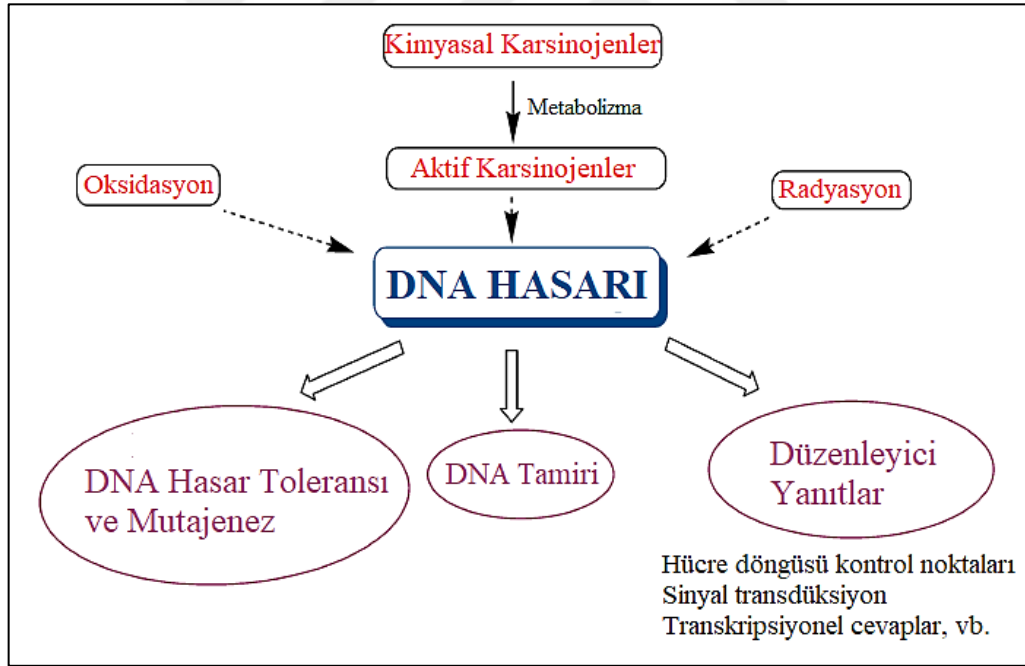
Evre Grupları			
1A	T1	N0	M0
1B	T2	N0	M0
2A	T3	N0	M0
2B	T1-T3	N1	M0
3	Herhangi bir T	N2	M0
	T4	Herhangi bir N	
4	Herhangi bir T	Herhangi bir T	M1

2.2.7. Tedavi

Pankreas kanseri tedavisi cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi ve palyatif bakımı içermektedir. Tedavi seçenekleri multidisipliner bir yaklaşımla pankreas kanserinin evresine göre seçilmektedir [131]. Cerrahi rezeksiyon pankreas kanseri için tek potansiyel tedavidir, ancak nüks oranları yüksek ve uzun süreli sağkalım oranları düşüktür [129]. Cerrahi rezeksiyona ek olarak, PDAC için optimal tedavi stratejisi ve tek tedavi potansiyeli, rezeksiyondan önce (neoadjuvan) veya sonra (adjuvan) verilen kemoradyasyonu içermektedir. Metastatik pankreas kanseri için birkaç etkili kemoterapötik seçenek mevcuttur[132]. Metastatik pankreas kanseri için birkaç etkili kemoterapötik seçenek mevcuttur. 1990'lardan beri, gemsitabin tercih edilen standart ajan olarak kabul edilmektedir. Birden fazla farklı ajan gemsitabin ile kombinasyon halinde veya tek başına değerlendirilmesine rağmen, çok azı ileri evre hastalarda sağkalım üzerinde olumlu etki göstermektedir. Son dönemlerde kullanılan, FOLFIRINOX (5-fluorourasil, lökovorin, irinotekan, oksaliplatin) rejimi ve gemsitabin + nab-Paklitaksel rejimi ile tek başına gemsitabine göre daha yüksek yanıt alınmaktadır[149].

2.3. DNA HASARI

DNA hasarı, bir dizi endojen ve eksojen faktör yoluyla tüm organizmalarda sürekli olarak meydana gelmekte ve sonuçta kansere yol açan birçok biyolojik süreçte merkezi bir rol oynamaktadır (Şekil 2.5). Genotoksik ajanlar, nükleotitler arasındaki kovalent bağları bozarak DNA'da yapısal değişikliklere neden olmakta ve sonuçta genomun doğru replikasyonunu engellemektedirler. İnsan vücudundaki çoğu hücre, genom replikasyonu ve transkripsiyonunda değişikliklere yol açan DNA hasarına maruz kalmaktadır. DNA onarım mekanizması bu lezyonların bazılarını düzeltebilse de onarılmamış veya yanlış onarılmış DNA, hücresel işlevi etkileyen genom bozulmalarına ve mutasyonlara yol açabilmektedir. Özellikle onkogenlerde, tümör baskılayıcı genlerde, hücre döngüsünü kontrol eden genlerde meydana gelen genetik hasar hücrenin hayatta kalmasını veya çoğalmasını etkileyebilmektedir. Bu tür DNA hasarı kanserojen olmaktadır[150].



Şekil 2.5: DNA hasarı.[150]

2.3.1. DNA Hasar Tipleri

DNA hasarları endojen ve eksojen faktörler aracılığı ile oluşmaktadır. Endojen DNA hasarının çoğu, hücrelerde doğal olarak bulunan su ve ROS ile hidrolitik ve oksidatif

reaksiyonlara giren kimyasal olarak aktif DNA'dan kaynaklanmaktadır. DNA'nın yakın çevresindeki moleküllerle bu tür doğal reaksiyonları, kalıtsal hastalıkların ve sporadik kanserlerin gelişimini tetiklemektedir. Eksojen DNA hasarı ise çevresel, fiziksel ve kimyasal ajanlar DNA'ya zarar verdiğinde meydana gelmektedir. Bu ajanlar arasında UV ve iyonlaştırıcı radyasyon, alkilleyici maddeler ve çapraz bağlayıcı maddeler yer almaktadır [151].

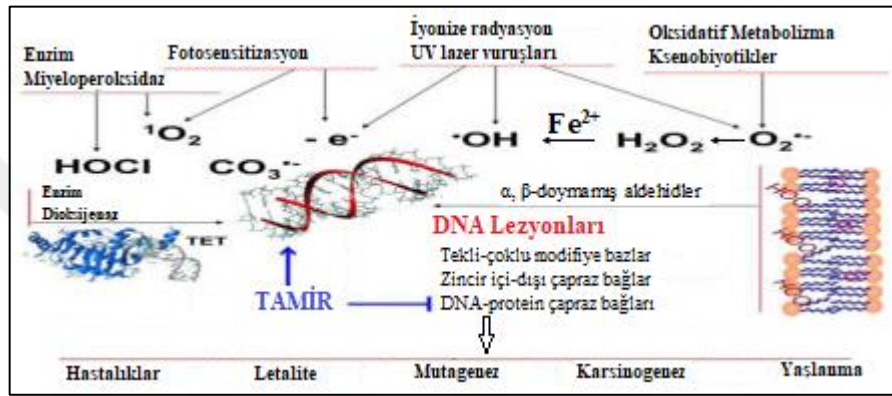
Endojen ajanlar, replikasyon stresini indüklemekte veya oksidatif metabolizmadan türeyen serbest radikaller DNA ile etkileşmektedir. İyonlaştırıcı veya ultraviyole (UV) radyasyon ve kemoterapi gibi eksojen ajanlar ise baz modifikasyonları, sarmalı bozan büyük lezyonlar veya DNA ipliklerinin çapraz bağlanması yoluyla DNA'da tek zincir (SSB) veya çift zincir kırıkları (DSB) gibi yapısal değişiklikleri indüklemektedirler. Bu hasarlar çeşitli DNA onarım mekanizmaları tarafından onarılmaktadırlar. DNA onarımında görevli proteinler, hasar bölgelerini tanımak için kontrol noktalarını tetiklemekte veya onarım yollarını aktive etmekte ya da apoptozu indüklemektedirler. DSB'ler yetersiz onarıma yol açmaları, mutasyonlara veya hücre ölümüne neden olmaları nedeniyle ökaryotik hücrelerde DNA hasarının en şiddetli şeklini oluşturmaktadırlar[152].

2.3.1.1. *Oksidatif DNA Hasarı*

ROS, hücrelerde normal mitokondriyal aktivitenin bir yan ürünü olarak üretilmektedirler, bunlar arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) bulunmaktadır. ROS üreten metabolik süreçler hücre için esastır, ancak uygun şekilde kontrol edilmezse aşırı ROS üretimi hücrenin antioksidan temizleme yeteneğini aşabilir. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu hücresel koşul altında, ROS, hücresel makromoleküllerde kapsamlı hasara neden olabilmektedir [153]. Ayrıca enflamasyon da oksijen ve nitrojen kaynaklı türler üretmektedir. Bunlar insan patofizyolojisinin ve tümör ilerlemesinin kritik bir bileşeni olarak kanserin ayırt edici özellikleridir [154]. DNA'nın yapısı özellikle hasara karşı hassastır ve DNA hasarının insanlarda 10^4 lezyon/hücre/gün oranında meydana geldiği tahmin edilmektedir ve özellikle oksidatif DNA hasarı en yaygın hasar türüdür [153].

Aerobik solunum sırasında, oksijenin bir elektron indirgemesinin ürünü olan reaktif süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) üretilmektedir. Daha sonra $O_2^{\cdot-}$, redoks sinyallemede yer alırken biyomoleküllere karşı çok düşük bir reaktivite sergileyen hidrojen peroksit (H_2O_2) süperoksit dismutaz enzimi ile dönüşmektedir. Oluşan H_2O_2 demir ve bakır iyonları gibi geçiş metalleri

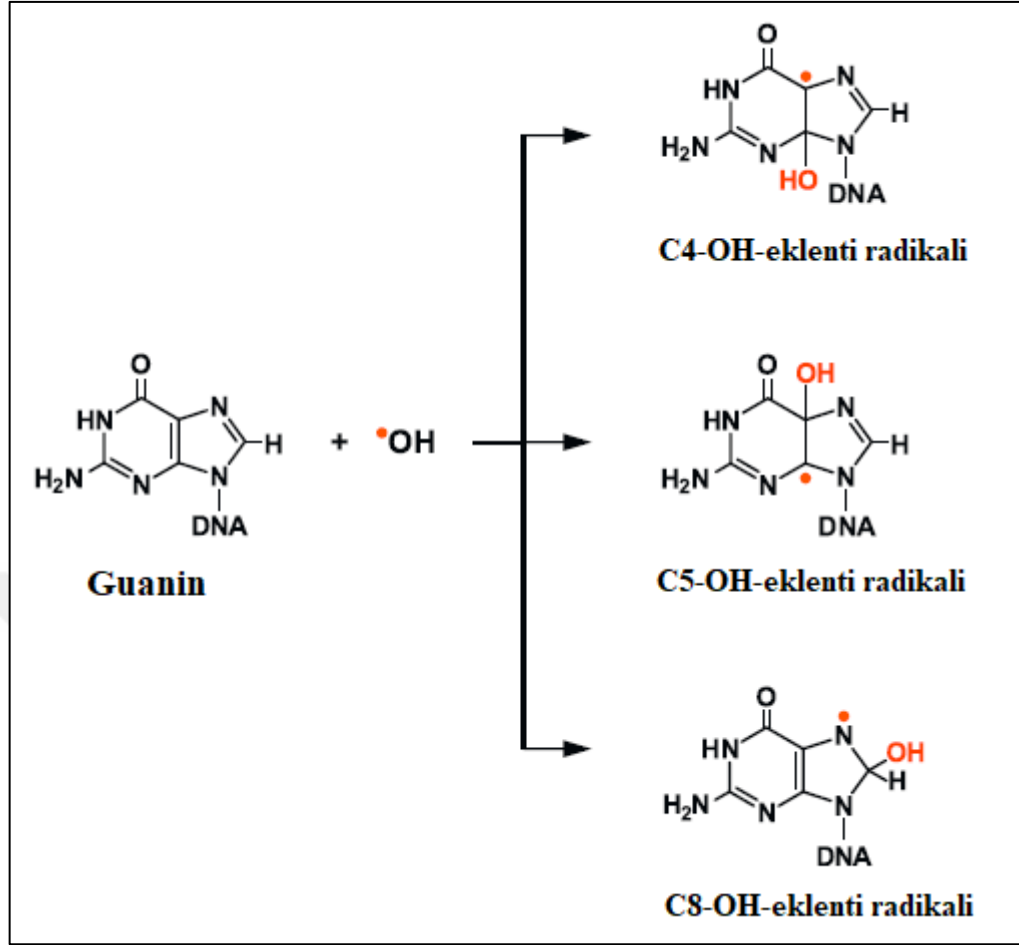
tarafından Haber-Weiss reaksiyonu ile hücrel DNA'nın çoğu oksidatif bozunma yollarında yer alan oldukça reaktif hidroksil radikallerine ($\bullet\text{OH}$) indirgenmektedir. Önemli bir çevresel faktör olan güneş radyasyonunun UVA bileşeni de, çoğunlukla başka bir ROS olan singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) oluşumu yoluyla DNA'ya zarar vermektedir. Hem $\bullet\text{OH}$ üretici hem de güçlü bir tek elektronlu oksidan görevi gören iyonlaştırıcı radyasyon da DNA'nın oksitleyici ajanı olarak kabul edilmektedir. $\bullet\text{OH}$, ağırlıklı olarak nükleobazların 5,6-pirimidin ve 7,8-purin çift bağlarına katılarak O_2 'nin daha sonra ekleyebileceği veya bir elektron oksitleyici ajan gibi davranabileceği radikal ara maddelere yol açmaktadır (Şekil 2.6) [155].



Şekil 2.6: ROS oluşumu ve DNA'ya etkileri.

2.3.1.2. 8-oksoG

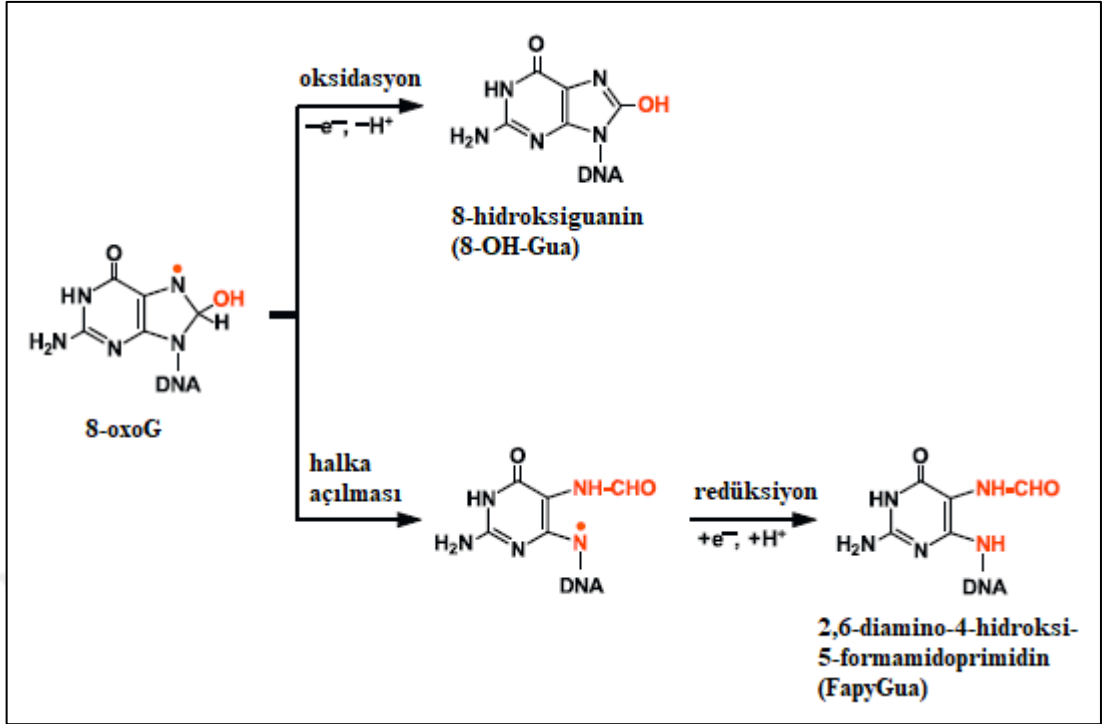
Guanin, diğer nükleotidlere göre oksidasyon potansiyelinin düşük olması nedeniyle en sık oksitlenen nükleotiddir [153]. $\bullet\text{OH}$ 'nin guanin bazına katılımı C4, C5 ve C8 pozisyonlarına olmaktadır (Şekil 2.7) [154].



Şekil 2.7: Hidroksil radikalının guanin ile reaksiyonları.

Guaninin oksidasyon ürünü olan 7,8-dihidro-8-oksoguanin (8-oksoG), genomdaki en baskın DNA oksidatif lezyonudur. 8-oksoG 1980'lerin başında iki Japon araştırmacı [156] tarafından tanımlandığından beri binlerce çalışma ile DNA'daki ve hastalıklardaki rolü araştırılmaktadır. Literatürde, bu temel lezyon 8-hidroksiguanin ve 8-oksoguanin olmak üzere çeşitli şekillerde adlandırılmaktadır; bu, fizyolojik koşullar altında baskın olan keto-enol tautomerizmini yansıtmaktadır [157]. Bilimsel literatürlerde aynı bileşik için 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve 8-oksodG kullanılmaktadır [158].

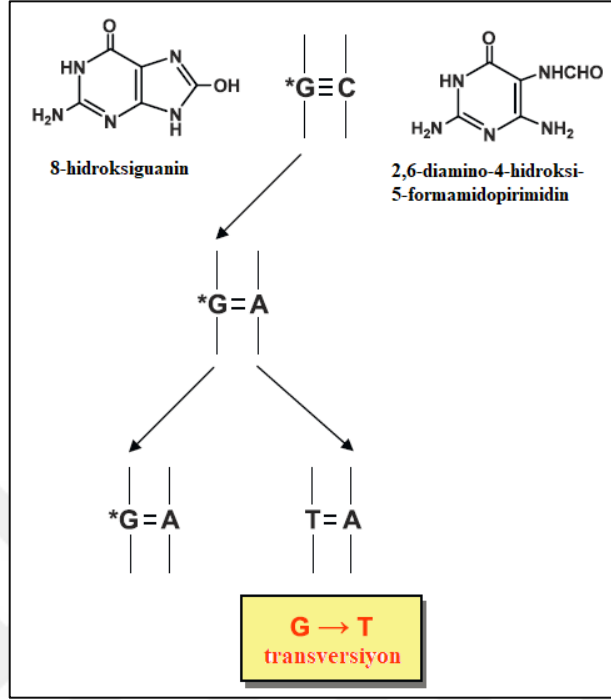
8-oksoG'nin redoks potansiyelinin hala düşük olması nedeniyle bir elektron oksidasyonu ile 8-hidroksiguanin (8-OHGua) oluşturabilmektedir. Ayrıca 8-oksoG'nin imidazol halkasının açılması ve bir elektron indirgemesi ile 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) açığa çıkmaktadır (Şekil 2.8) [154].



Şekil 2.8: 8-oksoG'nin 8-OH-Gua ve FapyGua oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonları.

8-oksoG'nin (ve modifikasyon ürünlerinin) oluşumu, nükleik asitlerin en sık görülen oksidatif hasarı türüdür ve 8 oksoG'nin oksidatif stresin ana biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir [159,160]. Bu lezyon, DNA polimeraz I dışında, memeli hücrelerinde DNA replikasyonunda önemli bir bloğa neden olmamaktadır [161]. DNA polimerazları δ , κ , β , λ ve γ dahil olmak üzere replikatif ve onarım DNA polimerazlarının syn- veya anti-konformasyondaki bir 8-oksoG'nin karşısına dATP veya dCTP'yi verimli bir şekilde yerleştirdiği gösterilmiştir. 8-oksoG(anti), guanin'e benzer şekilde sitozin ile bir Watson-Crick baz çifti oluştururken, N-glikosidik bağı etrafındaki bir dönüş, adenin ile uyumsuz bir baz çifti oluşturmak için 8-oksoG(syn)'in Hoogsteen kenarını oluşturmaktadır [162] (Şekil 2.9) [154]. Dupleks DNA'da 8-oksoG'nin syn-konformasyonunun stabilitesi, sonraki replikasyon turları sırasında G:C $\rightarrow$ T:A transversiyon mutasyonlarında bir artışa neden olmaktadır. Guaninin nükleotid formu da 8-oksodGTP üreterek oksitlenebilmektedir. Bu durum, 8-oksoG'nin genomda ortaya çıkması için daha fazla fırsat sağlayarak replikasyon ve onarım sırasında hem A:T $\rightarrow$ C:G hem de G:C $\rightarrow$ T:A transversiyonları meydana getirmektedir. 8-oksoG DNA lezyonu ayrıca oksidatif hasara karşı oldukça hassastır ve ek mutajenik baz lezyonları olan

guanidinohidantoin ve spiroiminodihidantoin oluşturmaktadır. Ayrıca FapyGua da 8-oksoG gibi mutajeniktir ve ağırlıklı olarak G:C → T:A transversiyonları üretmektedir [153].



Şekil 2.9: G→T transversiyon mutasyonunun oluşumu.

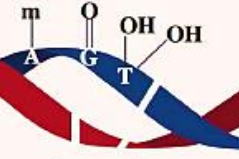
G→T transversiyon mutasyonları, insan kanserlerinde bulunan ikinci en yaygın somatik mutasyonlardır ve tümör baskılayıcı gen TP53'teki tüm mutasyonların %14.6'sını oluşturmaktadır. Elbette bu, bu mutasyonların tamamen 8-OH-Gua ve FapyGua'dan kaynaklandığı anlamına gelmemektedir. Diğer DNA lezyonları da bu tür mutasyonlara yol açabilmektedir [163]. 8-oksoG, çift sarmal DNA'da tanınmakta ve ökaryotlarda, baz eksizyon onarım (BER) mekanizması yoluyla oldukça spesifik bir 8-oksoguanin DNA glikosilaz 1'in (OGG1) etkisi altında DNA'dan kesilmektedir [164]. Oluşan hasar onarılmazsa, oksidatif olarak indüklenen DNA hasarı, kanserin ayırt edici özelliği olan mutageneze ve genetik kararsızlığa yol açabilmektedir [154].

2.3.2. DNA Tamir Mekanizmaları

İnsan DNA'sı her gün çok sayıda DNA'ya hasar veren ajana maruz kalmaktadır. Bu lezyonların tamir sürecindeki herhangi bir kusur, translasyonu ve transkripsiyonu etkileyerek,

hücre sağkalımını veya organizma yaşamını etkileyen mutasyonlara veya büyük genom anormalliklerine yol açabilmektedir[165]. Kanser; delesyonlar, translokasyonlar, heterozigotluk kaybı ve amplifikasyonlar gibi yüksek genom modifikasyonlarından veya DNA anormalliklerinden başlamaktadır. DNA hasarı ve tamir genlerindeki kusurlar, mutasyonların birikmesi ve kanser gelişiminden sorumludur [166].

Bu olumsuzlukların ortadan kaldırılması için hücrede çeşitli tamir mekanizmaları devreye girmektedir (Şekil 2.10). Bu tamir mekanizmaları doğrudan tamir, baz eksizyon tamiri (BER), nükleotid eksizyon tamiri (NER), yanlış eşleşme tamiri (MMR), DNA zincir kırıkları tamiri, homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) ve homolog rekombinasyon tamiridir (HRR) [152].

DNA'ya zarar veren ajanlar	Toksinler Alkilleyici ajanlar Baz deaminasyonu Replikasyon hataları	Oksidatif hasar Elektrofiller	İyonize edici radyasyon UV radyasyon Çapraz bağlayıcı ajanlar Aromatik bileşikler
Hasarlı DNA			
DNA onarım yolları	Yanlış eşleşme tamiri Baz eksizyon tamiri	Baz eksizyon tamiri Tek zincir kırıkları tamiri Çift zincir kırıkları tamiri	Nükleotid eksizyon tamiri Zincirler arası çapraz bağlanma tamiri Tek zincir kırıkları tamiri Çift zincir kırıkları tamiri Translezyon sentezi

Şekil 2.10: DNA hasar kaynakları, lezyonlar ve tamir yolları.[151]

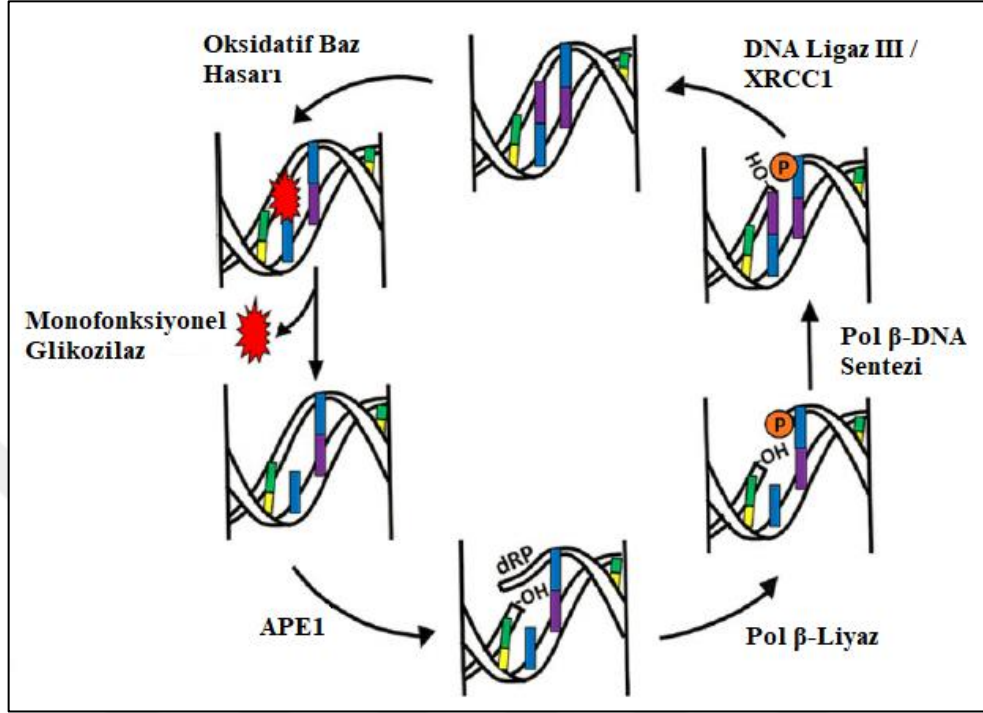
2.3.2.1. Baz Eksizyon Tamiri (BER)

Baz eksizyon onarımı, her hücrede günde binlerce kez meydana gelen solunum, doğal hidroliz ve alkilasyon reaksiyonları tarafından üretilen oksidatif hasarı onaran oldukça korunmuş bir mekanizmadır. İnsanlarda en az 30 protein, hem tek bir küçük hasarlı bazın

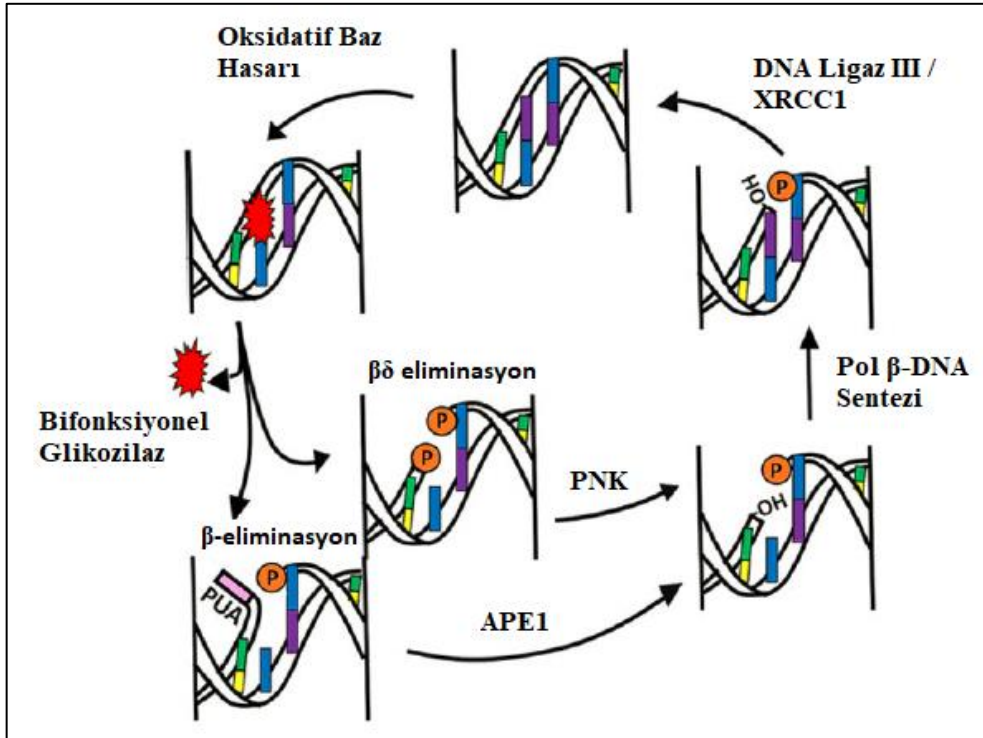
çıkarıldığı kısa parça onarımında (Short Patch BER), hem de hasarlı bölgeyi değiştirmek için 2-8 nükleotidin sentezlendiği uzun parça onarımında (Long Patch BER) yer almaktadır [167]. BER'in başlama adımında, hasara özgü bir DNA glikosilaz, hasarlı bazı DNA'da tanımlayarak uzaklaştırmaktadır. Genel olarak, DNA glikozilazlar reaksiyon mekanizmasına bağlı olarak tek işlevli (monofonksiyonel) veya iki işlevli (bifonksiyonel) olarak sınıflandırılmaktadır [153]. Monofonksiyonel glikozilazlar yalnızca glikosilaz aktivitesine sahiptirler (urasil DNA glikozilaz gibi). Reaksiyon sonunda ortaya çıkan abazik şeker kalıntısının kesilmesi için başka bir enzim (ağırlıklı olarak APE1) gerektirmektedirler ve 5'-deoksiriboz fosfat kalıntısı (dRP) oluşturmaktadırlar. Glikozilaz bifonksiyonel ise hem glikosilaz hem de AP liyaz aktivitesine sahiptirler. (OGG1 veya NEIL1 gibi) [168]. Glikozilazların aktivitesi onarımın hangi yolu izlediğini belirlemektedir. Bifonksiyonel bir glikozilazın, ağırlıklı olarak kısa parça BER'i ve monofonksiyonel bir glikosilazın ise her iki yolu da başlattığı belirtilmiştir [169].

Klasik bir BER döngüsünde, oksitlenmiş bazın onarımının monofonksiyonel bir glikosilaz tarafından başlatılmaktadır. Bu işlem sırasında, çoklu bir protein kompleksi, replikasyonu potansiyel olarak bloke edebilecek veya genom içinde mutasyonlara neden olan hastalık prevalansını artırabilecek DNA lezyonlarını ortadan kaldırmaktadır. Bu klasik durumda, bir glikozilaz, hedef baz ile deoksiriboz arasındaki N-glikosilik bağın kesilmesi yoluyla hasarlı bazı uzaklaştırmakta ve bir apürinik/aprimidinik (AP) bölge oluşturmaktadır. Bu AP bölgesi, insan AP-endonükleaz 1 (APE1) tarafından daha sonra işlenmekte ve AP bölgesinin 5' ucunda bir çentik oluşturarak 3'-hidroksil ve 5'-deoksiribozfosfat (dRP) uçları açığa çıkarmaktadır. 5'-dRP, polimeraz beta'nın (pol β) liyaz alt birimi tarafından çıkartılmakta ve pol β 'nin nükleotidil transferaz aktivitesi ile boşluğa yeni bir nükleotid eklenmektedir. X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı protein 1 eşliğinde (XRCC1) ligaz III çentiği kapatarak onarılmış bir BER ürünü üretmektedir (Şekil 2.11). Buna karşılık, bifonksiyonel bir glikosilaz, hem hasarlı bazı çıkararak hem de AP bölgesinin 3' fosfodiester bağındaki DNA'yı AP liyaz aktivitesi (ya β ya da β,δ -eliminasyon) aracılığıyla bölerek tek iplikli bir kırılma oluşturmakta ve BER döngüsünü başlatmaktadır. Glikozilaz β -eliminasyonundan kaynaklanan 3'- α,β -doymamış aldehit, APE1'in fosfodiesteraz aktivitesi ile giderilmektedir. Bifonksiyonel glikosilaz bir β,δ -eliminasyon mekanizması kullanıyorsa, oluşan 3'-fosfat grubu polinükleotit kinaz (PNK) tarafından uzaklaştırılmaktadır. Hem APE1 hem de PNK, 3' ucunda bir hidroksil bırakarak, klasik BER'deki gibi pol β ile boşluk doldurmakta ve ligaz III/XRCC1 ile ligasyonu gerçekleştirmektedir (Şekil 2.12) [153,170]. Sonuç olarak tamir mekanizmasında hangi yol

kullanılırsa kullanılsın, hücreden atılan ürün modifiye edilmiş baz olacaktır, çünkü her iki yol da bir glikosilaz aktivitesi içermektedir [157].



Şekil 2.11: Monofonksiyonel glikozilazlar tarafından başlatılan klasik BER mekanizması.



Şekil 2.12: Bifonksiyonel glikozilazlar tarafından başlatılan BER mekanizması.

BER işlevindeki değişiklikler çeşitli kanser türleri başta olmak üzere Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve diğer nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Kansere DNA'da gerçekleşen mutasyonlar sebep olmaktadır ve DNA onarım enzimlerinin işlevi, oksidatif stres ve kanser arasında bir bağlantı oluşturmaktadır. Son derece işlevsel olan baz eksizyon onarımının sürdürülmesi, yalnızca işlevsel DNA onarım proteinlerinin varlığına değil, aynı zamanda bu enzimler arasındaki dengeye de bağlıdır. Düşük oksidatif stres koşullarında, düşük BER'li bir kişi, normal veya yüksek BER'li bir kişi gibi yine de hastalıksız olabilmektedir. Oksidatif stresin arttığı durumda, düşük BER'li bir kişi hastalık riski altındadır; bu durum Alzheimer Hastalığı veya kanserle sonuçlanabilirken, dengeli BER'li bir kişide hastalıkla sonuçlanmayabilmektedir. Yüksek oksidatif stres ve aşırı aktif BER bulunan koşullarda denge değişir ve kişide Huntington Hastalığı, kanser ve astım riski artmaktadır [153]. Epidemiyolojik çalışmalar, bu tür enzimlerin aktif bölgelerinden uzaktaki tek nükleotid polimorfizminin (SNP'ler) bile kanser oranlarını değiştirebileceğini düşündürmektedir. BER, riskli bir prosedürdür. Bir hücrenin bir gendeki bir nükleotidi koruma çabasında, tek sarmal kırılmaları yaratılır ve bu, onarım enzimleri arasında bir denge sağlanmadığında daha da kötü çift sarmal kırılmalarının yolunu açmaktadır [171]. BER'de görevli anahtar enzimlerin işlevselliğini azaltan mutasyonların ve polimorfizmlerin kolorektal, meme, pankreas, servikal kanserleri vb. ile ilişkili oldukları çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur [172–175].

2.3.2.2. *hOGG1*

OGG1, en çok araştırılan DNA glikozilazlarından birisidir. Oksidatif olarak indüklenen DNA lezyonlarından ikisi olan 8-oksoG ve FapyGua, hOGG1'in ana fizyolojik substratlarıdır [154]. İnsan OGG1 geni, birçok tümör tipinde sıklıkla kaybolan 3p26.2 kromozomunda lokalizedir ve bu bölgenin çeşitli tümörlerde sıklıkla silinmiş olarak saptanması, bu genin karsinogeneze katkısını göstermektedir [176–178]. hOGG1'i kodlayan prekürsör bir mRNA'nın alternatif birleşmesi iki ana forma sahip çoklu mRNA molekülleri üretmektedir. Bu iki ana formdan 345 amino asitlik 39 kDa olan hOGG1-1a (α -hOGG1) çekirdekte, 424 amino asitlik 47 kDa olan hOGG1-2a (β -hOGG1) ise mitokondride bulunmaktadır [177]. hOGG1 mRNA'nın diğer formları protein üretse de, sahip oldukları katalitik aktivite ve biyolojik fonksiyonları henüz belirlenmemiştir [157].

hOGG1, E. coli Fpg'nin (MutM) işlevsel bir homologudur ve β AP liyaz aktivitesine sahip bifonksiyonel bir DNA glikosilazdır [179]. Farklı dokularda yapılan yapı ve ekspresyon çalışmaları OGG1'in yapısal olarak eksprese edilen bir housekeeping geni olduğunu göstermektedir. Genin ekspresyonunun doku kaynağına göre ve bireyler arasında değişebildiği belirtilmiştir [180]. OGG1 geninde upstream promotor bölgesinde CAAT ve TATA kutuları yoktur, promotor bölgeyi kapsayan ve birinci ekzona uzanan CpG adacıkları vardır ve hücre döngüsü sırasında ekspresyon değişmemektedir [177]. hOGG1 geni, bir dizi transkripsiyon faktörü bağlanma yeri içermektedir. Bu durum, diğer housekeeping genleri tarafından bilinmeyen oksidatif stres gibi dahili veya harici uyarılara potansiyel olarak yanıt verdiğini göstermektedir. hOGG1 geninin ekspresyon ve/veya aktivitesinin oksidatif tehditler, patolojik değişimler ve gelişimsel süreçlere yanıt olarak modüle edildiği gösterilmiştir [157].

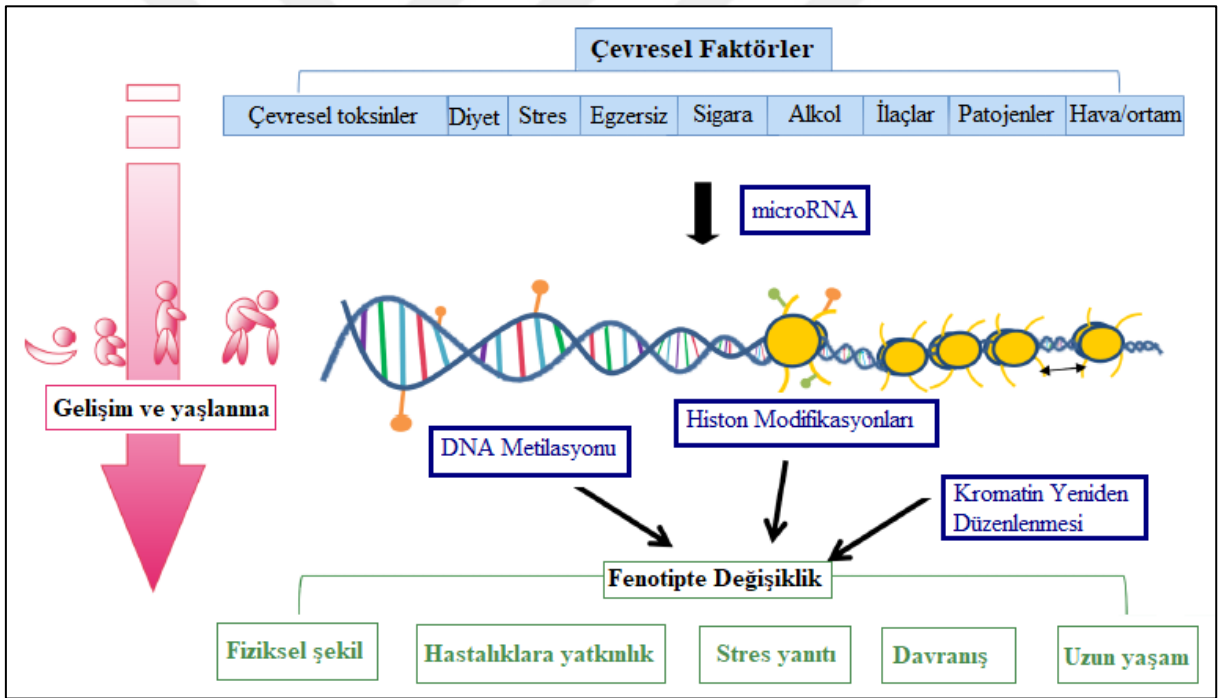
İnsan OGG1 geninde en çok çalışılan polimorfizm, ekson 7'de 1245 nükleotidinde bir C'den G'ye transversiyon olan ve 326. kalıtıda serinden sisteine süstitüsyona yol açan Ser326Cys'dir. Bu varyant işlevseldir ve Cys326 proteininin Ser326 proteininden daha zayıf 8-oksoG onarım kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. hOGG1 geninin devre dışı bırakılması veya Cys326 gibi daha az aktif bir varyantın varlığı, daha yüksek kanser riskine ve oksidasyonla ilişkili patolojilere yol açabilmektedir [181]. Donghui ve diğ. [182] yaptığı çalışma hOGG1, APEX1 ve XRCC1 BER genlerinin polimorfizmlerinin, pankreas kanseri olan hastaların klinik sonuçlarını önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir.

2.4. EPİGENETİK

1942'de Conrad Waddington, genotipte değişiklik olmaksızın fenotipte kalıtsal değişiklikleri tanımlamak için "epigenetik" terimini kullanmıştır [183]. Mevcut görüşte, epigenetiğin anlamı daha kapsamlı hale gelmekte ve genellikle "DNA dizisinde değişiklikler olmadan bir kromozomdaki değişikliklerden kaynaklanan kalıtsal fenotip" olarak ifade edilmektedir [184]. Epigenetik modifikasyonlar, sıkı bir şekilde düzenlenen doku ve hücre tipine özgü gen ekspresyon modellerinden sorumludurlar. Bu düzenlemelerdeki sapmalar, bazı hastalıklara, özellikle de bazı kanser türlerine yol açabilmektedir [185]. Belirli çevresel faktörler, bir hücre içindeki genlerin ekspresyonunu genomda mutasyonlar olmaksızın, bunun yerine epigenetik işaretleri değiştirerek etkilemektedir. Epigenomdaki bu çevresel değişiklikler

o kadar güçlüdür ki, tek yumurta ikizlerinde bile benzersiz epigenetik modeller tanımlanmaktadır [186].

Epigenetik, genomda mayotik ve mitotik olarak kalıtsal olan çeşitli geri dönüşümlü modifikasyonları tanımlamak için kullanılan geniş bir terimdir. Fetüs rahimde gelişirken epigenetik programlama başlamaktadır. Gebelik sırasında annenin çevresel maruziyeti bebeğin bu çevresel faktörlerden etkilenmesine yol açmaktadır. Bu da atalarımızın çevresinin epigenetik mekanizmalar yoluyla kendi gen transkripsiyonumuzu etkileyebileceğini göstermektedir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu, kromatin yeniden düzenlenmesi ve miRNA regülasyonu epigenetik mekanizmaları oluşturmaktadır. Bu epigenetik mekanizmalar, bir organizmanın tüm yaşamı boyunca çevresel faktörler ve fenotipik değişiklikler arasındaki bağlantıyı sağlamaktadır (Şekil 2.13) [185].



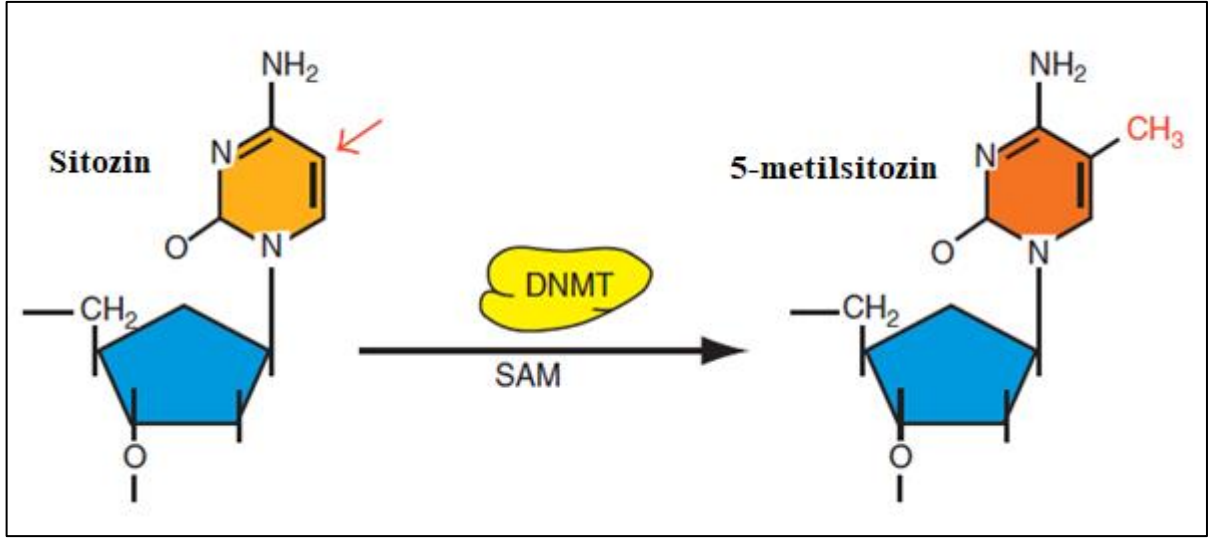
Şekil 2.13: Çevresel faktörler ve fenotipik değişiklikler arasındaki bağlantıyı sağlayan epigenetik mekanizmalar.

Epigenetik bileşenler arasındaki etkileşim, kromatin mimarisini değiştirerek transkripsiyonel aktivite ve baskılanma arasında dengeyi sağlamaktadır. DNA'nın paketlenmesinin düzenlenmesi, doğru kromozom replikasyonunun, gen ekspresyonunun ve stabil gen sessizliğinin korunmasını sağlamaktadır [187]. Epigenetik modifikasyonlar

tarafından iletilen bilgi, transkripsiyon, DNA onarımı ve replikasyon gibi tüm DNA tabanlı süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Kromatin düzenleyicilerdeki anormal ekspresyon paternleri veya genomik değişiklikler, olumsuz sonuçlara neden olabilir, çeşitli kanserlerin indüklenmesine ve korunmasına yol açabilmektedir [185].

2.4.1. DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu, memelilerde en yoğun şekilde çalışılan epigenetik modifikasyonlardan biridir ve normal hücre fizyolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [187]. DNA'nın metilasyonu kararlı bir modifikasyondur ve hücre bölünmeleri yoluyla kalıtılabilmektedir [188]. Bir sitozinin genom içindeki 5' pozisyonunun metilasyonu, enzimatik DNA metiltransferaz ailesi tarafından meydana gelmektedir ve böylece 5-metilsitozin (5-mC) oluşmaktadır. S-adenosil metiyonin (SAM), bu reaksiyonda metil grubu sağlayıcısıdır (Şekil 2.14). Genellikle "beşinci baz" olarak adlandırılan 5-metilsitozin, hücre tipine bağlı olarak insan genomundaki sitozin bazlarının tahmini %4-6'sında bulunmaktadır [185]. 5-metilsitozinin deaminasyonu timine yol açmaktadır, tanınması daha zordur ve bu nedenle mutasyona yatkındır (G:C → T:A transversiyonu) [188]. Memelilerde DNMT ailesinin beş üyesi tanımlanmıştır: DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b ve DNMT3L. Sitozin metilasyonunda yalnızca DNMT1, DNMT3a ve DNMT3b görev almaktadır [186]. DNMT1, DNA replikasyonu sırasında üretilen hemimetillenmiş DNA'yı tanıyan ve yeni sentezlenmiş CpG dinükleotitlerini metilleyen bir bakım metiltransferazıdır. DNMT3a ve DNMT3b, hem hemimetillenmiş DNA'yı metilleme yeteneğine sahiptirler hem de embriyogenez sırasında DNA metilasyonunu oluşturmak için birincil olarak de novo metiltransferazlar olarak işlev görmektedirler [189].



Şekil 2.14: SAM varlığında DNMT tarafından katalizlenen sitozinin 5'konumundan metilasyonu.[187]

DNA metilasyonunun çoğu, CpG dinükleotidleri içinde gerçekleşmektedir, ancak insan DNA'sında CpG dışında da metilasyon rapor edilmiştir. İnsan genomu, metillenmiş veya metillenmemiş durumda bulunan yaklaşık 30 milyon CpG dinükleotidi içermektedir [185,190]. CpG nükleotidlerinin yoğun tekrarları, CpG adaları olarak adlandırılmakta ve genom boyunca bulunmaktadır. Bu dinükleotidler, çoğunlukla promotör ve/veya birinci ekzon bölgesinde yoğunlaşmıştır. İnsan promotörlerinin yaklaşık %60'ı yüksek CpG içeriği ile karakterizedir. Bununla birlikte, CpG yoğunluğunun kendisi gen ifadesini etkilemez. Bu düzenleme yalnızca DNA metilasyon sürecine bağlıdır.

Normal olarak, CpG adaları transkripsiyonel olarak aktif genlerde metillenmemişken, susturulmuş genler promotör bölge içinde metillenmiştir [187]. DNA metilasyonu ile transkripsiyonel baskıyı açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Birinci mekanizma, spesifik transkripsiyon faktörlerinin ilgili genin promotörlerindeki tanıma bölgelerine bağlanmasına doğrudan müdahaleyi içermektedir. Çeşitli transkripsiyon faktörleri, CpG kalıntıları içeren dizileri tanımakta ve her birinin bağlanması metilasyon tarafından inhibe edilmektedir. İkinci baskılama mekanizması, spesifik transkripsiyonel baskılayıcıların metillenmiş DNA'ya doğrudan bağlanmasını içermektedir. DNA metilasyon sinyalleri metil-CpG bağlayıcı proteinler tarafından analiz edilmektedir. Metil CpG bağlama domain proteinleri 5-mCpG'ye bağlanmaktadır. DNA metilasyonu histon modifikasyonlarını ve kromatin yapısını

da etkileyebilmekte ve bu da gen ekspresyonunu değiştirebilmektedir. Metillenmiş sitozin kalıpları, histon deasetilasyonunu belirli kalınlara yönlendirmede önemlidir. Metil-CpG bağlama domainine sahip olduğu bilinen beş protein vardır ve bunlardan dördü (MeCP2, MBD1, MBD2 ve MBD3) transkripsiyonel baskılama ile ilişkilidirler. Bunlardan üçü (MeCP2, MBD2 ve MBD3) histon deasetilaz içeren kompleksler halindedirler [191].

DNA metilasyonunun anormal derecede artması veya kaybı, kanser gibi hastalıklarda anormal gen transkripsiyonunun meydana geldiği önemli bir mekanizma olarak belirtilmiştir [185].

2.4.1.1. *DNA Metilasyonu ve Kanser*

Kanserde en sık çalışılan epigenetik değişiklikler, tüm memeli promotörlerinin %70'inde bulunan CpG adalarında meydana gelen metilasyon değişiklikleridir. GpG ada metilasyonu, transkripsiyonel düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır ve genellikle malign transformasyon sırasında değiştirilmektedir. Normalde metillenmemiş CpG promotör adalarının %5 ila %10'unun çeşitli kanser genomlarında anormal şekilde metillendiği gösterilmiştir [189]. DNA metilasyon değişiklikleri, tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu, onkogenlerin hipometilasyonu ve tüm genom hipometilasyonu şeklinde kanser gelişimi ve ilerlemesinde çok önemli bir rol oynamaktadır [187].

Kanserlerde hipermetilasyon hipometilasyondan çok daha fazladır. Bugüne kadar, çok sayıda tümör baskılayıcı genin kanserde hipermetilasyona uğradığı belirlenmiştir. RASSF1A ve p16 gibi belirli genler çeşitli kanserlerde yaygın olarak metillenirken, diğer genler spesifik kanserlerde metillenmektedir [191]. Kanserde, global hipometilasyona rağmen, bazı genler, düzenleyici bölgelerdeki CpG'lerin hipermetilasyonunun bir sonucu olarak inaktivasyona uğramaktadır [187]. Bu tür bir epigenetik susturma ilk olarak, retinoblastoma tümör baskılayıcı genin promotöründe hipermetilasyonun keşfedildiği retinoblastoma hastalarının çalışmalarında gösterilmiştir [192]. Tümör dokularında DNA hipermetilasyonu ile susturulan çok sayıda tümör baskılayıcı gen tanımlanmıştır. Örneğin, hücre döngüsü ile ilgili iki gen, p16^{INK4a} (CDKN2A) ve p15^{INK4a} (CDKN2B), farklı kanser türlerinde DNA metilasyonu aracılı susturmaya tabi tutulmaktadır. Her ikisi de sikline bağımlı kinaz inhibitörleri olarak hareket ederek G1 fazının ilerlemesinin kontrolünde yer almaktadırlar ve önemli tümör baskılayıcıdırlar. DNA onarım süreçleriyle ilişkili çeşitli genler de tümör dokularında hipermetillenmektedir, bu durum epigenetik olayların mutasyonlar gibi klasik genetik değişimi desteklediğini göstermektedir

[187]. Hipermetilasyon akciğer kanseri [193], meme kanseri [194] başta olmak üzere, lösemi ve diğer hematolojik hastalıklarda [195] sık görülmektedir.

Hipometilasyon, çok çeşitli malignitelerde görülen ikinci tür metilasyon kusurudur [191]. Normal bir hücrede, perisentromerik heterokromatin yüksek oranda metillenmektedir. Satelit sekansları, tekrarlayan genomik diziler susturularak genomik bütünlük ve stabilite sağlanmaktadır. Bununla birlikte, çeşitli tümörlerde bu mekanizma bozulmakta ve normalde inaktive edilmiş bölgelerin DNA metilasyonunda kayıp meydana gelmektedir. Sonuç olarak, mutajenez ve genomik kararsızlık ortaya çıkmaktadır. Bu durum tümör gelişimi ve hastalığın farklı evreleri ile ilişkilidir [187]. Metastatik hepatoselüler kanser gibi katı tümörlerde [196], rahim ağzı kanserinde [197], prostat tümörlerinde [198] hipometilasyon sık görülmektedir. Meme, servikal ve beyin gibi bir dizi kanserde görülen global hipometilasyon, malignite derecesi ile ilerleyici bir artış göstermektedir [199].

2.4.1.2. *DNA Metilasyonu ve Pankreas Kanseri*

Çok sayıda genin ve sinyal hedefinin, pankreas kanserinde DNA metilasyonu yoluyla epigenetik olarak düzenlendiği gösterilmiştir. Sadece geç evre malign pankreas kanseri değil, aynı zamanda daha erken, premalign lezyonlar da anormal DNA metilasyonu sergilemektedir [200]. Bazı epigenetik değişiklikler en erken lezyon olan PanIN-1A'da gözlenmektedir. Bu durum DNA metilasyonunun pankreas kanserinin tümör oluşumu sırasında erken dönemde ortaya çıktığını kanıtlamaktadır [201]. Bu bulgular doğrultusunda; musin 4 (MUC4) gen ekspresyonu, artan MUC4 promotör hipometilasyonu ile ilişkili olarak normalden prekanseröz lezyonlara ve pankreas kanserine kadar artmaktadır. DNA hipometilasyonu ve dolayısıyla bir genin anormal derecede yüksek ekspresyonu, pankreas karsinomunda epigenetik bir özelliktir [200].

DNMT1'in replikasyonu takiben ebeveyn DNA metilasyon modellerinin korunması için anahtar enzim olduğu belirtilmektedir. Pankreatik karsinomların yaklaşık %80'inde DNMT1'in aşırı ekspresyonu gözlenmektedir. DNMT1'in aşırı ekspresyonunun anahtar tümör baskılayıcı genlerin susturulmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir [202]. Pankreas kanserinde, p16, RASSF1A, 3-OST-2, siklin D2, SOCS-1, RAR- ve APC dahil olmak üzere kanserle ilgili birkaç genin promotör hipermetilasyonu ile inaktive edildiği gösterilmiştir [203]. Song ve diğ.'nin [204] bir pankreatik kanser hücre hattında yaptıkları çalışma, pankreatik tümör ilerlemesinde epitelyal-mezenkimal geçişin (EMT) antagonistleri olan FOXA1/2

transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunun malign progresyon sırasında kaybolduğunu ve promotörlerinin geniş ölçüde hipermetillendiğini göstermektedir. DNA metilasyonunun, tek tek tümör baskılayıcı genlerin kararlı susturulmasını sağlamak için diğer epigenetik mekanizmalarla (histon modifikasyonu) iş birliği içinde hareket edebileceği belirtilmektedir[200].



3. YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

1. Derin dondurucu (-20°C) (Bosch)
2. Buzdolabı (+4°C) (General)
3. Soğutmalı tüp-ependrof santrifüjü (Hettich Universal 320R)
4. Hassas terazi (Radwag WTB 200)
5. Etüv (Heraeus Hanau)
6. Otomatik pipetler (1-10µL, 10-100µl, 10-1000µL) (Corning ve Axygen)
7. Çeker ocak (Termal)
8. Saf su cihazı (Millipore Elix 3)
9. Nanodrop Scientific™ 1000 (Thermo Scientific)
10. Vorteks (Velp)
11. Super Mini Santrifüj (Hangzhou Allsheng)
12. Termal Döngü Cihazı (Quant Studio 5, Applied Biosystems)
13. Bilgisayar (Dell Optiplex XE2)
14. Işık Mikroskobu (Leica 2040, Leica DFC 28 Kamera ataçmanı ile)
15. Lam
16. Lamel

3.2. KİMYASALLAR

1. Ksilen (Merck)
2. Etanol (Merck)
3. Metanol (Merck)
4. Sodyum asetat (Merck)
5. Metilen green (Sigma)
6. H₂O₂ (Merck)
7. PBS Tablet pH 7,4 (Sigma)
8. Gliserin jel
9. OGG1 Antikor (NB100-106, Novus)
10. Antikor sulandırıcı (Zymed)
11. Histostatin Plus Bulk Kit (85-9043, Invitrogen)
12. DAB (3,3'-diaminobenzidin)

3.3. HASTA ve KONTROL GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ

Bu çalışma Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirildi.

Çalışma Grupları:

Pankreas kanseri grubu (n:50): 2010-2019 yılları arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Birimi tarafından takip ve tedavisi yapılan ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından patolojik evrelemesi yapılmış 18-90 yaş aralığındaki pankreas adenokarsinom tanılı hastalardan oluşturuldu.

Hastaların 21'inde diyabet, 12'sinde hipertansiyon, bunların 6'sında hem diyabet hem de hipertansiyon bulunmaktaydı. Kan basınçları ve serum glukoz düzeyleri ilaç tedavisi ile kontrol altına alınmıştı.

Hastalar kemoterapi ilaçları olarak etkin dozlarda Kapesitabin, Gemesitabin, Oksaliplatin, İrinotekan, Paklitaksel, Sisplatin, Karboplatin, 5-Fluorourasil ve bunların kombinasyonlarını kullanmışlardır.

Kontrol grubu (n:50): 2010-2019 yılları arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Birimi tarafından takip ve tedavisi yapılan ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından patolojik evrelemesi yapılmış 18-90 yaş aralığındaki pankreas adenokarsinom tanılı hastaların tümöre komşu normal (tümör içermeyen) doku örnekleri kullanılarak oluşturuldu. Uygun dokuların seçimi Patoloji uzmanı tarafından gerçekleştirildi.

Çalışmaya alınan hastaların demografik (yaş, cinsiyet), histopatolojik özellikleri (tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, histolojik tip, diferansiyasyon, vasküler ve perinöral invazyon, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz) ve klinik evreleri Patoloji Anabilim Dalı tarafından arşivlenen kayıtlardan ve Onkoloji Birimi tarafından oluşturulan dosyalardan alındı. Klinik evrelemede Amerikan Ortak Kanser Komisyonu (American Joint Commission on Cancer - AJCC) 8. Baskı: Pankreas Adenokarsinomlu Hastalar için Evreleme Sistemi kullanılmıştır.

Formalinle fikse edilmiş 50 tümör ve 50 tümöre komşu normal doku içeren parafin bloklar Patoloji Anabilim Dalı arşivinden sağlandı. Parafin bloklardan doku örneklerinin kesimi Patoloji Anabilim Dalı teknikerleri tarafından yapıldı.

Olguların dışlanma ölçütleri:

Pankreas kanseri dışında farklı bir kanseri, herhangi bir kronik inflamatuvar, otoimmün ve enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışma kapsamına alınmadı. Hastalardan ameliyat öncesi kemoterapi veya radyoterapi almayanlar, ameliyat sonrası kemoterapi alan ve vefat tarihleri belli olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

3.4. YÖNTEMLER

Çalışma için tüm vakalardan formalinle fikse edilmiş 50 tümör ve 50 tümöre komşu normal doku içeren parafin bloklardan kesim yapıldı. Bisülfid modifikasyonu ve metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılacak olan DNA'nın izolasyonu için ≤ 25 mg parafinli doku kesilerek ependorf tüplere alındı. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi için lam üzerine 5µm kalınlığında kesitler alındı. Tümör ve normal pankreas dokularda OGG1

ekspresyonu immunohistokimyasal boyama yöntemi ile, dokulardan izole edilen DNA örneklerinde OGG1 promotör metilasyonu bisülfid modifikasyonu sonrasında metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonu (MSP) ile belirlendi.

3.4.1. DNA İzolasyonu

Total DNA izolasyonu Quick-DNA™ Miniprep Plus Kit (Zymo Research, CA, USA. Cat. no: D4068) kullanılarak formalin fikse parafin doku protokolüne göre yapıldı.

Gereçler

- Proteinaz K
- Katı Doku Tamponu
- Genomik Bağlanma Tamponu
- DNA ön yıkama tamponu
- g-DNA yıkama tamponu
- DNA elüsyon tamponu
- Zymo-Spin™ IIC-XLR kolonu
- Toplama tüpü
- Mikrosantrifüj tüpü (DNaz/RNaz free)
- Otomatik pipet uçları (DNaz/RNaz free)

Formalin Fikse Parafin Dokuların Parafinden Arındırılması

1. DNA izolasyonu için parafin bloklardan ≤ 25 mg olacak şekilde dokular kesildi ve 1,5ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alındı.
2. Her bir örneğin üzerine 750 μ l ksilen eklendi.
3. Örnekler vortekslendi ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.

4. 12,000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi, ksilen uzaklaştırıldı. 2-4 basamakları tekrar edildi.
5. Dokuların üzerine %100'lük etanolden 1ml eklendi, vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. $\geq 12,000$ x g'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı. Basamak tekrar edildi.
6. Dokuların üzerine %95'lik etanolden 1ml eklendi, vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. $\geq 12,000$ x g'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı. Basamak tekrar edildi.
7. Dokuların üzerine %75'lik etanolden 1ml eklendi, vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. $\geq 12,000$ x g'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı. Basamak tekrar edildi.
8. Dokuların üzerine 1ml ultra saf su eklendi, vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. $\geq 12,000$ x g'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı.

DNA'nın Ekstraksiyonu

1. Deparafinize edilmiş her bir örneğe Proteinaz K karışımı aşağıdaki gibi hazırlandı ve eklendi.

– Saf su	45µl
– Katı doku tamponu	45µl
– Proteinaz K	10µl
2. Örnekler 10-15 sn vortekslendi ve 55°C'de 16 saat inkübe edildi. Ardından 95°C'de 20 dakika inkübasyon uygulandı.
3. Örneklerin üzerine hacimlerinin 6 katı genomik bağlanma tamponu eklendi, 15 sn vortekslendi. Çözünmeyen kalıntıları uzaklaştırmak için $\geq 12,000$ x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

4. Süpernatant, toplama tüpünün içine yerleştirilmiş olan Zymo-Spin™ IIC-XLR kolonun üzerine transfer edildi. $\geq 12,000 \times g$ 'de 1 dakika santrifüjlendi. Toplama tüpü atıldı.
5. Yeni bir toplama tüpüne alınan kolonun üzerine 400µl DNA ön yıkama tamponu eklendi. $\geq 12,000 \times g$ 'de 1 dakika santrifüjlendi, toplama tüpü boşaltıldı.
6. Kolonun üzerine 700µl g-DNA yıkama tamponu eklendi. $\geq 12,000 \times g$ 'de 1 dakika santrifüjlendi, toplama tüpü boşaltıldı.
7. Kolonun matriksi üzerine 200µl g-DNA yıkama tamponu eklendi. $\geq 12,000 \times g$ 'de 1 dakika santrifüjlendi, toplama tüpü atıldı.
8. Kolon temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı, üzerine 50µl DNA elüsyon tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi, santrifüjün en yüksek devrinde 1 dakika santrifüjlendi. Elde edilen DNA bir sonraki aşamaya kadar -20°C 'de saklandı.

3.4.1.1. *Total DNA Konsantrasyonunun ve Saflığının Ölçülmesi*

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık değerleri NanoDrop Scientific™ 1000 (Thermo Fisher, Delaware, USA) cihazı ile ölçüldü. DNA konsantrasyonu 260 nm'deki optik yoğunluğundan (OD), saflığı ise 260 nm/280 nm'deki OD oranından saptandı. DNA konsantrasyonu ve saflığı aşağıdaki formüllerle hesaplandı.

DNA konsantrasyonu (ng/µl): $\text{OD}_{260 \text{ nm}} \times 50 \mu\text{g/ml}$

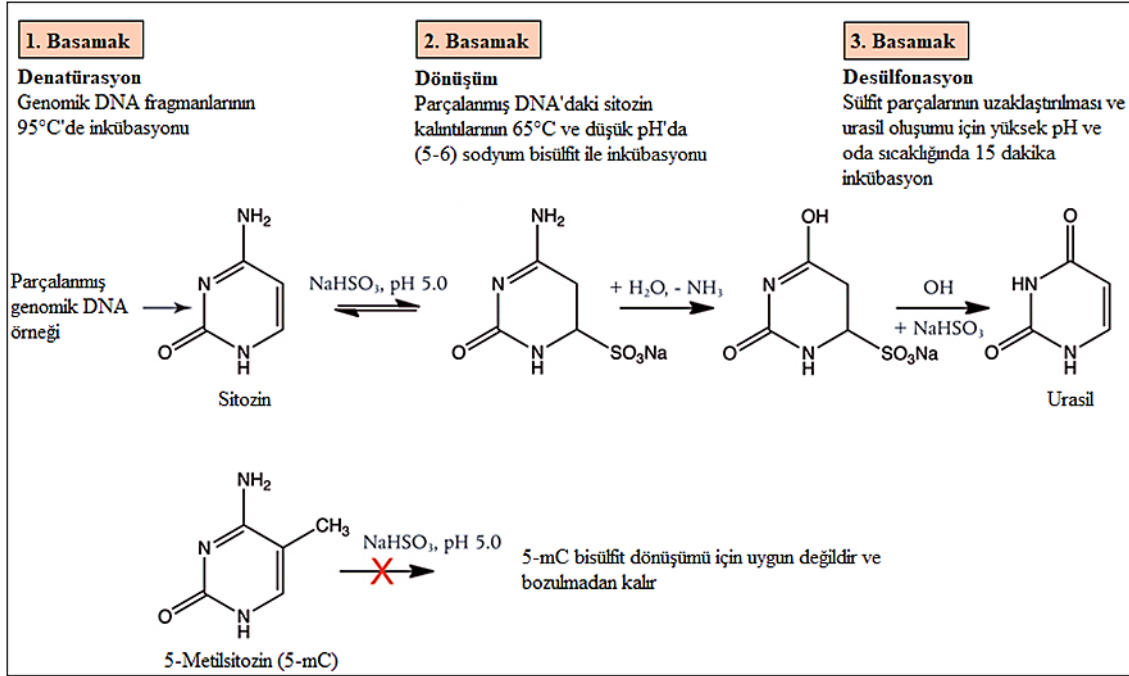
DNA saflığı: $<1,5 \text{ OD}_{260} / \text{OD}_{280} \geq 2$ İdeal oran: 1,7-1,8

3.4.2. DNA'nın Bisülfite Modifikasyonu

Pankreas adenokarsinom tanılı hastalara ait tümör ve tümöre komşu normal doku içeren parafin bloklardan alınan kesitlerden elde edilen DNA örneklerinin bisülfite dönüşümü Zymo Methylation Gold Kit™ (Zymo Research, CA, USA. Cat. no: D5005) tarafından kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Prensip

EZ DNA Methylation-Gold™ Kiti, DNA denatürasyonu ve bisülfid dönüştürme işlemlerini tek adımda birleştiren bir kittir. DNA metilasyonunu saptamak için kullanılan en yaygın teknik bisülfid dönüştürme yöntemidir [205]. Bu teknik, metillenmiş DNA'yı, metillenmemiş sitozinleri urasile dönüştüren bisülfid ile muamele etmeyi içerir. Sitozin ve sodyum bisülfid arasında sitozinin urasile dönüştürülmesiyle sonuçlanan üç aşamalı bir reaksiyon süreci meydana gelir. Metillenmiş sitozinler işlem sırasında değişmeden kalır. Dönüştürüldükten sonra, DNA'nın metilasyon profili, MSP amplifikasyonu ile belirlenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Sitozinin bisülfid dönüşümü.

Gereçler

- 96 kuyucuklu mikropate
- 100% etanol
- Ultra saf su
- CT Dönüşüm Reaktif

- M-Seyreltme Tamponu
- M-Çözücü Tamponu
- M-Bağlanma Tamponu
- M-Yıkama Tamponu
- M-Desülfonasyon Tamponu
- M-Elüsyon Tamponu
- Zymo-Spin™ IC Kolon
- Toplama tüpü
- Mikrosantrifüj tüpü (DNaz/RNaz free)
- Otomatik pipet uçları (DNaz/RNaz free)

DNA Örneklerinin Miktarının Hesaplanması

Optimal sonuçlar için örneklerdeki DNA miktarının 200-500ng arasında olması gerekmektedir. Optimal DNA miktarı olarak 300ng örnek kullanıldı. Konsanrasyonu NanoDrop cihazı ile ng/μl cinsinden ölçülen her bir DNA örneğinden kaç μl kullanılacağı hesaplandı. Örnekler reaksiyonun gerçekleşeceği PCR mikroplate kuyucuklarına pipetlendi ve son hacim 20μl olacak şekilde üzerine ultra saf su eklendi.

Örnekler ile birlikte MSP’de standart olarak kullanılacak olan Human Methylated & Non-methylated DNA Set (Zymo Research, CA, USA. Cat. no: D5014) içeriğindeki metile ve metile olmayan DNA örneklerinden de birer kuyucuğa 1,2μl alındı, son hacim 20μl olacak şekilde ultra saf su ilave edildi ve bisülfıt dönüşümü reaksiyonu gerçekleştirildi.

Reaktiflerin Hazırlanması

1. CT Dönüşüm Reaktifi Hazırlanması: Katı CT dönüşüm reaktifi bulunduğu her bir tüpe 900µl ultra saf su, 300 µl M-Seyreltme tamponu ve 50 µl M-Çözücü tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 10 dakika vortekslendi.
2. M-Yıkama Tamponu Hazırlanması: Konsantre haldeki 6ml M-Yıkama tamponu üzerine 24ml %100 etanol eklendi.

Protokol

1. Son hacmi 20µl olan PCR mikrolate kuyucuklarındaki DNA örneklerinin üzerine 130µl CT dönüşüm reaktifi eklendi.
2. PCR mikrolate Termal Döngü Cihazına (Quant Studio 5, Applied Biosystems) yerleştirildi ve aşağıdaki basamaklar ile inkübasyona bırakıldı.
 - 98°C’de 10 dakika
 - 64°C’de 2,5 saat
3. Zymo-Spin™ IC kolonlar toplama tüplerine yerleştirildi ve kolonlara 600µl M-Bağlanma taponu eklendi.
4. Bağlanma tamponu içeren kolonların üzerine inkübasyondan çıkan örnekler eklendi. Kolonun kapağı kapatıldı ve birkaç kez ters çevrilerek karıştırıldı.
5. Süper mini santrifüjde 12.000g’de 30 saniye santrifüjlendi. Toplama tüpü boşaltıldı.
6. Kolonun üzerine 100µl M-Yıkama tamponu eklendi. 12,000 x g’de 30 saniye santrifüjlendi, toplama tüpü boşaltıldı.
7. Kolonun üzerine 200µl desülfonasyon tamponu eklendi. 15-20 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 12,000 x g’de 30 saniye santrifüjlendi, toplama tüpü boşaltıldı.

8. Kolonun üzerine 200µl M-Yıkama tamponu eklendi. 12,000 x g'de 30 saniye santrifüjlendi, toplama tüpü boşaltıldı. İşlem tekrar edildi.
9. Kolon 1,5ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı. Kolon matriksi üzerine 10µl M-Elüsyon tamponu eklendi. DNA'nın elüe edilmesi için 12.000g'de 30 saniye santrifüjlendi. Bisülfite dönüşümü gerçekleştirilen DNA MSP analizinde kullanıldı.

3.4.3. MSP Yöntemi Kullanılarak OGG1 Promotör Metilasyonunun Belirlenmesi

Pankreas adenokarsinom tanılı hastalara ait tümör ve tümöre komşu normal dokularından elde edilen DNA örneklerinde OGG1 geninin promotör bölgesindeki metilasyon durumu incelendi. DNA izolasyonu sonrası bisülfite modifikasyonları gerçekleştirilen DNA'lar MSP yöntemi aracılığıyla değerlendirildi.

3.4.3.1. Primer Tasarımı

OGG1 geninin metilasyon profilini incelemek için gerekli primer tasarımları internet kullanımına açık olan Methprimer ve Primer3Plus programları ile firma tarafından tasarlanmıştır. Primere ait bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: OGG1 primer özellikleri.

Metile Primer	Sekans (5' → 3')	Uzunluk (bp)	TM	%GC
Forward primer	AGGCGAGTAGTTGGTAGAGAGT	22	60,03	50,00
Reverse primer	AACCACCGCTCATTTCACCT	20	59,89	50,00

3.4.3.2. MSP Deneyi

DNA Örneklerinin Seyreltilmesi

Bisülfıt modifikasyonu sonunda 300ng/10µl konsantrasyonda olan DNA örneklerine 50µl ultra saf su eklenerek 5ng/µl konsantrasyona seyreltildiler.

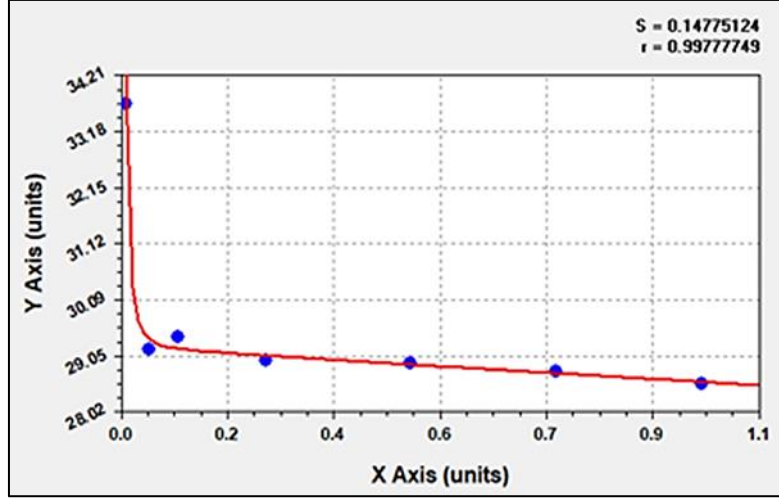
Standartların Hazırlanması

6 tane mikrosantrifüj tüpü numaralandırıldı. Bisülfıt dönüşümü yapılan metile ve metile olmayan DNA örneklerinden Tablo 3.2’de verilen miktarlarda standartlar hazırlandı.

Tablo 3.2: DNA standartları.

Standart No	Metile DNA (µl)	Metile olmayan DNA (µl)	Metilasyon yüzdesi
1	10	0	%100
2	7,5	2,5	%75
3	5	5	%50
4	2,5	7,5	%25
5	1	9	%10
6	0,5	9,5	%5
7	0	10	%0

Standartların metilasyon yüzdeleri ve Ct değerlerine göre standart eğri grafiği Curve Expert programı ile oluşturuldu (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Standart eğri grafiği.

Reaksiyon Karışımı

MSP reaksiyonu için ZymoTaq qPCR Premix (Zymo Research, CA, USA. Cat. no: E2055) kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı Tablo 3.3’de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 3.3: Reaksiyon karışımı.

Reaksiyon karışımı	1 Örnek için hacim
Zymo Taq™ qPCR PreMix	25µl
Forward Primer	2,5µl
Rewerse Primer	2,5µl
DNA	5µl
ddH ₂ O	15µl

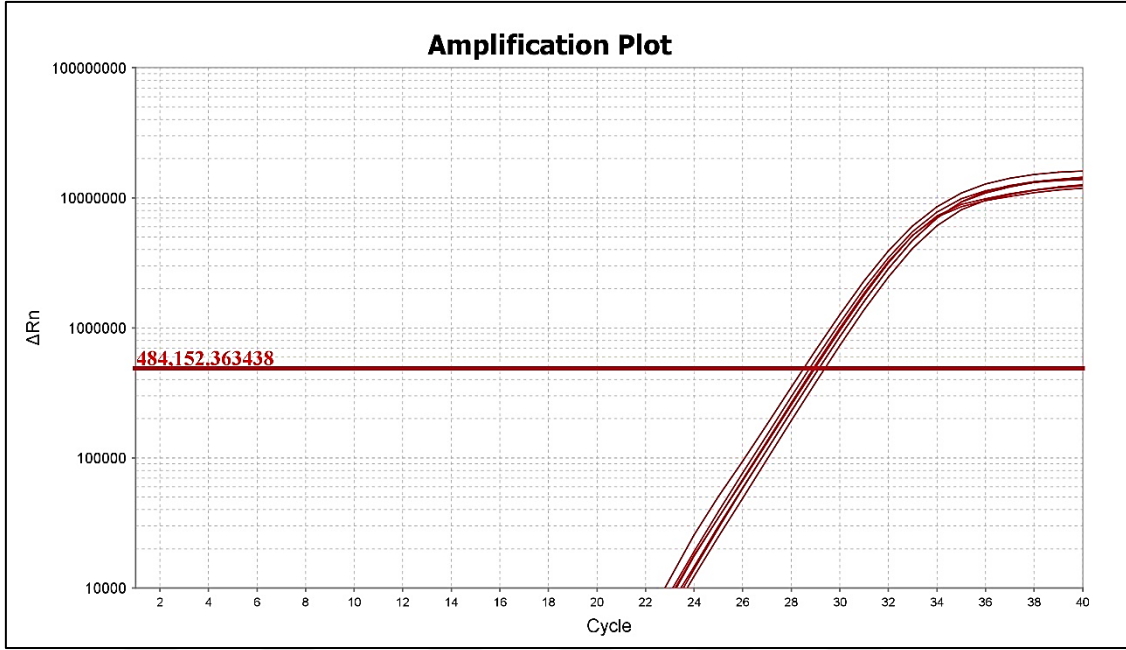
MSP Reaksiyonu

Her bir örnek ve standart için reaksiyon karışımı hazırlandı ve 96 kuyulu platelere otomatik pipet ile pipetlendi. Plate'in üzeri jelatin ile kapatıldı, cihaza yerleştirildi ve Tablo 3.4'te belirtilen koşullarda reaksiyon gerçekleştirildi.

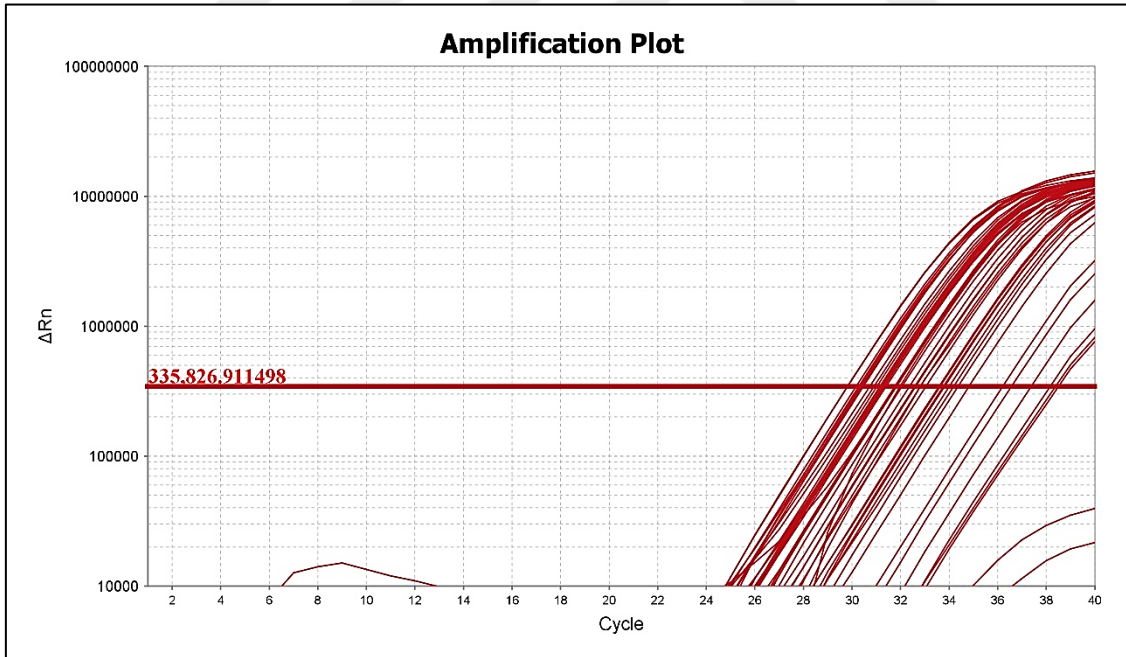
Tablo 3.4: MPS reaksiyon koşulları.

PCR Aşamaları		T (°C)	Zaman
İlk Denatürasyon		95 °C	10 dak.
Bağlanma (40 döngü)	Denatürasyon	95 °C	30 sn.
	Bağlanma	55 °C	30 sn.
	Uzama	72 °C	30 sn.
Son Uzama		72 °C	7 dak.

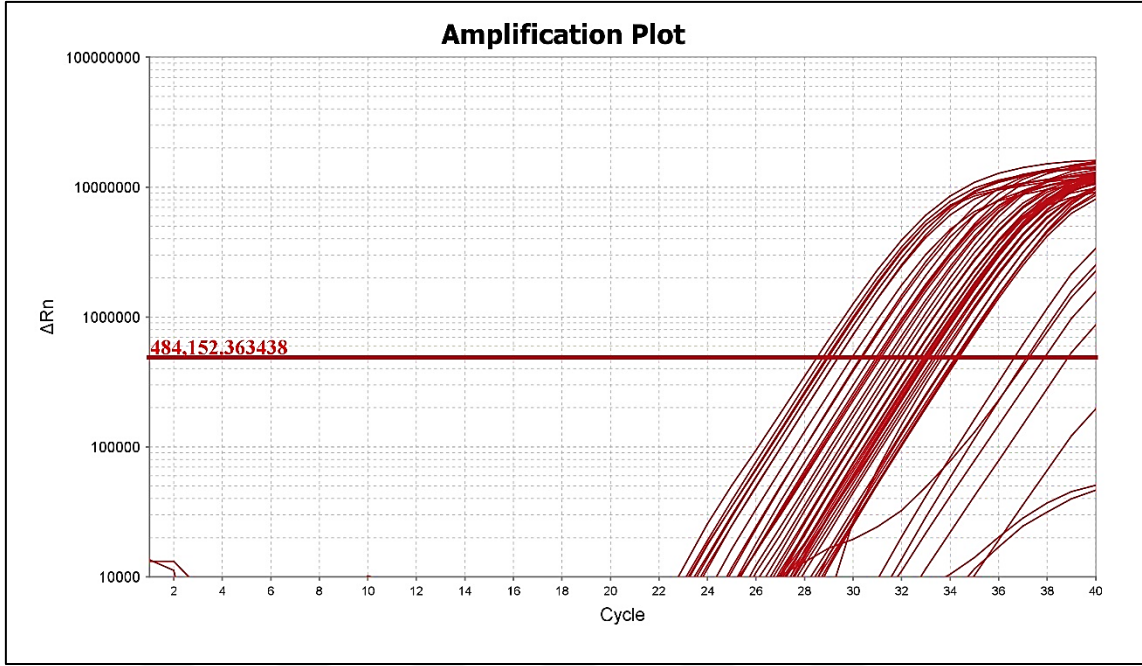
Reaksiyon sonunda her bir örneğin metilasyon yüzdeleri, elde edilen Ct değerlerinin standart eğri grafiği denkleminde yerine konulması ile hesaplandı. Standartlar, tümör dokuları ve normal dokulara ait amplifikasyon eğrileri Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.3: DNA standartlarına ait amplifikasyon eğrileri.



Şekil 3.4: Tümör doku örneklerine ait amplifikasyon eğrileri.



Şekil 3.5: Normal doku örneklerine ait amplifikasyon eğrileri.

3.4.4. İmmünohistokimya

İşaretlenmiş poliklonal OGG1 antikoru (OGG1-poliklonal tavşan antikoru-Novus Biologicals NB100-106) ve Histostain-Plus Bulk Kit (İnvitrogen 85-9043) kullanılarak doku antijenlerini bulundukları yerde göstermek amacıyla Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Parafin kesitlere uygulanan Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile kit içinde tavsiye edilen boyama işlem sırasının antikora göre modifiye edilen immünohistokimyasal boyama protokolü aşağıdaki gibidir:

Histostatin-Plus Bulk Kit Boyama İşlem Sırası

1. Kesitler, parafinin uzaklaştırılması amacıyla 60 dk. ksilende bekletildi.
2. Ardından inen etil alkol serilerinden (%100, %90, %80 ve %70) geçirildi ve distile su ile yıkandı.
3. Preparatlar pH 7,4 fosfat tuz tamponu (PBS) ile 3 kez 5 er dk. yıkandı.

4. Endojen peroksidazı maskelemek için 1:10 oranında hazırlanan H_2O_2 ile 10 dk. muamele edildi. (1ml H_2O_2 + 9ml PBS)
5. Preparatlar baskılayıcı (Blocking) solüsyonunda 10 dk. bekletildi. Bu aşamadan sonra preparatlar yıkanmadı, kurulanıp antikor aşamasına geçildi.
6. Her bir kesit üzerine 50 μ l primer antikor (hOGG1, 1:100 sulandırma) eklendi, +4°C buzdolabında nemli ortamda bir gece inkübe edildi.
7. Bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması için PBS ile 3 kez yıkandı. (3x5 dk.)
8. Preparatlar biotin ile işaretli ikinci antikor ile 10 dakika inkübe edildi.
9. PBS ile 2 x 2 dk. yıkandı.
10. Preparatlar Streptavidin-Peroksidaz kompleksinde 10 dk. muamele edildi.
11. PBS ile 3 x 5 dk. yıkandı.
12. Substrat-kromojen (DAB=3,3'-diaminobenzidin) çözeltisi ile 10 dk. renk reaksiyonu (kahverengi) gözlenene kadar inkübe edildi.
13. Reaksiyon ışık mikroskobu altında görüldükten sonra reaksiyonu durdurmak amacıyla kesitler distile suda çalkalandı.
14. Kesitlere 1 dk. metil green zıt boyaması yapıldı.
15. Distile suda çalkalandı.
16. Lamalar iyice kuruduktan sonra kapama maddesi (gliserin jel) damlatılarak lamel ile kapatıldı ve daimi preparat hazırlandı.

3.4.4.1. *İmmunboyama Özgüllüğünün Kontrolü*

İmmün boyamanın kontrolü için bir negatif kontrol kullanıldı. Negatif kontrol olarak kullanılan preparata primer antikor yerine PBS damlatılarak tüm işlem basamakları aynen uygulandı.

3.4.4.2. *İmmünohistokimyanın Değerlendirilmesi*

hOGG1 immünreaksiyonu LEICA DM500 marka ışık mikroskopunda X 40 büyütmede rastgele seçilen 12 alanda hOGG1 immünreaktivite değerlendirilmesi German Immunoreactive Score a dayanmaktadır [206]. IHC (Immunohistochemistry) skor olarak belirtilmiştir.

3.4.5. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler IBM SPSS 22.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için parametrik olmayan testler kullanıldı. Bulgular ortanca (min-maks) şeklinde ifade edildi. Üçlü grup karşılaştırmaları için parametrik olmayan varyans analizi (Kruskal-Wallis testi) uygulandı. İkili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi. Korelasyon analizi Spearman korelasyon katsayısı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Hastalara ait demografik veriler ve laboratuvar sonuçları Tablo 4.1’de, klinopatolojik veriler Tablo 4.2’de yer almaktadır.

Tablo 4.1: Hastalara ait demografik veriler ve klinopatolojik veriler.

	Total Hasta Grubu (n=50)	Kadın (n=15)	Erkek (n=35)	P*
Yaş (Yıl)	61 (36-81)	62 (41-81)	59 (36-74)	0,15
VKİ	23 (16-33)	23 (20-33)	22 (16-30)	0,19
Glukoz (mg/dL)	123 (63-378)	133 (71-237)	111 (63-378)	0,09
GGT (U/L)	206 (22-2923)	94 (22-1831)	225 (26-2923)	0,06
ALP (U/L)	212 (25-6774)	157 (25-6774)	224,5 (54-949)	0,19
T.Bilirubin (mg/dL)	2,76 (0,31-17,26)	1,24 (0,31-9,30)	3,18 (0,40-17,26)	0,01
D.Bilirubin (mg/dL)	1,26 (0,06-10,40)	0,46 (0,08-6,9)	1,6 (0,06-10,40)	0,02
İ.Bilirubin (mg/dL)	1,51 (0,15-9,41)	0,69 (0,15-6,96)	1,9 (0,50-9,41)	0,00
Amilaz (U/L)	58,5 (15-540)	54,5 (15-540)	59,5 (21-163)	0,75
Lipaz (U/L)	26 (1-1314)	26 (1-1314)	25,5 (2-268)	0,38
CEA (ng/mL)	2,20 (0,89-28,08)	1,47 (0,89-10,28)	2,62 (0,94-28,08)	0,22
CA-125 (U/mL)	14,30 (4,20-72,90)	8,9 (8,10-18)	14,9 (4,20-72,9)	0,25
CA-19-9 (U/mL)	118,7 (6,01-2045)	114,7 (53,9-1169,6)	122,7 (60,1-2045)	0,91
CA-15-3 (U/mL)	11,5 (6,60-26,90)	9 (8,70-26,9)	11,7 (6,60-24,2)	0,81
AFP (ng/mL)	2,40 (0,92-7,50)	0,99 (0,92-1,98)	2,8 (1,10-7,5)	0,02
Sağ kalım süresi (Ay)	16,50 (4-78)	18 (5-78)	16 (4-50)	0,26

*P değerleri kadın ve erkek kıyaslamasına aittir.

Tablo 4.2: Hastalara ait klinopatolojik veriler.

Patolojik Evre	Hasta Sayısı (n=50)
1B	4
2A	8
2B	12
3	26

Tümör ve normal pankreas dokularından izole edilen DNA örneklerinde DNA onarım geni hOGG1 promotör metilasyonu pankreas tümör dokusunda normal pankreas dokusuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0,02$).

İmmunohistokimyasal boyama sonrasında, Nikon Eclipse 80i marka ışık mikroskobu kullanılarak incelenen preparatlarda nükleusları kahverengi boyanmış olan lökositler hOGG1 immunpozitif olarak değerlendirildi. Işık mikroskobunda X 40 büyütmede rastgele seçilen 12 alanda bulunan hücrelerde immün boyamanın varlığının tespiti ile yapıldı. Pozitif ve negatif boyanmış hücreler, minimum kabul edilebilir sayı olarak en az 500 hücre olacak şekilde sayıldı. Pozitif hücrelerin yüzdesi daha sonra Tablo 4.3'te görüldüğü gibi puanlandı.

Tablo 4.3: IHC skrlama.

Boyama Yüzdesi	IHC Skoru
0	0
%1-10	1
%11-50	2
%51-80	3
%81-100	4

Tümör ve normal pankreas dokusundaki hOGG1 immünpozitifliği karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,79$). Tümör ve normal dokuya ait hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve ekspresyon IHC skorları Tablo 4.4’de verilmiştir. hOGG1 Promotör Metilasyon Yüzdeleri ve IHC Skorları.

Tablo 4.4: hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.

	Tümör Dokusu	Normal Doku	P
% Metilasyon	3,64 (0-26,79)	1,50 (0-26,50)	0,02
hOGG1 Ekspresyon IHC Skoru	3,00 (0-4)	3,00 (0-4)	0,79

Veriler cinsiyet dikkate alınarak değerlendirildiğinde, kadınlarda tümör ve normal pankreas dokularındaki hOGG1 promotör metilasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,82$), erkeklerde ise tümör dokuda normal dokuya kıyasla hOGG1 promotör metilasyonu yüksek bulundu ($p=0,01$). Ancak hOGG1 ekspresyon IHC skoru bakımından tümör ve normal pankreas dokuları arasında cinsiyete bağlı anlamlı bir fark bulunmadı. ($p=0,48$, $p=0,41$) (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

Tablo 4.5: Kadın OGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.

Kadın	Tümör Dokusu	Normal Doku	P
% Metilasyon	4,78 (0-16,42)	2,88 (0-9,90)	0,82
hOGG1 Ekspresyon IHC Skoru	2,00 (0-4)	2,00 (0-4)	0,48

Tablo 4.6: Erkek OGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve IHC skorları.

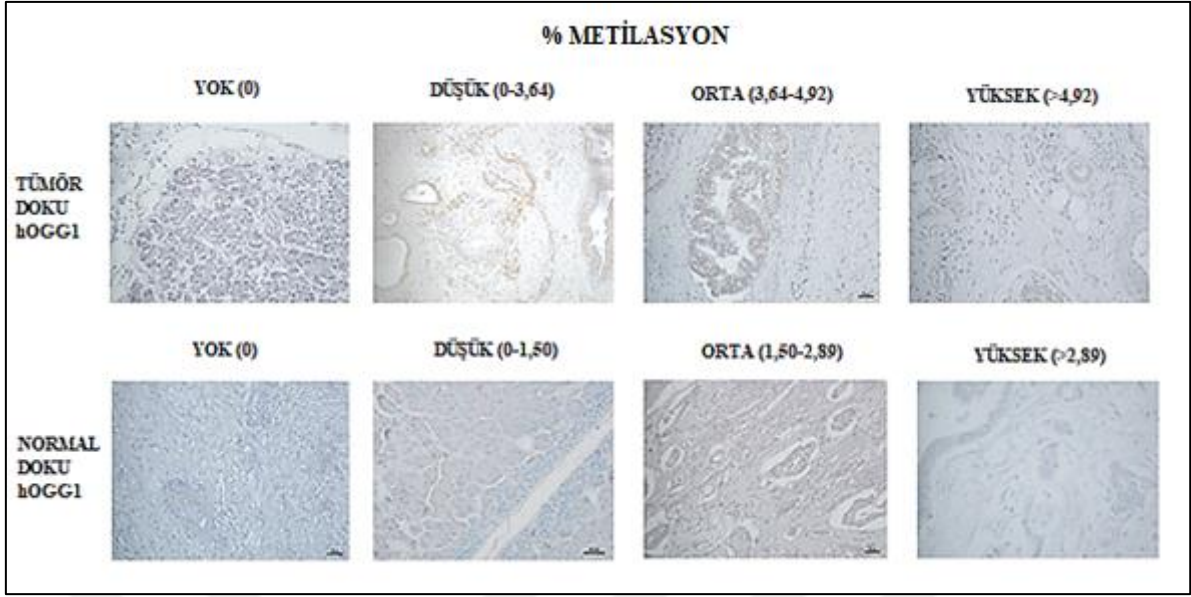
Erkek	Tümör Dokusu	Normal Doku	P
% Metilasyon	3,56 (0-26,79)	1,45 (0-26,50)	0,01
hOGG1 Ekspresyon IHC Skoru	3,00 (0-4)	3,00 (0-4)	0,41

Hastalar TNM evrelemesine göre sınıflandırılıp, ayrılan gruplar sağ kalım süreleri, hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve metilasyon yüzdeleri açısından karşılaştırıldı. Yapılan ikili karşılaştırmalarda farklı evrelerdeki tümörlerde hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri, hOGG1 IHC skoru ve sağ kalım açısından anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 4.7)

Tablo 4.7: TNM evre gruplarında hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri, hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.

	% Metilasyon	hOGG1 IHC Skoru	Sağ Kalım Süresi (Ay)
Evre 1B	3,20 (0-8,76)	2 (1-4)	20 (5-47)
Evre 2A	3,83 (0-22,63)	3,5 (0-4)	19 (6-34)
Evre 2B	5,24 (0-9,56)	1,5 (0-4)	14 (6-78)
Evre 3	3,29 (0-26,79)	3 (0-4)	15 (4-39)

İmmünohistokimyasal olarak analizlenen tümör dokularına ait veriler metilasyon durumuna göre metilasyon yok, düşük metilasyon, orta metilasyon ve yüksek metilasyon şeklinde gruplandırıldı (Şekil 4.1). Farklı metilasyon düzeyleri gösteren tümör dokularda hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağkalım açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 4.8)



Şekil 4.1: Metilasyon sınıflandırması ve immünpozitiflik.

Tablo 4.8: Tümör dokuda metilasyon sınıflandırmasına göre hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.

	hOGG1 IHC Skoru	Sağ Kalım Süresi (Ay)
Metilasyon Yok	3 (0-4)	18 (13-31)
Düşük Metilasyon	4 (0-4)	16 (4-78)
Orta Metilasyon	1,5 (0-4)	23,5 (7-47)
Yüksek Metilasyon	2,5 (0-4)	13 (5-50)

hOGG1 IHC skoruna göre sınıflandırma yapılan tümör dokularında hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri ve sağ kalım süreleri karşılaştırıldı. Farklı hOGG1 IHC skor düzeyleri gösteren tümör dokularında hOGG1 IHC skoru 1 olan grup 3 olan gruba kıyasla hOGG1 promotör metilasyon yüzdeleri yüksek bulundu ($p=0,02$). Tümör dokuda sağ kalım süreleri bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). (Tablo 4.9).

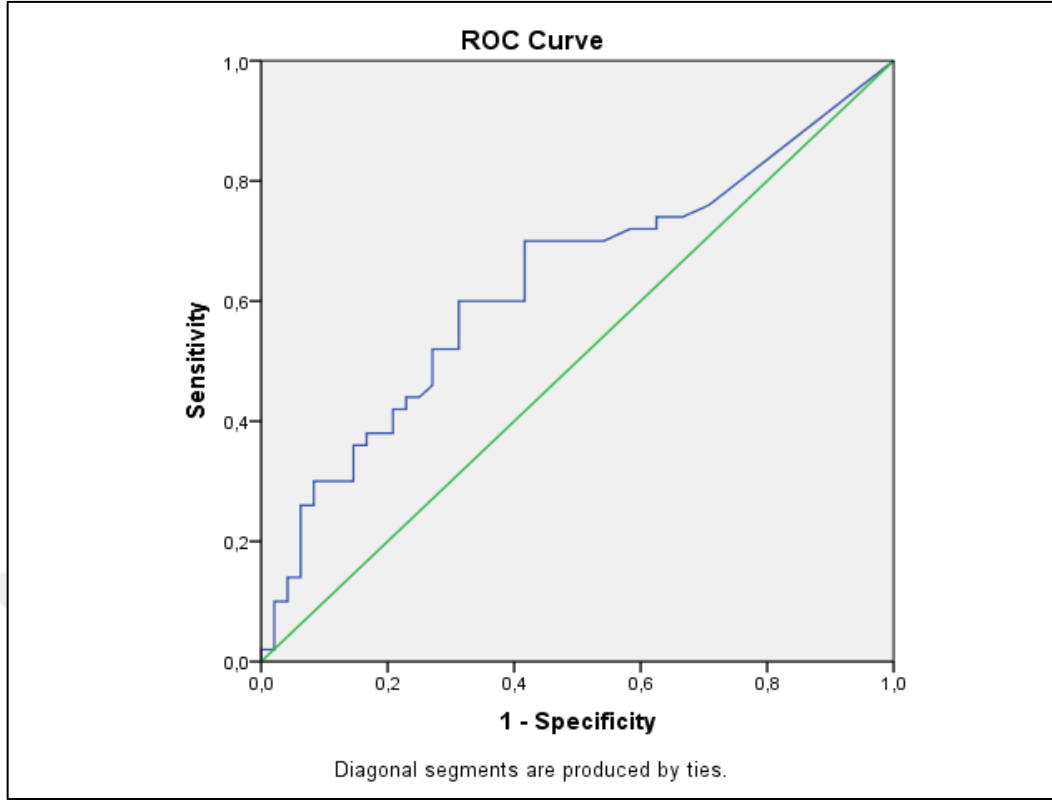
Tablo 4.9: Tümör dokuda hOGG1 IHC skor sınıflandırmasına göre % metilasyon ve sağ kalım süreleri.

hOGG1 IHC Skoru	% Metilasyon	Sağ Kalım Süresi (Ay)
0	3,73 (0-7,89)	17,5 (7-26)
1	6,78 (2,28-8,76)*	17 (5-47)
2	2,58 (0-16,42)	18,5 (5-78)
3	1,14 (0-9,98)	15,5 (5-20)
4	3,56 (0-26,79)	16 (4-50)

*p=0,02 3 grubuna göre

Tümör dokudaki hOGG1 promotör metilasyonunun prediktif performansı ROC eğrisi ile değerlendirildi. ROC eğrisi tümör ve normal dokulara ait % metilasyon değerleri kullanılarak oluşturuldu (Şekil 4.2). Eğrinin altında kalan alan hOGG1 promotör metilasyonu için %95 güven aralığında [CI] 0.630 (0.519-0.742) bulundu (p= 0.02). 2,39 % metilasyon kesim değeri kullanılarak %60 duyarlılık, %60,4 özgüllük, %61,2 pozitif prediktif değer, %59,1 negatif prediktif değer ve %71,5 doğruluk elde edildi.

Tümör ve normal dokuda elde edilen veriler 2,39 % metilasyon kesim değerinin altında kalan ve üzerinde kalan olarak iki gruba ayrıldı. Yapılan ikili karşılaştırmalarda tümör ve normal dokuda hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.10).



Şekil 4.2: Pankreas adenokarsinom tümörlerindeki hOGG1 promotör metilasyon yüzdelerinin prediktif potansiyelini gösteren ROC eğrisi.

Tablo 4.10: Kesim değerine göre gruplarda hOGG1 ekspresyon IHC skorları ve sağ kalım süreleri.

	% Metilasyon < 2,39 (n=20)	% Metilasyon > 2,39 (n=30)	P
Tümör Doku hOGG1 Ekspresyon IHC Skoru	2 (0-4)	3 (0-4)	0,23
Normal Doku hOGG1 Ekspresyon IHC Skoru	3 (0-4)	3 (0-4)	0,90
Sağ Kalım	14 (4-31)	16(5-50)	0,73

Korelasyonlar

Değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için yapılan korelasyon analizine ait veriler Tablo 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12’de verilmiştir.

Tümör doku hOGG1 promotör metilasyonu ile normal doku hOGG1 promotör metilasyonu arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = -0,29$, $P = 0,04$

Tümör doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile normal doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tümör ve normal dokularda sağkalım süresi ile hOGG1 promotör metilasyonu ve hOGG1 ekspresyon IHC skoru arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tümör doku hOGG1 promotör metilasyonu ile Amilaz arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = -0,35$, $P = 0,01$

Tümör doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile GGT arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,32$, $P = 0,03$

Tümör doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile ALP arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,31$, $P = 0,03$

Normal doku hOGG1 promotör metilasyonu ile Lipaz arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,34$, $P = 0,03$

Normal doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile ALP arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,3$, $P = 0,04$

Normal doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile Total Bilirubin arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,31$, $P = 0,03$

Normal doku hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile Direkt Bilirubin arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = 0,33$, $P = 0,02$

Sağ kalım süresi ile CA 19-9 arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. $r = -0,46$, $P = 0,03$

Tablo 4.11: Korelasyonlar 1.

Spearman's rho	MetilasyonT	Yaş	BMI	Glukoz	Kreatinin	CK	Üre	AST	ALT	GGT	ALP	LDH	T Protein	Albumin	T Bilirubin	D Bilirubin
Correlation Coefficient	1,000	,086	-,018	-,110	-,339	-,241	-,124	-,178	-,092	,219	,190	-,275	,256	,164	-,211	-,142
Sig. (2-tailed)		,505	,919	,450	,016	,306	,395	,215	,527	,130	,200	,183	,106	,259	,146	,324
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50
Correlation Coefficient	,096	1,000	,037	-,102	-,048	-,327	,278	,047	-,005	,139	,227	,170	,033	,048	-,146	-,105
Sig. (2-tailed)	,505		,836	,486	,739	,159	,053	,748	,971	,342	,125	,415	,838	,741	,317	,469
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50
Correlation Coefficient	-,018	,037	1,000	,480	-,124	,047	,056	,271	,261	,236	,000	,188	,255	,173	,242	,273
Sig. (2-tailed)	,919	,836		,005	,485	,979	,756	,121	,136	,179	,998	,603	,182	,336	,167	,118
N	34	34	34	33	34	13	33	34	34	34	33	10	29	33	34	34
Correlation Coefficient	-,110	-,102	,480	1,000	-,237	,041	-,186	,152	,053	-,059	-,145	,286	,017	,056	,014	-,082
Sig. (2-tailed)	,450	,486	,005		,102	,863	,201	,718	,688	,335	,166	,166	,914	,703	,927	,577
N	49	49	33	49	49	20	49	49	49	48	46	25	41	49	48	49
Correlation Coefficient	-,339	-,048	-,124	-,237	1,000	,291	,286	-,084	-,048	-,239	-,216	,072	-,034	,072	-,099	-,141
Sig. (2-tailed)	,016	,739	,485	,102		,213	,046	,562	,740	,098	,144	,731	,833	,624	,500	,329
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50
Correlation Coefficient	-,241	-,327	,047	,041	,291	1,000	,041	,114	-,144	-,292	-,233	,355	-,267	-,051	,048	,063
Sig. (2-tailed)	,306	,159	,879	,863	,213		,865	,631	,544	,212	,336	,285	,255	,830	,840	,791
N	20	20	13	20	20	20	20	20	20	20	19	11	20	20	20	20
Correlation Coefficient	-,124	,278	,056	-,186	,286	,041	1,000	,235	,128	-,042	-,112	,575	,137	,197	-,096	-,123
Sig. (2-tailed)	,395	,053	,756	,201	,046	,865		,105	,382	,777	,458	,003	,392	,175	,518	,398
N	49	49	33	49	49	20	49	49	49	48	46	25	41	49	48	49
Correlation Coefficient	-,178	,047	,271	,152	-,084	,114	,235	1,000	,845	,452	,320	,650	,027	-,208	,685	,676
Sig. (2-tailed)	,215	,748	,121	,297	,562	,631	,105		,000	,001	,028	,000	,866	,152	,000	,000
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50
Correlation Coefficient	-,092	-,005	,261	,053	-,048	-,144	,128	,845	1,000	,592	,372	,260	,294	,009	,641	,626
Sig. (2-tailed)	,527	,971	,136	,718	,740	,544	,382	,000		,000	,010	,209	,062	,951	,000	,000
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50
Correlation Coefficient	,219	,139	,236	-,059	-,239	-,292	-,042	,452	,592	1,000	,790	-,250	,340	,030	,512	,494
Sig. (2-tailed)	,130	,342	,179	,888	,098	,212	,777	,001	,000		,000	,239	,030	,890	,000	,000
N	49	49	34	48	49	20	48	49	49	49	47	24	41	48	48	49
Correlation Coefficient	,190	,227	,000	-,145	-,216	-,233	-,112	,320	,372	,790	1,000	-,056	,173	-,080	,480	,501
Sig. (2-tailed)	,200	,125	,998	,335	,144	,336	,458	,028	,010	,000		,800	,291	,598	,001	,000
N	47	47	33	46	47	19	46	47	47	47	47	23	39	46	46	47
Correlation Coefficient	-,275	,170	,188	,286	,072	,355	,575	,850	,260	-,250	-,056	1,000	-,850	-,134	,231	,247
Sig. (2-tailed)	,183	,415	,603	,166	,731	,285	,003	,000	,209	,239	,800	,003	,003	,522	,278	,235
N	25	25	10	25	25	11	25	25	25	24	23	25	19	25	24	25
Correlation Coefficient	,256	,033	,255	,017	-,034	-,267	,137	,027	,294	,340	,173	-,650	1,000	,677	,006	-,053
Sig. (2-tailed)	,106	,838	,182	,914	,833	,255	,392	,866	,062	,030	,291	,003		,000	,969	,740
N	41	41	29	41	41	20	41	41	41	41	39	19	41	41	40	41
Correlation Coefficient	,164	,048	,173	,056	,072	-,051	,197	-,208	,009	-,020	-,080	-,134	,677	1,000	-,169	-,231
Sig. (2-tailed)	,259	,741	,336	,703	,624	,930	,175	,152	,951	,598	,522	,000			,250	,111
N	49	49	33	49	49	20	49	49	49	48	46	25	41	49	48	49
Correlation Coefficient	-,211	-,146	,242	,014	-,099	,048	-,096	,685	,641	,512	,480	,231	,006	-,169	1,000	,976
Sig. (2-tailed)	,146	,317	,167	,927	,500	,840	,518	,000	,000	,000	,001	,278	,968	,250		,000
N	49	49	34	48	49	20	48	49	49	48	46	24	40	48	49	49
Correlation Coefficient	-,142	-,105	,273	-,082	-,141	,063	-,123	,676	,626	,494	,501	,247	-,053	-,231	,976	1,000
Sig. (2-tailed)	,324	,469	,118	,577	,329	,791	,398	,000	,000	,000	,000	,235	,740	,111	,000	
N	50	50	34	49	50	20	49	50	50	49	47	25	41	49	49	50

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tablo 4.13: Korelasyonlar 3.

Spearman's rho	MetilasyonT	Yaş	BMI	Glukoz	Kreatinin	CK	Üre	AST	ALT	GGT	ALP	LDH	T.Protein	Albumin	T.Bilirubin	DBilirubin
I.Bilirubin	Correlation Coefficient	-.192	-.227	-.310	-.032	-.103	-.214	.045	.642**	.485**	.452**	.007	.173	-.016	.972**	.927**
	Sig. (2-tailed)	.247	.171	.095	.539	.443	.791	.000	.000	.002	.005	.982	.352	.924	.000	.000
Amilaz	Correlation Coefficient	-.356*	-.149	.385*	.050	.059	.075	.274	.257	.102	-.067	.182	-.189	-.187	.035	.022
	Sig. (2-tailed)	.015	.323	.032	.743	.688	.759	.066	.084	.501	.660	.248	.051	.213	.818	.883
Ca	Correlation Coefficient	.188	-.053	.353*	.156	-.092	-.079	.150	.023	.309*	.045	-.256	.631**	.694**	.020	-.058
	Sig. (2-tailed)	.201	.719	.044	.290	.533	.747	.310	.876	.040	.035	.227	.000	.000	.891	.666
Na	Correlation Coefficient	-.207	-.266	-.105	.127	.019	.415	-.282	-.368*	-.485*	-.374*	.159	-.342	-.062	-.139	-.107
	Sig. (2-tailed)	.149	.062	.553	.384	.893	.069	.050	.084	.011	.000	.449	.029	.671	.342	.462
K	Correlation Coefficient	.101	.135	-.101	.069	.027	-.027	.286*	.219	-.045	-.124	.317	.147	.399**	-.036	-.093
	Sig. (2-tailed)	.491	.353	.577	.537	.854	.909	.046	.130	.760	.410	.123	.360	.004	.809	.527
Cl	Correlation Coefficient	-.077	-.156	-.232	.136	-.259	-.085	.301*	-.068	-.180	-.266	-.092	-.252	-.418**	-.033	.043
	Sig. (2-tailed)	.625	.318	.225	.385	.094	.731	.050	.867	.247	.088	.677	.133	.005	.835	.784
Lipaz	Correlation Coefficient	-.048	-.061	.317	-.019	-.047	.162	.268	.191	.150	-.066	-.125	.201	.005	.143	.100
	Sig. (2-tailed)	.760	.700	.082	.903	.764	.534	.082	.246	.336	.676	.590	.227	.975	.367	.523
eGFR	Correlation Coefficient	.296	-.560**	.140	.233	-.679*	-.329	-.284	.018	.164	.227	.095	.289	-.030	.315	.317
	Sig. (2-tailed)	.126	.002	.504	.233	.000	.297	.175	.928	.405	.246	.639	.136	.879	.103	.100
CEA	Correlation Coefficient	.008	-.013	.214	.011	-.286	.100	-.189	-.183	-.054	.211	-.071	-.273	-.166	.173	.162
	Sig. (2-tailed)	.975	.957	.410	.966	.221	.873	.437	.440	.921	.940	.867	.326	.498	.466	.494
CA125	Correlation Coefficient	.027	-.198	-.336	-.438	-.078	-.800	.003	-.069	.285	.409	-.452	.020	-.554*	-.006	.031
	Sig. (2-tailed)	.922	.463	.286	.090	.774	.200	.991	.799	.284	.116	.260	.946	.026	.983	.910
CA199	Correlation Coefficient	.213	-.028	-.109	.307	-.383	.086	-.343	-.122	-.063	.349	-.085	.055	-.181	.001	.003
	Sig. (2-tailed)	.341	.901	.668	.176	.079	.872	.128	.598	.780	.111	.815	.833	.431	.998	.988
CA153	Correlation Coefficient	.174	.426	-.391	-.547*	-.053	-.400	.547*	.231	.090	.275	.429	.105	.100	.077	.088
	Sig. (2-tailed)	.551	.129	.235	.043	.868	.800	.043	.427	.759	.342	.397	.734	.734	.794	.765
AFP	Correlation Coefficient	.015	-.347	.002	-.520*	.322	.086	.196	-.100	-.121	.251	.443	.067	-.083	-.089	-.065
	Sig. (2-tailed)	.954	.159	.994	.033	.192	.872	.451	.693	.316	.066	.865	.788	.735	.663	.798
Sağkalım	Correlation Coefficient	-.090	-.046	-.077	-.196	.101	.014	-.122	-.093	-.037	-.132	.039	-.026	.020	-.044	.028
	Sig. (2-tailed)	.534	.752	.664	.177	.485	.955	.403	.521	.798	.366	.854	.873	.892	.765	.845
MetilasyonK	Correlation Coefficient	.291*	.218	.236	-.046	-.244	.124	.168	.026	.010	.206	.118	.099	.118	.097	.036
	Sig. (2-tailed)	.044	.136	.187	.758	.094	.613	.259	.859	.947	.164	.439	.646	.476	.519	.810
IHCT	Correlation Coefficient	-.022	.006	-.068	-.240	-.004	-.237	-.284	-.057	.097	.319*	-.270	.052	-.053	.124	.204
	Sig. (2-tailed)	.883	.968	.713	.105	.978	.314	.053	.700	.513	.029	.192	.751	.725	.408	.164
IHCK	Correlation Coefficient	.003	.213	-.092	.062	-.052	-.013	.142	.228	.206	.263	.134	.183	.037	.305*	.328
	Sig. (2-tailed)	.981	.137	.606	.670	.718	.957	.331	.111	.151	.068	.522	.253	.802	.033	.020
		.50	.50	.34	.49	.50	.20	.49	.50	.49	.47	.25	.41	.49	.49	.50

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tablo 4.14: Korelasyonlar 4.

Spearman's rho	İlbrubın	Amilaz	Ca	Na	K	Cl	Lipaz	sGFR	CEA	CA125	CA199	CA153	AFP	Sağkalım	MetastasyonK	IHCT	IHK
Correlation Coefficient	1,000	,113	,212	-,347	,204	-,226	-,212	,344	,257	-,196	-,294	,000	-,079	-,147	-,067	-,044	,213
		,512	,208	,033	,227	,206	,228	,086	,319	,542	,236	1,000	,781	,380	,696	,801	,200
Sig. (2-tailed)		,36	,37	,38	,37	,34	,34	,26	,17	,12	,18	,12	,15	,38	,36	,36	,38
Correlation Coefficient	,113	1,000	-,021	,077	-,063	,194	,592	-,130	-,368	-,164	-,546	,102	,057	,027	,186	,002	-,190
Sig. (2-tailed)	,512		,892	,613	,726	,225	,000	,509	,146	,558	,016	,741	,833	,857	,226	,988	,205
Correlation Coefficient	,36	,46	,45	,46	,46	,42	,42	,28	,17	,15	,19	,13	,16	,46	,44	,45	,46
Correlation Coefficient	,212	-,021	1,000	-,276	,339	-,355	,323	,434	-,169	-,340	-,150	-,015	-,016	,048	,189	-,078	-,051
Sig. (2-tailed)	,208	,892		,058	,018	,021	,037	,021	,490	,197	,515	,958	,952	,746	,209	,607	,731
Correlation Coefficient	,37	,45	,48	,48	,48	,42	,42	,28	,19	,16	,21	,14	,17	,48	,46	,46	,48
Correlation Coefficient	-,347	,077	-,276	1,000	-,083	,546	-,375	,102	,199	-,058	-,015	,038	,127	,061	-,253	,036	-,154
Sig. (2-tailed)	,033	,613	,058		,571	,000	,013	,604	,400	,832	,948	,899	,615	,672	,082	,806	,286
Correlation Coefficient	,38	,46	,48	,50	,49	,43	,43	,28	,20	,16	,22	,14	,18	,50	,48	,48	,50
Correlation Coefficient	,204	-,053	,339	-,083	1,000	-,073	-,111	-,223	,134	-,141	-,269	,503	-,009	-,080	-,196	-,342	,008
Sig. (2-tailed)	,227	,726	,018	,571		,644	,480	,255	,586	,601	,238	,067	,974	,584	,188	,018	,957
Correlation Coefficient	,37	,46	,48	,49	,49	,43	,43	,28	,19	,16	,21	,14	,17	,49	,47	,47	,49
Correlation Coefficient	-,226	,194	-,355	,546	-,073	1,000	-,270	,028	,169	-,071	,332	,011	-,233	-,020	-,115	,039	-,051
Sig. (2-tailed)	,206	,225	,021	,000	,644		,096	,891	,546	,810	,193	,974	,424	,898	,474	,805	,744
Correlation Coefficient	,33	,41	,42	,43	,43	,43	,39	,26	,15	,14	,17	,12	,14	,43	,41	,43	,43
Correlation Coefficient	,212	,592	,323	-,375	-,111	-,270	1,000	,206	-,383	-,007	-,262	,231	,159	-,020	,340	,112	-,048
Sig. (2-tailed)	,228	,000	,037	,013	,480	,096		,303	,129	,980	,279	,448	,571	,897	,028	,481	,759
Correlation Coefficient	,34	,42	,43	,43	,43	,39	,43	,27	,15	,15	,19	,13	,15	,43	,42	,42	,43
Correlation Coefficient	,344	-,130	,434	,102	-,223	,028	,206	1,000	,418	,145	,464	-,236	-,082	-,041	,014	,162	-,102
Sig. (2-tailed)	,086	,509	,021	,604	,255	,891	,303		,156	,670	,095	,484	,811	,837	,945	,418	,604
Correlation Coefficient	,26	,28	,28	,28	,28	,26	,27	,28	,13	,11	,14	,11	,11	,28	,26	,27	,28
Correlation Coefficient	,257	-,368	-,169	,199	,134	,169	-,383	,418	1,000	,232	,628	,235	,191	-,290	-,340	-,106	,298
Sig. (2-tailed)	,319	,146	,490	,400	,586	,546	,129	,156		,405	,003	,418	,478	,215	,143	,675	,202
Correlation Coefficient	,17	,17	,19	,20	,19	,15	,17	,13	,20	,15	,20	,14	,16	,20	,20	,18	,20
Correlation Coefficient	-,196	-,164	-,340	-,058	-,141	-,071	-,007	,145	,232	1,000	,411	,534	,238	-,383	-,281	,408	-,211
Sig. (2-tailed)	,542	,558	,197	,832	,601	,810	,980	,670	,405		,114	,049	,457	,457	,292	,132	,433
Correlation Coefficient	,12	,15	,16	,16	,16	,14	,15	,11	,15	,16	,16	,14	,12	,16	,16	,15	,16
Correlation Coefficient	-,294	-,546	-,150	-,015	-,269	,332	-,262	,484	,628	,411	1,000	,145	-,011	-,464	-,214	,289	,298
Sig. (2-tailed)	,236	,016	,515	,948	,238	,193	,279	,095	,003	,114		,620	,964	,030	,338	,251	,178
Correlation Coefficient	,18	,18	,21	,22	,21	,17	,19	,14	,20	,16	,22	,14	,18	,22	,22	,20	,22
Correlation Coefficient	,000	,102	-,015	,038	,503	,011	,231	-,236	,235	,534	,145	1,000	,564	-,474	,121	-,065	,136
Sig. (2-tailed)	1,000	,741	,958	,899	,067	,974	,448	,484	,418	,049	,820		,090	,087	,681	,834	,642
Correlation Coefficient	,12	,13	,14	,14	,14	,12	,13	,11	,14	,14	,14	,14	,10	,14	,14	,13	,14
Correlation Coefficient	-,079	,057	-,016	,127	-,009	-,233	,159	-,082	,191	,238	-,011	,564	1,000	,040	-,043	,188	-,020
Sig. (2-tailed)	,781	,833	,952	,615	,974	,424	,571	,811	,478	,457	,964	,090		,873	,864	,485	,937
Correlation Coefficient	,15	,16	,17	,18	,17	,14	,15	,11	,16	,12	,18	,10	,18	,18	,18	,16	,18
Correlation Coefficient	-,147	,027	,048	,061	-,080	-,020	-,020	-,041	-,290	-,383	-,464	-,474	,040	1,000	,011	,016	-,028
Sig. (2-tailed)	,380	,857	,746	,672	,584	,898	,897	,837	,215	,143	,030	,087	,873		,940	,916	,845
Correlation Coefficient	,38	,46	,48	,50	,49	,43	,43	,28	,20	,16	,22	,14	,18	,50	,48	,48	,50
Correlation Coefficient	-,067	,186	,189	-,253	-,196	-,115	,340	,014	-,340	-,281	-,214	,121	-,043	,011	1,000	-,049	,027
Sig. (2-tailed)	,696	,226	,209	,082	,188	,474	,028	,945	,143	,292	,338	,681	,864	,940		,745	,853
Correlation Coefficient	,36	,44	,46	,48	,47	,42	,42	,26	,20	,16	,22	,14	,18	,48	,48	,46	,48
Correlation Coefficient	-,044	,002	-,078	,036	-,342	,039	,112	,182	-,106	,408	,269	-,065	,188	,016	-,049	1,000	,068
Sig. (2-tailed)	,801	,988	,607	,806	,018	,805	,481	,418	,675	,132	,251	,834	,485	,916	,745		,646
Correlation Coefficient	,36	,45	,46	,48	,47	,43	,42	,27	,18	,15	,20	,13	,16	,48	,46	,48	,48
Correlation Coefficient	,213	-,190	-,051	-,154	,008	-,051	-,048	-,102	,298	-,211	,298	,136	-,020	-,028	,027	,068	1,000
Sig. (2-tailed)	,200	,205	,731	,286	,957	,744	,759	,604	,202	,433	,178	,642	,937	,845	,853	,646	
Correlation Coefficient	,38	,46	,48	,50	,49	,43	,43	,28	,20	,16	,22	,14	,18	,50	,48	,48	,50

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

5. TARTIŞMA

Kanser dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Pankreas adenokarsinomu invaziv ve kemoterapiye direnç göstermesi nedeniyle en agresif ve ölümcül kanserlerden biri olarak nitelendirilmektedir. Kötü prognozu nedeniyle neredeyse vaka kadar ölümden sorumludur [41]. Pankreas kanseri riski yüksek hastaları taramak için standart bir belirteç olmaması ve çoğu hastanın hastalık ileri bir aşamaya ulaşana kadar asemptomatik kalması nedeniyle sıklıkla ileri evrede tanı konulmaktadır [2].

Oksidatif stres diğer kanser türlerinde olduğu gibi pankreas kanserinin de patogeneğinde yer alan önemli faktörlerden birisidir. Tümör oluşumunun çeşitli genlerde meydana gelen mutasyonların birikimi ile yüksek oranda ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. En yaygın oksidatif hasar lezyonu olan 8-oksoG'nin genomdaki kalıcılığı, spontan mutagenез riskini artırmakta ve hücrelerin malign transformasyonuna neden olmaktadır. Çok sayıda çalışma, BER enzimlerinin eksikliğinin tümör oluşumu olasılığını artırdığını göstermektedir [207]. BER enzimlerinden biri olan hOGG1, en çok araştırılan bifonksiyonel DNA glikozilazdır. Azalmış hOGG1 ekspresyon seviyesi, daha yüksek bir mutasyon sıklığına yol açmakta ve oksidatif stres altındaki bir bireyin kanser riskini artırmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde risk ile hOGG1 genotipi arasındaki ilişkiyi destekleyen çeşitli epidemiyolojik çalışmalar bulunmaktadır [15]. PDAC'da hOGG1'in rolünü ortaya koyan çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmalar genel olarak hOGG1 polimorfizmleri ve pankreas kanseri arasındaki ilişkiye ışık tutmaktadır.

Kanser çalışmalarında araştırılan çok sayıda DNA onarım geni arasında, hOGG1 genotipi sıklıkla insan kanseri riskinde değişiklik ile ilişkilendirilmiştir. Donghui ve diğ. [182] 2007'de yaptıkları çalışma ile BER genlerinin pankreas kanseri hastalarının hayatta kalması üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada hOGG1, APEX1 ve XRCC1'in homozigot varyant genotiplerinin, önemli ölçüde azalmış genel sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Nakao ve diğ. [208] tarafından OGG1, XRCC1, APE1 ve PARP1 gen polimorfizimlerinin Japonlarda pankreas kanseri ile ilişkisinin incelendiği çalışmada OGG1 Ser326Cys polimorfizmi ve pankreas kanseri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Yan ve diğ. [209] 2013'de yaptıkları meta analiz çalışmasında hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin PDAC duyarlılığı ile ilişkili olmadığını, etnik köken, kontrol kaynağı, örneklem büyüklüğü ve genotipleme yöntemine dayalı alt grup analizinde, hiçbir genetik modelde anlamlı bir ilişki

bulunmadığını belirtmişleridir. Liu ve diğ. [210] 370 pankreas kanseri hastası ve 395 sağlıklı kontrol ile Çin’de yaptıkları bir çalışmada ise hOGG1 c.307G>C SNP’i azalmış pankreas kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışma, hOGG1 SNP’lerinin Çin Han popülasyonunda pankreas kanseri riski ile ilişkili olduğunu ve pankreas kanseri riskini değerlendirmek için yararlı moleküler biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir. Çin’de yapılan bir başka çalışmada da hOGG1 geninin c.461G>A genetik varyantının, Çin Han popülasyonunda pankreas kanserine duyarlılık ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir [211].

Pankreas kanserinde hOGG1 ekspresyonunu inceleyen tek çalışma Inokuchi ve diğ. [212] tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada çekirdek ve mitokondriyal hOGG1 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak incelenmiş, pankreas kanseri prognozu ve sağ kalım açısından değerlendirilmiştir. Düşük mitokondriyal hOGG1 ekspresyonun, PDAC prognozunun bağımsız bir risk faktörü olduğu ifade edilmekle birlikte hOGG1 ekspresyonunun 8-OHdG immünopozitifliği ile negatif korelasyon gösterdiği ve yüksek 8-OHdG immünopozitifliğinin PDAC’li hastaların nüksüz sağkalımını kısalttığı gösterilmiştir. Düşük mitokondriyal hOGG1 ekspresyonunun PDAC prognozunu kötüleştirebileceği belirtilmiştir. Çekirdek hOGG1 ekspresyonunun ise hastalığın prognozuna etkisi olmadığı bulunmuştur. Çekirdek hOGG1 ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak incelediğimiz bu çalışmada benzer şekilde tümör dokusunda hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile sağkalım süresi ile arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Kanserlerde en çok çalışılan epigenetik değişikliklerden biri DNA metilasyonudur. Neredeyse tüm kanser türlerinde çok çeşitli genlerin metilasyon durumu ve hastalığın prognozu ile ilişkisi incelenmektedir. Thompson ve diğ. [26] küçük bir PDAC hasta grubunda, tümör ve komşu sağlıklı doku kullanarak yaptıkları kohort çalışmasında sağkalım ile negatif ilişkili olan 17.251 CpG bölgesi ve sağkalım ile pozitif ilişkili 3256 CpG bölgesi tanımlamışlardır. Benzer şekilde, Mishra ve diğ. [213] Kanser Genom Atlası pankreas kanseri hasta veri tabanındaki 154 PDAC örneğinden alınan metilasyon verilerinin bir analizinde sağkalım ile ilişkili 406 promotör metilasyon lokusu tanımlamışlardır. Pankreas kanserinde, p16, RASSF1A, 3-OST-2, siklin D2, SOCS-1, RAR- β ve APC dahil olmak üzere kanserle ilgili birkaç genin promotör hipermetilasyonu ile inaktive edildiği gösterilmiştir [203]. Yaptığımız literatür taraması sonucunda hOGG1 promotör metilasyonu ve pankreas kanseri ilişkisi ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma bulunmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda hOGG1 promotör bölgesinin gen lokusunu belirlerken literatürde farklı kanser türlerinde en fazla kullanılan hOGG1 lokusunu

tercih ettik. Biz çalışmamızda tümör ve normal pankreas dokularında DNA onarım geni hOGG1 promotör metilasyonunu pankreas tümör dokusunda normal pankreas dokusuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulduk. Bu sonuç bize pankreas kanserinde DNA tamirinden sorumlu gen olan hOGG1'in tümör dokusunda hipermetilasyon ile aktivitesinin azaldığını düşündürmektedir. Ancak bu çalışmada 8-OHdG immunpozitifliği belirlenmediği için kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda tümör doku hOGG1 promotör metilasyonu ile normal doku hOGG1 promotör metilasyonu arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki bulundu. Tümör dokusunda hOGG1 promotör metilasyonu ve hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile sağkalım süresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Seçilecek farklı bir gen lokusunda hOGG1 promotör metilasyonu, hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağkalım süresi bakımından daha farklı sonuçlar elde edilmesi mümkündür. Pankreas kanserinde hOGG1 promotör bölgesini gen lokusu için belirlenmiş sipesifik bir dizi olmayışı ve vaka sayımızın az oluşu anlamlı bir ilişki bulunmamasına neden olmuş olabilir.

Tümör dokularında % hOGG1 promotör metilasyonun bitişikteki normal pankreas dokularındakine göre yüksek olmakla birlikte, tümör dokuları TNM evresine göre sınıflandırıldığında % hOGG1 promotör metilasyonun tümörün artan evresine paralel bir artış göstermediği belirlendi. Bu durumu metilasyon süreçlerinin dinamik olması ve tümör gelişiminin her bir evresinde metilasyon süreçlerini etkileyen faktörlerin stabil olmamasına bağlanabilir. Ayrıca örnek sayısının düşük olması yapılan evre sınıflandırmasında grup başına düşen örnek sayısının az olmasına neden olmuştur. Daha fazla sayıda örnekle anlamlı ilişkiler bulunabileceği düşünülmektedir.

Erkeklerde pankreas kanseri insidansı kadınlara göre yüksek olup erkek cinsiyet pankreas kanseri için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda veriler cinsiyet dikkate alınarak değerlendirildiğinde, erkeklerde tümör dokuda normal dokuya kıyasla hOGG1 promotör metilasyonu yüksek bulundu. Erkeklerde pankreas kanseri insidansının kadınlardan yüksek olması yaşam tarzlarına bağlanmaktadır [87], bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Yükselmiş serum GGT karaciğer hasarının bir belirticidir ve hem kadınlarda hem de erkeklerde erkek ve kadınlarda genel kanser insidansı ile ilişkilidir[214]. Pankreas kanserinde yüksek GGT'nin kısa sağ kalım süresini öngördüğü belirtilmiştir[215]. Çeşitli araştırmalar yükselmiş serum ALP değerlerinin çeşitli kanserlerde kötü prognoz ile ilişkili olduğunu

göstermektedir. Xiao ve diğ. [216] yaptıkları çalışmada rezekte edilmiş pankreas kanseri hastalarında yüksek serum ALP seviyelerinin düşük sağ kalım ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Yaptığımız korelasyon analizinde tümör dokusu hOGG1 ekspresyon IHC skoru ile ALP ve GGT arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı ilişkiler bulundu. Hasta grubumuzda referans değerlerinin üzerinde belirlenmiş olan GGT ve ALP ile pozitif ilişki göstermesi hOGG1 ekspresyon IHC skorunun klinik açıdan prognostik bir parametre olabileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız ROC analizi sonucunda eğrinin altında kalan alan %95 güven aralığında 0,63 olarak bulundu ($p= 0.02$). 2,39 % metilasyon kesim değerinin altında kalan ve üzerinde kalan olarak ayrılan gruplarda hOGG1 ekspresyon IHC skoruları ve sağ kalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ROC analizi sonucu hOGG1 metilasyon yüzdesinin zayıf da olsa pankreas kanserinde %71,5 doğrulukla hastalığın ayırıcı tanısında yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gen ekspresyonu araştırmalarında en güvenilir sonuçlar gen ekspresyonunun mRNA ve protein düzeyinde çalışılmasıdır. Çalışmamızı kısıtlayan en önemli faktör proje bütçesinin kısıtlı olmasıdır. Bütçenin kısıtlı olması hem örnek sayısının sınırlandırılmasına hem de mRNA düzeyinde gen ekspresyonunun araştırılmamasına neden olmuştur. Daha yüksek sayıda örnekte çalışıldığında belki hOGG1 metilasyonu, hOGG1 ekspresyon IHC skoru ve sağ kalım süreleri arasında herhangi bir ilişki saptamak mümkün olabilirdi.

Sonuç olarak PDAC hastalarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak DNA oksidasyonu arttığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur. DNA tamir yollarında yaşanan olumsuz değişiklikler oksidatif hasar sonucu oluşan lezyonların tamirinde yetersiz kalınmasına yol açmaktadır. hOGG1 gen promotörü hipermetile durumda olduğunda genin susturulup, hücre içi hOGG1 düzeyinin azalacağı beklenir. Bu çalışmada normal pankreas dokusuna kıyasla pankreas tümör dokusunda hOGG1 promotörünün hipermetile durumda olduğu ama bu durumun tümör dokusunda hOGG1 miktarını azaltmadığı belirlendi. Bu durum hOGG1 ekspresyonunu düzenleyen histon modifikasyonu gibi diğer mekanizmaların etkisinden veya hOGG1 proteininin hücre içi yıkımını düzenleyen yolların aktivitesinden kaynaklanabilir.

hOGG1 geninde meydana gelen metilasyon ve ekspresyon değişikliklerinin daha geniş çalışma gruplarında, mRNA düzeyindeki gen ekspresyonu ve mitokondriyal hOGG1'i de kapsayacak şekilde ve gen ekspresyonunu düzenleyen diğer epigenetik mekanizmalarla birlikte daha detaylı bir şekilde araştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu tez çalışması pankreas kanserinde yapılan ilk hOGG1 promotör metilasyon çalışması olma özelliğini taşımakta ve elde edilen veriler hOGG1 hipermetilasyonunun hastalığın erken tanısında belirteç adayı olabileceği ve prognozu hakkında bilgi verebileceği düşüncemizi desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D., Fuchs, H.E., Jemal, A., 2022, Cancer statistics 2022, *CA. Cancer J. Clin.*, 72(1), 7-33.
- [2] Kamisawa, T., Wood, L.D., Itoi, T., Takaori, K., 2016, Pancreatic cancer, *Lancet*, 388(10039), 73-85.
- [3] Gillen, S., Schuster, T., Meyer Zum Bü Schenfelde, C., Friess, H., Rg Kleeff, J., 2010, Preoperative/Neoadjuvant Therapy in Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Response and Resection Percentages, *PLos Medicine*, 7(4), e1000267.
- [4] Kamisawa, T., Isawa, T., Koike, M., Tsuruta, K., Okamoto, A., 1995, Hematogenous Metastases of Pancreatic Ductal Carcinoma, *Pancreas*, 11(4), 345-349.
- [5] Radak, Z., and Boldogh, I., 2010, 8-oxo-7,8-dihydroguanine: Link to gene expression, aging and defense against oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 587-596.
- [6] Friedberg, E.C., 2003, DNA damage and repair, *Nature*, 421(6921), 436-440.
- [7] Hegde, M.L., Izumi, T., Mitra, S., 2012, Oxidized Base Damage and Single-Strand Break Repair in Mammalian Genomes: Role of Disordered Regions and Posttranslational Modifications in Early Enzymes, *Prog Mol Biol Transl Sci*, 110, 123–153.
- [8] Candeias L.P., and Steenken, S., 2000, Reaction of HO* with Guanine Derivatives in Aqueous Solution: Formation of Two Different Redox-Active OH- Adduct Radicals and Their Unimolecular Transformation Reactions. Properties of G(-H)*, *Chem. - A Eur. J.*, 6(3), 475-484.
- [9] Ba, X., Aguilera-Aguirre, L., Rashid, Q.T., Bacsi, A., Radak, Z., Sur, S., Hosoki, K., Hegde, M.L., Boldogh, I., 2014, The Role of 8-Oxoguanine DNA Glycosylase-1 in Inflammation, *Int. J. Mol. Sci.*, 23;15(9):16975-97.

- [10] Lindahl, T., and BARNES, D.E., 2000, Repair of Endogenous DNA Damage, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 65, 127-134.
- [11] Grollman, A.P., and Moriya, M., 1993, Mutagenesis by 8-oxoguanine: an enemy within, *Trends Genet.*, 9(7), 246–249, .
- [12] Krokan, H.E., and Bjørå, M., 2013, “Base Excision Repair, *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1;5(4):a012583.
- [13] David, S.S., O’Shea, V.L., Kundu, S., 2007, “Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage, *Nature*, 447(7147):941-50.
- [14] Dizdaroglu, M., Kirkali, G., Jaruga, P., 2008, Formamidopyrimidines in DNA: Mechanisms of formation, repair, and biological effects, *Free Radic. Biol. Med.*, 45(12), 1610–1621.
- [15] Weiss, J.M., Goode, E.L., Ladiges, W.C., Ulrich, C.M, 2005, Polymorphic variation in hOGG1 and risk of cancer: A review of the functional and epidemiologic literature, *Mol. Carcinog.*, 42(3), 127–141.
- [16] G. Garcea, A. R. Dennison, W. P. Steward, and D. P. Berry, “Role of inflammation in pancreatic carcinogenesis and the implications for future therapy,” *Pancreatology*, vol. 5, no. 6, pp. 514–529, Jan. 2005.
- [17] Kadlubar, F.F., Anderson, K.E., Häussermann, S., Lang, N.P., Barone, G.W., Thompson, P.A., MacLeod, S.L., Chou, M.W., Mikhailova, M., Plastaras, J., Marnett, L.J., Nair, J., Velic, I., Bartsch, H., 1998, Comparison of DNA adduct levels associated with oxidative stress in human pancreas, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, 405(2), 125–133.
- [18] Thompson, P.A., Seyedi, F., Lang, N.P., MacLeod, S.L., Wogan, G.N., Anderson, K.E., Tang, Y.M., Coles, B., Kadlubar, F.F., 1999, Comparison of DNA adduct levels associated with exogenous and endogenous exposures in human pancreas in relation to metabolic genotype, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, 424(1–2), 263–274.
- [19] Li, D., Firozi, P.F., Zhang, W., Shen, J., DiGiovanni, J., Lau, S., Evans, D., Friess, H., Hassan, M., Abbruzzese, J.L., 2001, DNA adducts, genetic polymorphisms, and K-ras mutation in human pancreatic cancer, *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*,

513(1–2), 37–48.

- [20] Cheung-Ong, K., Giaever, G., Nislow, C., 2013, DNA-Damaging Agents in Cancer Chemotherapy: Serendipity and Chemical Biology, *Chem. Biol.*, 20(59), 648–659.
- [21] Sakthivel, K.M., and Hariharan, S., 2017, Regulatory players of DNA damage repair mechanisms: Role in Cancer Chemoresistance, *Biomed. Pharmacother.*, 93, 1238–1245.
- [22] Li, D., Liu, H., Jiao, L., Chang, D.Z., Beinart, G., Wolff, R.A., Evans, D.B., Hassan, M.M., Abbruzzese, J.L., 2006 ,Significant effect of homologous recombination DNA repair gene polymorphisms on pancreatic cancer survival, *Cancer Res.*, 66(6), 3323–3330.
- [23] Huang, M.H., Chou, Y.W., Li, M.H., Shih, T.E., Lin, S.Z., Chuang, H.M., Chiou, T.W., Su, H.L., Harn, H.J., 2019, Epigenetic targeting DNMT1 of pancreatic ductal adenocarcinoma using interstitial control release biodegrading polymer reduced tumor growth through hedgehog pathway inhibition, *Pharmacol. Res.*, 139, 50–61.
- [24] Antequera, F., and Bird, A., 1999, CpG islands as genomic footprints of promoters that are associated with replication origins, *Curr. Biol.*, 9(17), 661–667.
- [25] Kasymov, R.D., Grin, I.R., Endutkin, A.V., Smirnov, S.L., Ishchenko, A.A., Saparbaev, M.K., Zharkov, D.O., 2013, Excision of 8-oxoguanine from methylated CpG dinucleotides by human 8-oxoguanine DNA glycosylase, *FEBS Lett.*, 587(18), 3129–3134.
- [26] Thompson, M.J., Rubbi, L., Dawson, D.W., Donahue, T.R., Pellegrini, M., 2015, Pancreatic Cancer Patient Survival Correlates with DNA Methylation of Pancreas Development Genes, *PLoS One*, 10(6):e0128814.
- [27] Mishra, N.K., and Guda, C., 2017, Genome-wide DNA methylation analysis reveals molecular subtypes of pancreatic cancer, 8(17), 28990–29012.
- [28] Pan, L., Wang, R., Boldogh, I., Ba, X., Hao, W., 2018, The roles of base excision repair enzyme OGG1 in gene expression, *Cell. Mol. Life Sci.*, 75(20), 3741–3750.
- [29] Klose, J.R., and Bird, A.P., 2006, Genomic DNA methylation: the mark and its

mediators, *Trends Biochem. Sci.*, 31(2), 89–97.

- [30] Tando, Y., Yanagimachi, M., Matsushashi, Y., Nakamura, T., Kamisawa, T., 2010, A brief outline of the history of the pancreatic anatomy, *Dig. Surg.*, 27(2), 84–86.
- [31] Şahin, D., and Arıttıcı, G., 2018, Akut pankreatit ve nutrisyon, *Güncel gastroenteroloji*, 22(1), 52–64.
- [32] Karademir, S., 2019, *Pankreasın cerrahi anatomisi*, Karaciğer Safra Yolları ve Pankreas Cerrahisi, In: Abbasoğlu, O. (ed.), 17, Dünya Tıp Kitapevi, Ankara, 213–218.
- [33] Tarihi, G., Çağlar, V., Gönül, Y., Songur, A., 2014, Pankreas Anatomisi ve Varyasyonları, *Int. J. Clin. Res.*, 2(2), 77–82.
- [34] Acar, G., 2020, *Pankreas Anatomisi ve Fizyolojisi*, Hepatobiliyer Sistem ve Pankreas Hastalıkları, In: Kefeli, A. (ed.), 32, Akademisyen Kitapevi, Ankara, 485–494.
- [35] Longnecker, D.S., Gorelick, F., Thompson, E.D., 2018, *Anatomy, Histology, and Fine Structure of the Pancreas*, The Pancreas: An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine, and Surgery, I: Beger, H.G., (ed.), 2, Wiley, 10–23.
- [36] Ağcaoğlu, O., Erkan, B., Erkan, M., *Pankreas Fizyolojisi*, Karaciğer Safra Yolları ve Pankreas Cerrahisi, In: Abbasoğlu, O. (ed.), 18, Dünya Tıp Kitapevi, Ankara, 219–222.
- [37] Pancreatic Exocrine Insufficiency (PEI) & Pancreatic Enzyme Replacement Therapy (PERT)-Neuroendocrine Cancer, <https://www.neuroendocrinecancer.org.uk/pancreas-pep-pert/>. [Ziyaret tarihi: 10 Ekim 2022].
- [38] Pai, M., and Spalding, D., 2015, Pancreatic cancer, *Medicine (Baltimore)*, 43(6), 329–333.
- [39] Omran, A.R., 2005, The Epidemiologic Transition: A Theory of the Epidemiology of Population Change, *Milbank Q.*, 83(4), 731–757.
- [40] World Health Organization, Global health estimates for 2020: deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000-2019, *Who*, 2020.
- [41] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray,

- F., 2021, Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA. Cancer J. Clin.*, 71(3), 209–249.
- [42] American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2022. Atlanta: American Cancer Society; 2022
- [43] Ferlay, J., Partensky, C., Bray, F., 2016, More deaths from pancreatic cancer than breast cancer in the EU by 2017, *Acta Oncol. (Madr)*, 55(9-10), 1158-1160.
- [44] Luo, W., Tao, J., Zheng, L., Zhang, T., 2020, Current epidemiology of pancreatic cancer: Challenges and opportunities, *Chinese J. Cancer Res.*, 32(6), 705–719.
- [45] De Angelis, R., Sant, M., Coleman, M.P., Francisci, S., Baili, P., Pierannunzio, D., Trama, A., Visser, O., Brenner, H., Ardanaz, E., Bielska-Lasota, M., Engholm, G., Nennecke, A., Siesling, S., Berrino, F., Capocaccia, R., EUROCARE-5 Working Group, 2014, Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EUROCARE-5—a population-based study, *Lancet Oncol.*, 15(1), 23–34.
- [46] Kara, F., and Kesinkılıç, B., 2017, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu: Türkiye Kanser İstatistikleri 2017, *Türkiye Halk Sağlığı Kurumu*.
- [47] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2004, Tobacco smoke and involuntary smoking., *IARC Monogr. Eval. Carcinog. risks to humans*, 83, 1–1438.
- [48] Iodice, S., Gandini, S., Maisonneuve, P., and Lowenfels, A.B., 2008, Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis, *Langenbeck's Arch. Surg.*, 393(4), 535–545.
- [49] Vrieling, A., Bueno-de-Mesquita, H.B., Boshuizen, H.C., Michaud, D.S., Severinsen, M.T., Overvad, K., Olsen, A., Tjønneland, A., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M.C., Kaaks, R., Rohrmann, S., Boeing, H., Nöthlings, U., Trichopoulou, A., Moutsiou, E., Dilis, V., Palli, D., Krogh, V., Panico, S., Tumino, R., Vineis, P., van Gils, C.H., Bingham, S., Khaw, K.T., Roddam, A., Key, T., Boffetta, P., Duell, E.J., Jenab, M., Gallo, V., Riboli, E., 2010, Cigarette smoking, environmental tobacco smoke exposure

- and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition., *Int. J. cancer*, 126(10), 2394–403.
- [50] Duell, E.J., 2012, Epidemiology and potential mechanisms of tobacco smoking and heavy alcohol consumption in pancreatic cancer, *Mol. Carcinog.*, 51(1), 40–52.
 - [51] Calle, E.E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., Thun, M.J., 2003, Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults, *N. Engl. J. Med.*, 348(17), 1625–1638.
 - [52] Li, D., 2009, Body Mass Index and Risk, Age of Onset, and Survival in Patients With Pancreatic Cancer, *JAMA*, 301(24), 2553.
 - [53] Larsson, S.C., Permert, J., Håkansson, N., Näslund, I., Bergkvist, L., Wolk, A., 2005, Overall obesity, abdominal adiposity, diabetes and cigarette smoking in relation to the risk of pancreatic cancer in two Swedish population-based cohorts, *Br. J. Cancer*, 93(11), 1310–1315.
 - [54] Larsson, S.C., Orsini, N., Wolk, A., 2007, Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies, *Int. J. Cancer*, 120(9), 1993–1998.
 - [55] Valentinis, B., 2001, IGF-I receptor signalling in transformation and differentiation, *Mol. Pathol.*, 54(3), 133–137.
 - [56] Babic, A., Bao, Y., Qian, Z.R., Yuan, C., Giovannucci, E.L., Aschard, H., Kraft, P., Amundadottir, L.T., Stolzenberg-Solomon, R., Morales-Oyarvide, V., Ng, K., Stampfer M.J., Ogino, S., Buring, J.E., Sesso, H.D., Gaziano, J.M., Rifai, N., Pollak, M.N., 2016, Pancreatic cancer risk associated with prediagnostic plasma levels of leptin and leptin receptor genetic polymorphisms, *Cancer Res.*, 76(24):7160-7167.
 - [57] Song, M., Chen, X., Wang, L., Zhang, Y., 2018, Future of anti-PD-1/PD-L1 applications: Combinations with other therapeutic regimens, *Chinese J. Cancer Res.*, 30(2), 157–172.
 - [58] Wang, Y.T., Gou, Y.W., Jin, W.W., Xiao, M., Fang, H.Y., 2016, Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose–response meta-analysis of cohort studies, *BMC Cancer*, 16(1), 212.

- [59] Lucenteforte, E., La Vecchia, C., Silverman, D., Petersen, G.M., Bracci, P.M., Ji, B.T., Bosetti, C., Li, D., Gallinger, S., Miller, A.B., Bueno-de-Mesquita, H.B., Talamini, R., Polesel, J., Ghadirian, P., Baghurst, P.A., Zatonski, W., Fontham, E., Bamlet, W.R., Holly, E.A., Gao, Y.T., Negri, E., Hassan, M., Cotterchio, M., Su, J., Maisonneuve, P., Boffetta, P., Duell, E.J., 2012, Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case–Control Consortium (PanC4), *Ann. Oncol.*, 23(2), 374-82.
- [60] Tramacere, I., Scotti, L., Jenab, M., Bagnardi, V., Bellocchio, R., Rota, M., Corrao, G., Bravi, F., Boffetta, P., La Vecchia, C., 2010, Alcohol drinking and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of the dose-risk relation, *Int. J. cancer*, 126(6), 1474–1486.
- [61] Michaud, D.S., Vrieling, A., Jiao, L., Mendelsohn, J.B., Steplowski, E., Lynch, S.M., Wactawski-Wende, J., Arslan, A.A., Bas Bueno-de-Mesquita, H., Fuchs, C.S., Gross, M., Helzlsouer, K., Jacobs, E.J., Lacroix, A., Petersen, G., Zheng, W., Allen, N., Ammundadottir, L., Bergmann, M.M., Boffetta, P., Buring, J.E., Canzian, F., Chanock, S.J., Clavel-Chapelon, F., Clipp, S., Freiberg, M.S., Michael Gaziano, J., Giovannucci, E.L., Jacobs, K., Kooperberg, C., Kraft, P., Manjer, J., Navarro, C., Peeters, P.H., 2010, Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan), *Cancer Causes Control*, 21(8), 1213–1225.
- [62] Naudin, S., Li, K., Jaouen, T., Assi, N., Kyrø, C., Tjønneland, A., Overvad, K., Boutron-Ruault, M.C., Rebours, V., Védié, A.L., Boeing, H., Kaaks, R., Katzke, V., Bamia, C., Naska, A., Trichopoulou, A., Berrino, F., Tagliabue, G., Palli, D., Panico, S., Tumino, R., Sacerdote, C., Peeters, P.H., Bueno-de-Mesquita, H.B.A., Weiderpass, E., Gram, I.T., Skeie, G., Chirlaque, M.D., 2018, Lifetime and baseline alcohol intakes and risk of pancreatic cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study, *Int. J. Cancer*, 143(4), 801–812.
- [63] Hu, J.X., Zhao, C.F., Chen, W.B., Liu, Q.C., Li, Q.W., Lin, Y.Y., Gao, F., 2021, Pancreatic cancer: A review of epidemiology, trend, and risk factors, *World Journal of Gastroenterology*, 27(27), 4298–4321.
- [64] Tsai, H.J., and Chang, J.S., 2019, Environmental Risk Factors of Pancreatic Cancer, *J. Clin. Med.*, 8(9), 1427.

- [65] Chen, Y.J., Peng, G.S., Tsao, T.P., Wang, M.F., Lu, R.B., Yin, S.J., 2009, Pharmacokinetic and pharmacodynamic basis for overcoming acetaldehyde-induced adverse reaction in Asian alcoholics, heterozygous for the variant ALDH2 *2 gene allele, *Pharmacogenet. Genomics*, 19(8), 588–599.
- [66] Kanda, J., Matsuo, K., Suzuki, T., Kawase, T., Hiraki, A., Watanabe, M., Mizuno, N., Sawaki, A., Yamao, K., Tajima, K., Tanaka, H., 2009, Impact of alcohol consumption with polymorphisms in alcohol-metabolizing enzymes on pancreatic cancer risk in Japanese, *Cancer Sci.*, 100(2), 296–302.
- [67] Lightsey, D., 2012, Comment on ‘Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies, *Br. J. Cancer*, 107(4), 754–755.
- [68] Stolzenberg-Solomon, R.Z., Cross, A.J., Silverman, D.T., Schairer, C., Thompson, F.E., Kipnis, V., Subar, A.F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., Sinha, R., 2007, Meat and meat-mutagen intake and pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 16(12), 2664-2675.
- [69] Beaney, A.J., Banim, P.J.R., Luben, R., Lentjes, M.A.H., Khaw, K.T., Hart, A.R., 2017, Higher Meat Intake Is Positively Associated With Higher Risk of Developing Pancreatic Cancer in an Age-Dependent Manner and Are Modified by Plasma Antioxidants: A Prospective Cohort Study (EPIC-Norfolk) Using Data From Food Diaries, *Pancreas*, 46(5), 672–678.
- [70] Paluszkiewicz, P., Smolińska, K., Debińska, I., Turski, W.A., 2012, Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies, *Cancer Epidemiol.*, 36(1), 60-67.
- [71] Jarosz, M., Sekuła, W., Rychlik, E., 2012, Influence of Diet and Tobacco Smoking on Pancreatic Cancer Incidence in Poland in 1960–2008, *Gastroenterol. Res. Pract.*, 2012, 682156.
- [72] Miller, P.E., Alexander, D., 2016, A review and meta-analysis of prospective studies of red and processed meat and pancreatic cancer, *FASEB J.*, 30, 902–909.
- [73] Aschebrook-Kilfoy, B., Cross, A.J., Stolzenberg-Solomon, R.Z., Schatzkin, A.,

- Hollenbeck, A.R., Sinha, R., Ward, M.H., 2011, Pancreatic cancer and exposure to dietary nitrate and nitrite in the NIH-AARP diet and health study, *Am. J. Epidemiol.*, 174(3), 305-315.
- [74] Rohrmann, S., Linseisen, J., Nöthlings, U., Overvad, K., Egeberg, R., Tjønneland, A., Boutron-Ruault, M.C., Clavel-Chapelon, F., Cottet, V., Pala, V., Tumino, R., Palli, D., Panico, S., Vineis, P., Boeing, H., Pischon, T., Grote, V., Teucher, B., Khaw, K.T., Wareham, N.J., Crowe, F.L., Goufa, I., Orfanos, P., Trichopoulou, A., Jeurink, S.M., Siersema, P.D., Peeters, P.H., Brustad, M., Engeset, D., Skeie, G., Duell, E.J., Amiano, P., Barricarte, A., Molina-Montes, E., Rodríguez, L., Tormo, M.J., Sund, M., Ye, W., Norat, T., Bueno-de-Mesquita, H.B., 2013, Meat and fish consumption and risk of pancreatic cancer: Results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, *Int. J. Cancer*, 132(3), 617–624.
- [75] Keum, Y.S., Jeong, W.S., Tony Kong, A.N., 2004, Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, 555(1–2), 191–202.
- [76] Jansen, R.J., Robinson, D.P., Stolzenberg-Solomon, R.Z., Bamlet, W.R., de Andrade, M., Oberg, A.L., Hammer, T.J., Rabe, K.G., Anderson, K.E., Olson, J.E., Sinha, R., Petersen, G.M., 2011, Fruit and vegetable consumption is inversely associated with having pancreatic cancer, *Cancer Causes Control*, 22(12), 1613–1625.
- [77] Ojajärvi, I.A., Partanen, T.J., Ahlbom, A., Boffetta, P., Hakulinen, T., Jourenkova, N., Kauppinen, T.P., Kogevinas, M., Porta, M., Vainio, H.U., Weiderpass, E., Wesseling, C.H., 2000, Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis, *Occup. Environ. Med.*, 57(5), 316–324.
- [78] Lee, Y.W., Klein, C.B., Kargacin, B., Salnikow, K., Kitahara, J., Dowjat, K., Zhitkovich, A., Christie, N.T., Costa, M., 1995, Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNA methylation: a new model for epigenetic carcinogens, *Mol. Cell. Biol.*, 15(5), 2547–2557.
- [79] Ahamed, M., Akhtar, M.J., Siddiqui, M.A., Ahmad, J., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A.A., AlSalhi, M.S., Alrokayan, S.A., 2011, Oxidative stress mediated apoptosis induced by

- nickel ferrite nanoparticles in cultured A549 cells,” *Toxicology*, 283(2-3), 101-118.
- [80] Kriegel, A.M., Soliman, A.S., Zhang, Q., El-Ghawalby, N., Ezzat, F., Soultan, A., Abdel-Wahab, M., Fathy, O., Ebidi, G., Bassiouni, N., Hamilton, S.R., Abbruzzese, J.L., Lacey, M.R., Blake, D.A., 2006, Serum Cadmium Levels in Pancreatic Cancer Patients from the East Nile Delta Region of Egypt, *Environ. Health Perspect.*, 114(1), 113–119.
- [81] Candéias, S., Pons, B., Viau, M., Caillat, S., Sauvaigo, S., 2010, Direct inhibition of excision/synthesis DNA repair activities by cadmium: Analysis on dedicated biochips, *Mutat. Res.*, 694(1-2):53-9.
- [82] Waalkes, M.P., Cherian, M.G., Ward, j.M., Goyer, R.A., 1992, Immunohistochemical Evidence of High Concentrations of Metallothionein in Pancreatic Hepatocytes Induced by Cadmium in Rats, *Toxicol. Pathol.*, 20(3–1), 323–326.
- [83] Liu-Mares, W., Mackinnon, J.A., Sherman, R., Fleming, L.E., Rocha-Lima, C., Hu, J.J., Lee, D.J., 2013, Pancreatic cancer clusters and arsenic-contaminated drinking water wells in Florida” *BMC Cancer*, 13, 111.
- [84] Amaral, A.F.S., Cantor, K.P., Silverman, D.T., Malats, N., 2010, Selenium and bladder cancer risk: A meta-analysis, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 19(9), 2407-2415.
- [85] Bardia, A., Tleyjeh, I.M., Cerhan, J.R., Sood, A.K., Limburg, P.J., Erwin, P.J., Montori, V.M., 2008, Efficacy of Antioxidant Supplementation in Reducing Primary Cancer Incidence and Mortality: Systematic Review and Meta-analysis, *Mayo Clin. Proc.*, 83(1), 23-34.
- [86] Wang L, Wang J, Liu X, Liu Q, Zhang G, Liang L., 2016, Association between selenium intake and the risk of pancreatic cancer: a meta-analysis of observational studies, *Biosci Rep.*, 36(5), e00395.
- [87] Burney, P.G.J., Comstock, G.W., Morris, J.S., 1989, Serologic precursors of cancer: serum micronutrients and the subsequent risk of pancreatic cancer, *Am. J. Clin. Nutr.*, 49(5), 895–900.
- [88] P. Rawla, T. Sunkara, and V. Gaduputi, “Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors,” *World J. Oncol.*, vol. 10, no. 1, pp. 10–27, 2019.

- [89] SEERCancerStatisticsReview,1975-2018,
https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2018/, [Ziyaret tarihi: 10 Ekim 2022].
- [90] Shavers, V.L., Harlan, L.C., Jackson, M., Robinson, J., 2009, Racial/Ethnic Patterns of Care for Pancreatic Cancer, *J. Palliat. Med.*, 12 (7), 623–630.
- [91] Yadav, D., Lowenfels, A.B., 2013, The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer,” *Gastroenterology*, 144(6), 1252-1261.
- [92] Dong, M., Nio, Y., Tamura, K., Song, M.M., Guo, K.J., Guo, R.X., Dong, Y.T., 2000, Ki-ras point mutation and p53 expression in human pancreatic cancer: a comparative study among Chinese, Japanese, and Western patients., *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 9(3), 279–284.
- [93] Song, M.M., Nio, Y., Dong, M., Tamura, K., Furuse, K., Tian, Y.L., He, S.G., Shen, K., 2000, Comparison of K-ras point mutations at codon 12 and p21 expression in pancreatic cancer between Japanese and Chinese patients, *J. Surg. Oncol.*, 75(3), 176-185.
- [94] Longnecker, D.S., Karagas, M.R., Tosteson, T.D., Mott, L.A., 2000, Racial Differences in Pancreatic Cancer: Comparison of Survival and Histologic Types of Pancreatic Carcinoma in Asians, Blacks, and Whites in the United States, *Pancreas*, 21(4), 338–343.
- [95] Ghiorzo, P., 2014, Genetic predisposition to pancreatic cancer, *World J. Gastroenterol.*, 20(31), 10778-10789.
- [96] Shi, C., Daniels, J.A., Hruban, R.H., 2008, Molecular Characterization of Pancreatic Neoplasms, *Adv. Anat. Pathol.*, 15(4), 185–195.
- [97] Vincent, A., Herman, J., Schulick, R., Hruban, R.H., Goggins, M., 2011, Pancreatic Cancer,” *Lancet*, 378(9791), 1605–1617.
- [98] Buscail, L., Bournet, B., Cordelier, P., 2020, Role of oncogenic KRAS in the diagnosis, prognosis and treatment of pancreatic cancer, *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 17(3), 153–168.
- [99] Murphy, K.M., Brune, K.A., Griffin, C., Sollenberger, J.E., Petersen, G.M., Bansal, R.,

- Hruban, R.H., Kern, S.E., 2002, Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%.,” *Cancer Res.*, 62(13), 3789–3793.
- [100] Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, Borges M, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Palmisano E, Brune K, Jaffee EM, Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Parmigiani G, Kern SE, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Eshleman JR, Goggins M, Klein AP., 2009, Exomic Sequencing Identifies PALB2 as a Pancreatic Cancer Susceptibility Gene, *Science.*, 324(5924), 217.
- [101] Slater, E.P., Langer, P., Niemczyk, E., Strauch, K., Butler, J., Habbe, N., Neoptolemos, J.P., Greenhalf, W., Bartsch, D.K., 2010, PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families,” *Clin. Genet.*, 78(5), 490-494.
- [102] Shi, C., Hruban, R.H., Klein, A.P., 2009, Familial pancreatic cancer, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 133(3), 365–374.
- [103] Klein, A.P., Brune, K.A., Petersen, G.M., Goggins, M., Tersmette, A.C., Offerhaus, G.J., Griffin, C., Cameron, J.L., Yeo, C.J., Kern, S., Hruban, R.H., 2004, Prospective Risk of Pancreatic Cancer in Familial Pancreatic Cancer Kindreds, *Cancer Res.*, 64(7), 2634–2638.
- [104] Greer, J.B., Whitcomb, D.C., Brand, R.E., 2007, Genetic Predisposition to Pancreatic Cancer: A Brief Review, *Am. J. Gastroenterol.*, 102(11), 2564–2569.
- [105] Brune, K.A., Lau, B., Palmisano, E., Canto, M., Goggins, M.G., Hruban, R.H., Klein, A.P., 2010, Importance of age of onset in pancreatic cancer kindreds,” *J. Natl. Cancer Inst.*, 102(2), 119-126.
- [106] Jiao, L., Berrington de Gonzalez, A., Hartge, P., Pfeiffer, R.M., Park, Y., Freedman, D.M., Gail, M.H., Alavanja, M.C., Albanes, D., Beane Freeman, L.E., Chow, W.H., Huang, W.Y., Hayes, R.B., Hoppin, J.A., Ji, B.T., Leitzmann, M.F., Linet, M.S., Stolzenberg-Solomon, R.Z., 2010, Body mass index, effect modifiers, and risk of pancreatic cancer: A pooled study of seven prospective cohorts,” *Cancer Causes Control*, 21(8), 1305-1314.

- [107] Li, D., Tang, H., Hassan, M.M., Holly, E.A., Bracci, P.M., Silverman, D.T., 2011, Diabetes and risk of pancreatic cancer: A pooled analysis of three large case-control studies,” *Cancer Causes Control*, 22(2), 189-197.
- [108] Huang, B.Z., Pandol, S.J., Jeon, C.Y., Chari, S.T., Sugar, C.A., Chao, C.R., Zhang, Z.F., Wu, B.U., Setiawan, V.W., 2020, New-Onset Diabetes, Longitudinal Trends in Metabolic Markers, and Risk of Pancreatic Cancer in a Heterogeneous Population, *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 18(8), 1812-1821.e7.
- [109] Neid, M., Datta, K., Stephan, S., Khanna, I., Pal, S., Shaw, L., White, M., Mukhopadhyay, D., 2004, Role of insulin receptor substrates and protein kinase C-zeta in vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor expression in pancreatic cancer cells, *J. Biol. Chem.*, 279(6), 3941-3948.
- [110] Andersen, D.K., Korc, M., Petersen, G.M., Eibl, G., Li, D., Rickels, M.R., Chari, S.T., Abbruzzese, J.L., 2017, Diabetes, Pancreatogenic Diabetes, and Pancreatic Cancer, *Diabetes*, 66(5), 1103-1110.
- [111] Pannala, R., Basu, A., Petersen, G.M., Chari, S.T., 2009, New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer, *The Lancet Oncology.*, 10(1), 88-95.
- [112] Bosetti, C., Rosato, V., Li, D., Silverman, D., Petersen, G.M., Bracci, P.M., Neale, R.E., Muscat, J., Anderson, K., Gallinger, S., Olson, S.H., Miller, A.B., Bas Bueno-de-Mesquita, H., Scelo, G., Janout, V., Holcatova, I., Lagiou, P., Serraino, D., Lucenteforte, E., Fabianova, E., Baghurst, P.A., Zatonski, W., Foretova, L., Fontham, E., Bamlet, W.R., 2014, Diabetes, antidiabetic medications, and pancreatic cancer risk: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium, *Ann. Oncol.*, 25(10), 2065-2072.
- [113] Maisonneuve, P., and Lowenfels, A.B., 2015, Risk factors for pancreatic cancer: a summary review of meta-analytical studies, *Int. J. Epidemiol.*, 44(1), 186–198.
- [114] Risch, H.A., Lu, L., Kidd, M.S., Wang, J., Zhang, W., Ni, Q., Gao, Y.T., Yu, H., 2014, Helicobacter pylori seropositivities and risk of pancreatic carcinoma,” *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 23(1), 172-178.

- [115] Risch, H.A., 2003, Etiology of pancreatic cancer, with a hypothesis concerning the role of N-nitroso compounds and excess gastric acidity, *Journal of the National Cancer Institute*. 95(13), 948-960.
- [116] Chen, X.Z., Schöttker, B., Castro, F.A., Chen, H., Zhang, Y., Holleczeck, B., Brenner, H., 2016, Association of helicobacter pylori infection and chronic atrophic gastritis with risk of colonic, pancreatic and gastric cancer: A ten-year follow-up of the ESTHER cohort study, *Oncotarget*, 7(13), 17182-17193.
- [117] Wolpin, B.M., Chan, A.T., Hartge, P., Chanock, S.J., Kraft, P., Hunter, D.J., Giovannucci, E.L., Fuchs, C.S., 2009, ABO blood group and the risk of pancreatic cancer, *J. Natl. Cancer Inst.*, 101(6), 424-431.
- [118] Vasan, S.K., Hwang, J., Rostgaard, K., Nyrén, O., Ullum, H., Pedersen, O.B.V., Erikstrup, C., Melbye, M., Hjalgrim, H., Pawitan, Y., Edgren, G., 2016, ABO blood group and risk of cancer: A register-based cohort study of 1.6 million blood donors, *Cancer Epidemiol.*, 44, 40-43.
- [119] Ben, Q., Wang, K., Yuan, Y., Li, Z., 2011, Pancreatic cancer incidence and outcome in relation to ABO blood groups among Han Chinese patients: A case-control study, *Int. J. Cancer*, 128(5), 1179-1186.
- [120] El Jellas, K., Hoem, D., Hagen, K.G., Kalvenes, M.B., Aziz, S., Steine, S.J., Immervoll, H., Johansson, S., Molven, A., 2017, Associations between ABO blood groups and pancreatic ductal adenocarcinoma: influence on resection status and survival, *Cancer Med.*, 6(7), 1531-1540.
- [121] Risch, H.A., Yu, H., Lu, L., Kidd, M.S., 2010, ABO blood group, helicobacter pylori seropositivity, and risk of pancreatic cancer: A case-control study, *J. Natl. Cancer Inst.*, 102(7), 502-505.
- [122] Etemad, B., and Whitcomb, D.C., 2001, Chronic pancreatitis: Diagnosis, classification, and new genetic developments, *Gastroenterology*, 120(3), 682-707.
- [123] Rijkers, A.P., Bakker, O.J., Ahmed Ali, U., Hagenaars, J.C.J.P., van Santvoort, H.C., Besselink, M.G., Bollen, T.L., van Eijck, C.H., 2017, Risk of Pancreatic Cancer After a

Primary Episode of Acute Pancreatitis, *Pancreas*, 46(8), 1018-1022.

- [124] Sadr-Azodi, O., Oskarsson, V., Discacciati, A., Videhult, P., Askling, J., Ekbom, A., 2018, Pancreatic Cancer Following Acute Pancreatitis: A Population-based Matched Cohort Study, *Am. J. Gastroenterol.*, 113(11), 1711-1719.
- [125] Zheng, Z., Chen, Y., Tan, C., Ke, N., Du, B., Liu, X., 2019, Risk of pancreatic cancer in patients undergoing surgery for chronic pancreatitis, *BMC Surg.*, 19(1), 83.
- [126] Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P., Whitcomb, DC., 2000, Risk factors for cancer in hereditary pancreatitis. International Hereditary Pancreatitis Study Group, *Med. Clin. North Am.*, 84(3), 565-573.
- [127] Raimondi, S., Lowenfels, A.B., Morselli-Labate, A.M., Maisonneuve, P., Pezzilli, R., 2010, Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection, *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 24(3), 349-358.
- [128] De Braud, F., Cascinu, S., Gatta, G., 2004, Cancer of pancreas, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 50(2), 147–155.
- [129] McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R.C., Jones, C., Coleman, H.G., McCain, R.S., 2018, Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes, *World Journal of Gastroenterology*, 24(43), 4846-4861.
- [130] Hezel, A.F., Kimmelman, A.C., Stanger, B.Z., Bardeesy, N., Depinho, R.A., 2006, Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma, *Genes and Development*, 20(10), 1218-1249.
- [131] Goral, V., 2015, Pancreatic Cancer: Pathogenesis and Diagnosis, *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 16(14), 5619–5624.
- [132] Smith, J.K., Chu, Q.D., Tseng, J.F., 2015, *Pancreatic Adenocarcinoma*, Surgical Oncology: A Practical and Comprehensive Approach, Chu, Q.D., (ed.), NY: Springer New York, 283–313.
- [133] Mateos, R.S., 2016, Pancreatic cancer, *Surgery*, 34(6), 282–291.
- [134] Grant, T.J., Hua, K., Singh, A., 2016, Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer,

Prog Mol Biol Transl Sci., 144, 241-275.

- [135] Dunne, R.F., and Hezel, A.F., 2015, Genetics and Biology of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 29(4), 595–608.
- [136] Kanellou, P., Zaravinos, A., Zioga, M., Spandidos, D.A., 2009, Deregulation of the tumour suppressor genes p14 ARF , p15 INK4b , p16 INK4a and p53 in basal cell carcinoma, *Br. J. Dermatol.*, 160(6), 1215–1221.
- [137] Huang, Y., 2003, Enhanced tumor suppression by a p14ARF/p53 bicistronic adenovirus through increased p53 protein translation and stability, *Cancer Res.*, 63(16), 5171.
- [138] Bardeesy, N., Aguirre, A.J., Chu, G.C., Cheng, K.H., Lopez, L.V., Hezel, A.F., Feng, B., Brennan, C., Weissleder, R., Mahmood, U., Hanahan, D., Redston, M.S., Chin, L., Depinho, R.A., 2006, Both p16 Ink4a and the p19 Arf-p53 pathway constrain progression of pancreatic adenocarcinoma in the mouse, *Proc Natl Acad Sci*, 103(15), 5947-5952.
- [139] Aguirre, A.J., Bardeesy, N., Sinha, M., Lopez, L., Tuveson, D.A., Horner, J., Redston, M.S., DePinho, R.A., Activated Kras and Ink4a/Arf deficiency cooperate to produce metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma, *Genes Dev.*, 17(24), 3112-3126.
- [140] Maitra, A., Adsay, N.V., Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., De Marzo, A., Cameron, J.L., Yeo, C.J., Hruban, R.H., 2003, Multicomponent Analysis of the Pancreatic Adenocarcinoma Progression Model Using a Pancreatic Intraepithelial Neoplasia Tissue Microarray, *Mod Pathol.*, 16(9), 902-912.
- [141] Morton, J.P., Timpson, P., Karim, S.A., Ridgway, R.A., Athineos, D., Doyle, B., Jamieson, N.B., Oien, K.A., Lowy, A.M., Brunton, V.G., Frame, M.C., Evans, T.R., Sansom, O.J., 2010, Mutant p53 drives metastasis and overcomes growth arrest/senescence in pancreatic cancer, *Proc Natl Acad Sci*, 107(1), 246-251.
- [142] Wörmann, S.M., Song, L., Ai, J., Diakopoulos, K.N., Kurkowski, M.U., Görgülü, K., Ruess, D., Campbell, A., Doglioni, C., Jodrell, D., Neesse, A., Demir, I.E., Karpathaki, A.P., Barenboim, M., 2016, Loss of P53 Function Activates JAK2–STAT3 Signaling to Promote Pancreatic Tumor Growth, Stroma Modification, and Gemcitabine Resistance

- in Mice and Is Associated With Patient Survival, *Gastroenterology*, 151(1), 180–193.
- [143] Bardeesy, N., Cheng, K.H., Berger, J.H., Chu, G.C., Pahler, J., Olson, P., Hezel, A.F., Horner, J., Lauwers, G.Y., Hanahan, D., DePinho, R.A., 2006, Smad4 is dispensable for normal pancreas development yet critical in progression and tumor biology of pancreas cancer, *Genes Dev.*, 20(22):3130-46.
- [144] Gil, Y.R., Sánchez, P.J., Velasco, R.M., García, A.G., Lobo, V.J.S.A., 2021, Molecular alterations in pancreatic cancer: Transfer to the clinic, *Int. J. Mol. Sci.*, 22(4), 3130-3146.
- [145] Wang, F., Xia, X., Yang, C., Shen, J., Mai, J., Kim, H.C., Kirui, D., Kang, Y., Fleming, J.B., Koay, E.J., Mitra, S., Ferrari, M., Shen, H., 2018, SMAD4 Gene Mutation Renders Pancreatic Cancer Resistance to Radiotherapy through Promotion of Autophagy, *Clin Cancer Res.*, 24(13), 3176-3185.
- [146] O'Hagan, R.C., Chang, S., Maser, R.S., Mohan, R., Artandi, S.E., Chin, L., DePinho, R.A., 2002, Telomere dysfunction provokes regional amplification and deletion in cancer genomes, *Cancer Cell*, 2(2), 149–155.
- [147] Lee, T., Teng, T.Z.J., Shelat, V.G., 2020, Carbohydrate antigen 19-9 tumor marker: Past, present, and future, *World J. Gastrointest. Surg.*, 12(12), 468–490.
- [148] Kamarajah, S.K., Burns, W.R., Frankel, T.L., Cho, C.S., Nathan, H., 2017, Validation of the American Joint Commission on Cancer (AJCC) 8th Edition Staging System for Patients with Pancreatic Adenocarcinoma: A Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Analysis, *Ann. Surg. Oncol.*, 24(7), 2023–2030.
- [149] Mohammed, S., Van Buren, G., Fisher, W.E., 2014, Pancreatic cancer: Advances in treatment, *World J. Gastroenterol.*, 20(28), 9354–9360.
- [150] Basu, A., 2018, DNA Damage, Mutagenesis and Cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, 19(4), 970.
- [151] Chatterjee, N., and Walker, G.J., 2017, Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis, *Environ. Mol. Mutagen.*, 58(5), 235–263.
- [152] Alhmoud, J.F., Woolley, J.F., Al Moustafa, A.E., Malki, M.I., 2020, DNA damage/repair management in cancers, *Cancers (Basel)*, 12(4), 1050.

- [153] Whitaker, A.M., Schaich, M.A., Smith, M.S., Flynn, T.S., Freudenthal, B.D., 2017, Base excision repair of oxidative DNA damage from mechanism to disease, *Front. Biosci.*, 22(9), 1493–1522.
- [154] Dizdaroglu, M., 2012, Oxidatively induced DNA damage: Mechanisms, repair and disease, *Cancer Letters*, 327(1–2), 26–47.
- [155] Cadet, J., Davies, K.J.A., Medeiros, M.H., Di Mascio, P., Wagner, J.R., 2017, Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA, *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 13–34.
- [156] Kasai, H., and Nishimura, S., 1984, Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents, *Nucleic Acids Res.*, 12(4), 2137–2145.
- [157] Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M.S., 2004, Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance, *Mutation Research*, 567(1), 1–61.
- [158] Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, C., 2009, 2009, 8-Hydroxy-2' - deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis, *J. Environ. Sci. Heal.*, 27(2), 120–139.
- [159] Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J., 2003, Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease, *FASEB J.*, 17(10), 1195–1214.
- [160] Kasai, H., 1997, Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis, *Mutat. Res.*, 387(3), 147–163.
- [161] Zhang, Y., Yuan, F., Wu, X., Taylor, J.S., Wang, Z., 2001, Response of human DNA polymerase ι to DNA lesions, *Nucleic Acids Res.*, 29(4), 928–935.
- [162] Oda, Y., Uesugi, S., Ikehara, M., Nishimura, S., Kawase, Y., Ishikawa, H., Inoue, H., Ohtsuka, E., 1991, NMR studies of a DNA containing 8-hydroxydeoxyguanosine, *Nucleic Acids Res.*, 19(7), 1407–1412.
- [163] Dizdaroglu, M., 2015, Oxidatively induced DNA damage and its repair in cancer, *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.*, 763, 212–245.

- [164] Chernikov, A.V., Gudkov, S.V., Usacheva, A.M, Bruskov, V.I., 2017, Exogenous 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine: Biomedical properties, mechanisms of action, and therapeutic potential, *Biochemistry (Moscow)*, 82(13), 1686–1701.
- [165] Wolters, S., and Schumacher, B., 2013, Genome maintenance and transcription integrity in aging and disease, *Front. Genet.*, 4(19).
- [166] Broustas, C.G., and Lieberman, H.B., 2014, DNA damage response genes and the development of cancer metastasis, *Radiat. Res.*, 181(2), 111–130.
- [167] Grundy, G.J., and Parsons, J.L., 2020, Base excision repair and its implications to cancer therapy, *Essays Biochem.*, 64(5), 831–843.
- [168] Maynard, S., Schurman, S.H., Harboe, C., de Souza-Pinto, N.C., Bohr, V.A., 2009, Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging, *Carcinogenesis*, 30(1), 2–10.
- [169] Fortini, P., Parlanti, E., Sidorkina, O.M., Laval, J., Dogliotti, E., 1999, The type of DNA glycosylase determines the base excision repair pathway in mammalian cells, *J. Biol. Chem.*, 274(21), 15230–15236.
- [170] Klungland, A., and Lindahl, T., 1997, Second pathway for completion of human DNA base excision-repair: reconstitution with purified proteins and requirement for DNase IV (FEN1), *EMBO J.*, 16(11), 3341–3348.
- [171] Poletto, M., Legrand, A.J., Fletcher, S.J., Dianov, G.L., 2016, p53 coordinates base excision repair to prevent genomic instability, *Nucleic Acids Res.*, 44(79), 3165–3175.
- [172] Lang, T., Maitra, M., Starcevic, D., Li, S.X., Sweasy, J.B., 2004, A DNA polymerase beta mutant from colon cancer cells induces mutations, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 101(16), 6074–6079.
- [173] Wang, L.J., Wang, H.T., Wang, X.X., 2016, Association of XRCC1 gene polymorphisms and pancreatic cancer risk in a Chinese population, *Genet Mol Res.*, 15(2).
- [174] Sanjari Moghaddam, A., Nazarzadeh, M., Noroozi, R., Darvish, H., Mosavi Jarrahi, A.,

- 2016, XRCC1 and OGG1 Gene Polymorphisms and Breast Cancer: A Systematic Review of Literature, *Iran. J. cancer Prev.*, 9(1), e3467.
- [175] Xu, T., Nie, Y., Bai, J., Li, L., Yang, B., Zheng, G., Zhang, J., Yu, J., Cheng, X., Jiao, J., Jing, H., 2016, Suppression of human 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) augments ultrasound-induced apoptosis in cervical cancer cells, *Ultrasonics*, 72, 1–14.
- [176] Boiteux, S., Coste, F., Castaing, B., 2017, Repair of 8-oxo-7,8-dihydroguanine in prokaryotic and eukaryotic cells: Properties and biological roles of the Fpg and OGG1 DNA N-glycosylases, *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 179–201.
- [177] Boiteux, S., and Radicella, J.P., 2000, The human OGG1 gene: Structure, functions, and its implication in the process of carcinogenesis, *Arch. Biochem. Biophys.*, 377(1), 1–8.
- [178] Hagiwara, A., Kitajima, Y., Sato, S., Miyazaki, K., 2005, Allelic loss of the DNA repair gene OGG1 against oxidative damage in esophageal squamous cell carcinoma, *Oncol. Rep.*, 13(6), 1009–1016.
- [179] Ide, H., and Kotera, M., 2004, Human DNA glycosylases involved in the repair of oxidatively damaged DNA, *Biol. Pharm. Bull.*, 27(4), 480–485.
- [180] Nishioka, K., Ohtsubo, T., Oda, H., Fujiwara, T., Kang, D., Sugimachi, K., Nakabeppu, Y., 1999, Expression and differential intracellular localization of two major forms of human 8-oxoguanine DNA glycosylase encoded by alternatively spliced OGG1 mRNAs, *Mol. Biol. Cell*, 10(5), 1637–1652.
- [181] Corella, D., Ramírez-Sabio, J.B., Coltell, O., Ortega-Azorín, C., Estruch, R., Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Sorlí, J.V., Castañer, O., Arós, F., Garcia-Corte, F.J., Serra-Majem, L., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Pintó, X., Saez, G.T., Toledo, E., Basora, J., Fitó, M., Cofán, M., Ros, E., Ordovas, J.M., 2018, Effects of the Ser326Cys Polymorphism in the DNA Repair OGG1 Gene on Cancer, Cardiovascular, and All-Cause Mortality in the PREDIMED Study: Modulation by Diet, *J. Acad. Nutr. Diet.*, 118(4), 589–605.
- [182] Li, D., Li, Y., Jiao, L., Chang, D.Z., Beinart, G., Wolff, R.A., Evans, D.B., Hassan, M.M., Abbruzzese, J.L., 2007, Effects of base excision repair gene polymorphisms on

- pancreatic cancer survival, *Int. J. cancer*, 120(8), 1748–1754.
- [183] Waddington, C.H., 1959, Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters, *Nature*, 183(4676), 1654–1655.
- [184] Nebbioso, A., Tambaro, F.P., Dell'Aversana, C., Altucci, D.L., 2018, Cancer epigenetics: Moving forward, *PLoS Genet.*, 14(6), e1007362.
- [185] Tammen, S.A., Friso, S., Choi, S.W., Mayer, J., Choi, S.W., 2013, Epigenetics: the link between nature and nurture, *Mol Asp. Med*, 34(4), 753–764.
- [186] Fraga, M.F., Ballestar, E., Paz, M.F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M.L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J.C., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, T.D., Wu, Y.Z., Plass, C., Esteller, M., 2005, Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102(30), 10604–10609.
- [187] Kulis, M., and Esteller, M., 2010, DNA Methylation and Cancer, *Adv Genet.*, 70, 27-56.
- [188] Gokul, G., and Khosla, S., 2013, DNA methylation and cancer, *Subcell. Biochem.*, 61, 597–625.
- [189] Dawson, M.A., and Kouzarides, T., 2012, Cancer epigenetics: from mechanism to therapy, *Cell*, 150(1), 12–27.
- [190] Lister, R., Pelizzola, M., Dowen, R.H., Hawkins, R.D., Hon, G., Tonti-Filippini, J., Nery, J.R., Lee, L., Ye, Z., Ngo, Q.M., Edsall, L., Antosiewicz-Bourget, J., Stewart, R., Ruotti, V., Millar, A.H., Thomson, J.A., Ren, B., Ecker, J.R., 2009, Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences, *Nature*, 462(7271), 315–322.
- [191] Das, P.M., and Singal, R., 2004, DNA methylation and cancer, *J. Clin. Oncol.*, 22(22), 4632–4642.
- [192] Greger, V., Passarge, E., Höpping, W., Messmer, E., Horsthemke, B., 1989, Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma, *Hum. Genet.*, 83(2), 155–158.

- [193] Tsou, A.J., Hagen, J.A., Carpenter, C.L., Laird-Offringa, I.A., 2002, DNA methylation analysis: a powerful new tool for lung cancer diagnosis, *Oncogene*, 21(35), 5450–5461.
- [194] Yang, X., Yan, L., Davidson, N.E., 2001, DNA methylation in breast cancer, *Endocr. Relat. Cancer*, 8(2), 115–127.
- [195] Toyota, M., Kopecky, K.J., Toyota, M.O., Jair, K.W., Willman, C.L., Issa, J.P.J., 2001, Methylation profiling in acute myeloid leukemia, *Blood*, 97(9), 2823–2829.
- [196] Lin, C.H., Hsieh, S.Y., Sheen, I.S., Lee, W.C., Chen, T.C., Shyu, W.C., Liaw, Y.F., 2001, Genome-wide hypomethylation in hepatocellular carcinogenesis, *Cancer Res.*, 61(10), 4238–4243.
- [197] Kim, Y.I., Giuliano, A., Hatch, K.D., Schneider, A., Nour, M.A., Dallal, G.E., Selhub, J., Mason, J.B., 1994, Global DNA hypomethylation increases progressively in cervical dysplasia and carcinoma, *Cancer*, 74(3), 893–899.
- [198] Cho, N.Y., Kim, B.H., Choi, M., Yoo, E.J., Moon, K.C., Cho, Y.M., Kim, D., Kang, G.H., 2007, Hypermethylation of CpG island loci and hypomethylation of LINE-1 and Alu repeats in prostate adenocarcinoma and their relationship to clinicopathological features, *J. Pathol.*, 211(3), 269–277.
- [199] Ehrlich, M., 2002, DNA methylation in cancer: too much, but also too little, *Oncogene*, 21(35), 5400–5413.
- [200] Neureiter, D., Jäger, T., Ocker, M., Kiesslich, T., 2014, Epigenetics and pancreatic cancer: Pathophysiology and novel treatment aspects, *World J. Gastroenterol.*, 20(24), 7830–7848.
- [201] Sato, N., Fukushima, N., Maitra, A., Matsubayashi, H., Yeo, C.J., Cameron, J.L., Hruban, R.H., Goggins, M., 2003, Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays, *Cancer Res.*, 63(13), 3735–3742.
- [202] Ciernikova, S., Earl, J., Bermejo, M.L.G., Stevurkova, V., Carrato, A., Smolkova, B., 2020, Epigenetic landscape in pancreatic ductal adenocarcinoma: On the way to overcoming drug resistance?, *Int. J. Mol. Sci.*, 21(11), 11–17.

- [203] Kuroki, T., Tajima, Y., Kanematsu, T., 2004, Role of hypermethylation on carcinogenesis in the pancreas, *Surgery Today*, 34(12), 981–986.
- [204] Song, Y., Washington, M.K., Crawford, H.C., 2010, Loss of FOXA1/2 is essential for the epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic cancer, *Cancer Res.*, 70(5), 2115–2125.
- [205] Frommer, M., McDonald, L.E., Millar, D.S., Collis, C.M., Watt, F., Grigg, G.W., Molloy, P.L., Paul, C.L., 1992, A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89(5), 1827–1831.
- [206] Remmele, W., Schickelanz, K.H., 1993, Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptor content in human breast cancer. Computer-assisted image analysis (QIC score) vs. subjective grading (IRS), *Pathol. Res. Pract.*, 189(8), 862–866.
- [207] Li, C., Xue, Y., Ba, X., Wang, R., 2022, The Role of 8-oxoG Repair Systems in Tumorigenesis and Cancer Therapy, *Cells*, 11(23), 3798.
- [208] Nakao, M., Hosono, S., Ito, H., Watanabe, M., Mizuno, N., Sato, S., Yatabe, Y., Yamao, K., Ueda, R., Tajima, K., Tanaka, H., Matsuo, K., 2012, Selected polymorphisms of base excision repair genes and pancreatic cancer risk in Japanese, *J. Epidemiol.*, 22(6), 477–483.
- [209] Yan, Y., Chen, X., Li, T., Li, M., 2013, Association of OGG1 Ser326Cys polymorphism and pancreatic cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis, *Tumour Biol.*, 35(3), 2397–2402.
- [210] Liu, C., Huang, H., Wang, C., Kong, Y., Zhang, H., Zhang, H., 2014, Association between OGG1 gene single nucleotide polymorphisms and risk of pancreatic cancer in Chinese, *Med. Oncol.*, 31(7), 40.
- [211] Zhao, Z.M., Li, C.G., Hu, M.G., Zhao, G.D., Liu, R., 2014, Association of c.461G>A genetic variant of OGG1 gene with pancreatic cancer susceptibility in Chinese, *Genet. Mol. Res.*, 13(3), 7256–7261.

- [212] Inokuchi, S., Itoh, S., Yoshizumi, T., Yugawa, K., Yoshiya, S., Toshima, T., Takeishi, K., Iguchi, T., Sanefuji, K., Harada, N., Sugimachi, K., Ikegami, T., Kohashi, K., Taguchi, K., Yonemasu, H., Fukuzawa, K., Oda, Y., Mori, M., 2020, Mitochondrial expression of the DNA repair enzyme OGG1 improves the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma, *Pancreatology*, 20(6), 1175–1182.
- [213] Mishra, N.K., Southekal, S., Guda, C., 2019, Survival analysis of multi-omics data identifies potential prognostic markers of pancreatic ductal adenocarcinoma, *Front. Genet.*, 10, 624.
- [214] Mok, Y., Son, D.K., Yun, Y.D., Jee, S.H., Samet, J.M., 2016, γ -Glutamyltransferase and cancer risk: The Korean cancer prevention study, *Int. J. cancer*, 138(2), 311–319.
- [215] Engelken, F.J.F., Bettschart, V., Rahman, M.Q., Parks, R.W., Garden, O.J., 2003, Prognostic factors in the palliation of pancreatic cancer, *Eur. J. Surg. Oncol.*, 29(4), 368–373.
- [216] Xiao, Y., Lu, J., Chang, W., Chen, Y., Li, X., Li, D., Xu, C., Yang, H., 2019, Dynamic serum alkaline phosphatase is an indicator of overall survival in pancreatic cancer, *BMC Cancer*, 19(1), 785.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PANKREAS KANSERLİ HASTALARDA OGG1 EKSPRESYONU ve PROMOTÖR METİLASYONUNUN SAĞ KALIM SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 17	% 15	% 3	% 6
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	acikerisim.iku.edu.tr İnternet Kaynağı	% 3
3	yonetim.citius.technology İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
5	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
6	guncel.tgv.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	acikerisim.medipol.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- ☒ Etik Kurul izni gerekmektedir.
- ☐ Etik Kurul izni gerekmemektedir.

Çağlayan AKKAYA ENGİN
(İmza)

XXXXXXXXXX

KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Çağlayan AKKAYA ENGİN
(İmza)

XXXXXX