

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



İNSAN PANKREAS KANSERİNİN BİYİNFORMATİK
ARAÇLAR İLE GENOM BOYU İFADE ANALİZİ

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

Doktora Tezi

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2022

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

İNSAN PANKREAS KANSERİNİN BİYOİNFORMATİK ARAÇLAR İLE GENOM BOYU İFADE ANALİZİ

Tez Yazarı

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

Danışman

Doç. Dr. Abdullah ASLAN

TEMMUZ 2022

ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Başlığı: İnsan Pankreas Kanserinin Biyoinformatik Araçlar İle Genom Boyu İfade Analizi

Yazarı: Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

İlk Teslim Tarihi: 06.06.2022

Savunma Tarihi: 04.07.2022

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Danışman:	Doç. Dr. Abdullah ASLAN Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	<i>İmza</i> Onayladım
Başkan:	Prof.Dr.Fikret KARATAŞ Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Prof.Dr.İrfan EMRE Fırat Üniversitesi, Eğitim Fakültesi	Onayladım
Üye:	Doç.Dr.Fethi Ahmet ÖZDEMİR Bingöl Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Dr. Öğr.Üyesi Ramazan GÜNDOĞDU Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza
Prof. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “ İnsan Pankreas Kanserinin Biyoinformatik Araçlar İle Genom Boyu İfade Analizi ” Başlıklı Doktora Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

04.07.2022

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ



ÖNSÖZ

Heterojen bir malignite olan pankreas kanserinde tümör ve kan dokusunun genom boyu gen ifade profilinin çıkarılması ile hastalığın ortaya çıkış ve ilerleme sürecinde rol oynayan moleküler mekanizmalar belirlenebilir. Belirlenen bu moleküler mekanizmaların, bu hastalık için risk analizi yapılmasında, erken evrede teşhis edilmesinde, prognozunun değerlendirilmesinde ve tümörün moleküler alttıplerinin belirlenmesinde kullanılıp kullanılamayacağı bu tez çalışmasının temel sorusudur.

Tez çalışmam boyunca bana emeğini esirgemeyen danışmanım Doç.Dr. Abdullah ASLAN'a çok teşekkür ederim. Tez çalışmam ve doktora eğitimim sırasında bana her zaman yol gösteren, iyi bir akademisyen olmam yolunda beni yönlendiren ve sabırla destekleyen kıymetli eşim Doç.Dr.Semih DALKILIÇ'a teşekkür ederim.

Saygıdeğer Tez İzleme Komitesi üyelerim Sayın Prof. Dr. Fikret KARATAŞ'a, Sayın Prof. Dr. İrfan EMRE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar imkanını sonuna kadar sunan Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı Prof.Dr. Mustafa KAPLAN'a, Sayın Doç.Dr. Ahmet ERENŞOY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Her koşulda yanımda olan sevgili arkadaşım Arş.Gör. Dr. Sefa MÜLAYİM'e çok teşekkür ederim.

Bütün tez çalışmam boyunca çocuklarımın ve benim üzerinden emeğini, sevgisini, fedakarlığını hiç esirgemeyen sevgili annem Münevver KADIOĞLU'na ve şu hayatta erken yitirdiğim babam Mehmet Hayri KADIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Gerek gece gündüz, hafta sonu demeden benimle laboratuvara gelip orada beni bekleyen gerekse evde tek başlarına kalıp anne babasının sabırla bekleyen çocuklarım; Tuna ve Mısra Nil DALKILIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından **FF.21.04** protokol numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmalar Girişimsel Olmayan Etik Kurulunun 22/11/2018 tarih ve 19 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir. FÜBAP'a çok teşekkür ederiz.

Fırat Üniversitesi rektörü Sayın Prof. Dr. Fahrettin GÖKTAŞ'a ve Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü müdürü Sayın Doç. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ'a ve Fen Bilimleri Enstitüsü'nün değerli çalışanlarına teşekkür ederim.Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK) 100/2000 Doktora Burs Projesi'nin Fırat Üniversitesi'ne gelmesine öncülük eden rektör yardımcımız Sayın Prof. Dr. Soner ÖZGEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim sürecinde bana sağlamış olduğu YÖK 100/2000 doktora bursu imkânlarından dolayı Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK)'na teşekkürü bir borç bilirim. Doktora tezimi 2211-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkürü bir borç bilirim...

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

ELAZIĞ, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ	xvi
EKLER LİSTESİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xix
1. GİRİŞ	1
2. KANSER	3
2.1. Kanser Tarihçesi.....	4
2.2. Kanser Epidemiyolojisi	5
2.2.1. Coğrafi Dağılımı	5
2.2.2. Cinsiyet	5
2.2.3. Yaş	7
2.2.4. Sosyoekonomik Durum	7
2.2.5. Meslek	7
2.2.6. Alkol Tüketimi	8
2.2.7. Ultraviyole Işınlara Maruz Kalma.....	8
2.2.8. Enfeksiyonlar	9
2.3. Dünyada Kanser Yüğü.....	10
2.4. Kanser Görölme Sıklığı	11
2.5. Kanser Tedavilerinde Kullanılan Yöntemler	12
2.6. Kanser Oluşumundaki Risk Faktörleri	12
2.7. Kanser Belirtileri	13
2.8. Kanser Tipleri	13
2.9. Kanser Ölümleri	13
2.10. Hücre Döngüsü	14
2.10.1. G0 Fazı	14
2.10.2. G1 Fazı	14
2.10.3. S Evresi	15
2.10.4. G2 evresi	15
2.10.5. M evresi.....	15
2.11. Hücre Bölünmesinin Regülasyonu	15
2.12. Kanser Moleküler Biyolojisi	16
2.12.1. Tümör Baskılayıcı Genler	18
2.12.2. P53 Tümör Baskılayıcı Gen	18
2.12.3. CDKN2A veya P16 Tümör Baskılayıcı Gen	18
2.12.4. SMAD4 Tümör Baskılayıcı Gen	18
2.12.5. Fragil Histidin Triad Geni (FHIT).....	18
2.13. Apoptozis (Programlanmış Hücre Ölümü)	19
2.13.1. Ekstrinsik Yolak.....	20

2.13.2. İntersik Yolak	21
2.14. Nekrozis.....	21
2.15. Anjiyogenez.....	22
2.16. Otofaji.....	23
2.17. Karsinogenezis	24
2.18. Epigenetik değişiklikler.....	26
2.18.1. DNA Metilasyonu	26
2.18.2. Histon Asetilasyonu	27
2.19. Pankreatik Duktal Adenokarsinomunun Makroskopik ve Mikroskopik Özellikleri	27
2.19.1. Pankreasın Anatomik Yapısı.....	27
2.19.2. Pankreas Kanserin Epidemiyolojisi.....	28
2.19.3. Pankreas Kanserin Oluşumundaki Faktörler	29
2.19.4. Peutz–Jeghers Sendromu.....	29
2.19.5. Ailesel Pankreas Kanseri.....	29
2.19.6. Kalıtsal Pankreatit	30
2.19.7. p16-Leiden mutasyonları.....	30
2.20. Pankreas Kanseri Tipleri	30
2.21. Pankreas Kanserin Görölme Sıklığı.....	30
2.21.1. Pankreas Kanserin İnsidansı.....	31
2.21.2. Pankreas Kanserin Bölgelere Göre İnsidansı	31
2.21.3. Cinsiyete göre dağılımı	32
2.22. Pankreas Kanserin Semptomları.....	33
2.23. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri	33
2.24. Pankreas Kanserin Evreleri	34
2.25. Pankreas Kanserin Teşhisinde Kullanılan Yöntemler	35
2.26. Pankreas Kanserin Tedavisinde Kullanılan Yöntemler	36
2.26.1. Palyatif Bakım.....	37
2.26.2. Kemoterapi.....	37
2.26.3. Metastatik Evrede Kemoterapi	38
2.26.4. Radyo Terapi.....	38
2.26.5. Cerrahi Yöntem	38
2.26.6. Neoadjuvan Tedavi	38
2.26.7. İmmünoterapi	38
2.27. Pankreas Kanserin Mortalitesi.....	38
2.28. Pankreas Kanseri ile İlişkilendirilmiş Genler	39
2.29. Tezin Amacı	40
3. MATERYAL VE METOD	42
3.1. Verilerin Toplanması.....	42
3.2. Biyoinformatik Analizlerin Yapılması	43
3.3. Preprocessing (Önişleme).....	44
3.4. Varyans Filtreleme, Karşılaştırma ve Farklı İfade Edilen Genlerin Belirlenmesi	44
3.5. Farklı İfade Edilen Genlerin Zenginleştirilmesi (DAVID).....	45
3.6. Çalışmada Kullanılacak Materyaller	45
3.7. Kimyasallar ve Kitler.....	46
3.8. Çalışmanın Dizaynı	47
3.9. Total RNA'nın İzolasyonu	48
3.10. Kandan RNA İzolasyon Protokolü	48

3.10.1. FFPE Dokudan RNA İzolasyonu	49
3.10.2. İzole Edilen RNA'ların Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	50
3.10.4. AgaroZ Jelin Hazırlanışı	51
3.10.5. RNA Yükleme ve Elektroforez	51
3.11. cDNA Sentezi	51
3.12. Gen Ekspresyonu	52
3.13. İstatiksel analiz	55
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	56
4.1. GSE49641 Veri Setinin Biyoinformatik Analizleri	56
4.2. GSE62452 veri setinin biyoinformatik analizleri	67
4.3. GSE15471 Veri Setinin Biyoinformatik Analizleri	77
4.4. Kandan İzolasyonu Yapılan RNA'ların Kalite Kontrolü	89
4.5. RNA İzolasyonu Yapılan Hasta Ve Kontrol Grubu Kanlarının Görüntü Ve Kalitesinin Değerlendirilmesi	89
4.6. Pankreas Kanseri Hastalarının Evrelere Göre Hasta Sayıları	91
4.7. Örnekleri Toplanan Pankreas Kanseri Hastalarının Yaşlara Göre Dağılımı	91
4.8. RNA İzolasyonu Yapılan Hasta ve Kontrol Grubu FFPE Dokularının Görüntü Ve Kalitesinin Değerlendirilmesi	92
4.9. Farklı İfade Edilen Genlerin QRT-PCR İle Tespit Edilen Ekspresyon Düzeyleri	95
4.10. GSE36076 Veri Setinin Analiz Sonuçları	118
5. SONUÇLAR	135
5.1. ÖNERİLER	136
KAYNAKLAR	137
EKLER	154
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

İnsan Pankreas Kanserinin Biyoinformatik Araçlar İle Genom Boyu İfade Analizi

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

Doktora Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz 2022, Sayfa: xx + 153

Pankreas kanseri, tanısı ve tedavisi oldukça zor olan, yüksek derecede metastatik özellikte olup oldukça kötü prognozlu ve sağkalım oranı düşük bir malignitedir. Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC), pankreas kanserleri içinde en sık görülen tip olup oldukça kötü prognoza sahip bir kanserdir. Bir yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %18'dir. Hastalık, erken dönemde belirti vermediği için teşhis edildiğinde genellikle 3. veya 4. evrede olmaktadır. Erken teşhisin çok önemli olduğu bu tür patolojilerde, hastalık teşhisinden kısa süre sonra (6-12 ay) hasta kaybedilmektedir. Bu durumun en önemli sebebi, pankreas kanserinin erken teşhisinde kullanılabilecek invazif olmayan moleküler biyobelirteçler (genler) tespit edilememiş olması bundan dolayı da hastalığın genellikle ileri veya metastatik safhada tespit edilebilmesidir. Bu anlamda, pankreas kanseri tanısı konulmuş hastaların sadece %20 'si cerrahi rezeksiyon için uygunluk gösterir. Çünkü teşhis esnasında hastaların çoğunda lokal ve uzak metastaz görülür.

Pankreas kanserinin teşhisinde kullanılabilecek invazif olmayan bir tarama testi yoktur. Pankreas kanserinde CA 19-9, P53, K-ras ve mikro RNA'lar en sık incelenmiş ve pankreas kanseri ile ilişkilendirilmiş tümör markerlarıdır. Tanıda en çok tercih edilen CA 19-9 serum markıdır. Ancak bu belirtecin pankreas kanserine spesifitesi ve hassasiyeti şüphelidir. Serum karbohidrat antijeni CA 19-9 (CA 19-9) tümör ilişkili bir antijen olup, Lewis a-antijeni olarak da bilinir. CA 19-9 normal şartlarda pankreas, safra kanalı hücreleri, mide, kolon, endometrium, tükrük bezleri ve bronşiyal epitelyum hücrelerinden salgılanır. CA 19-9, pankreas kanseri tanısında en yaygın olarak kullanılan tümör markerıdır. CA 19-9, sadece pankreas adenokarsinomları için spesifik olmayıp gastrointestinal sistemin de neden olduğu birçok tümörde de yükselebilir. Aynı zamanda CA 19-9'un kan grubu antijenleri ile de ilişkisi vardır. CA 19-9 sentezi genotip olarak Lewis a-b- olan kişilerde, oluşmaz. Bu nedenle bu hasta grubu yanlış sonuçlarla değerlendirilebilir. Son yıllarda yeni tümör markerları üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Hücre çoğalması ve büyümesinde oluşan genetik değişikliklerin kanser gelişimindeki etkisi bilinmektedir. Onkogenlerin fonksiyonu, uyarılmasındaki artışı, tümör baskılayıcı genlerin inhibe olması, DNA tamir mekanizmalarında meydana gelen değişimler ve apoptozdan sorumlu genlerdeki bozukluklar kanserin temel moleküler patolojisinden sorumludur. Diğer bir belirteç olan K-ras ise bir guanin nükleotid bağlanma proteini olarak büyüme faktörü sinyal iletiminde görev alır. Bu fonksiyonu ile hücre çoğalması artar ve apoptoza karşı direnç gelişir. K-ras insan kanserleri içerisinde en sık tespit edilen mutasyona uğramış onkogendir. Pankreatik duktal orijinli kanserlerin yaklaşık %90'ında K-ras onkogeninde mutasyon tespit edilir ve karsinogenezin özellikle ilk evrelerinde önem kazanır. K-ras mutasyonu sadece pankreas doku hücrelerinde değil, pankreatik sıvıda duodenal fırça biopsilerinde, kan ve gaita örneklerinde tespit edilebilir.

Günümüzde pankreas kanserinin tanısında; Ultrason, EUS, CT, ERCP, MR ve ince iğne aspirasyonu kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler, hastalığın erken teşhisi için bir ipucu vermemektedir.

Yaptığımız çalışmada öncelikle NCBI GEO DataSet veri bankasında bulunan transkriptom ham verileri kullanarak in siliko analizler yapılmıştır. Bu analizlerde Pankreas kanseri ile normal doku ve kan örneklerinin ifade profilleri karşılaştırılmış ve bu iki grup arasında ifade düzeyi farklılık gösteren genler belirlenmiştir. Farklı veri setlerinden gelen bu gen listeleri kullanılarak Gene Set Enrichment Analysis, Hierarchical Cluster Analizleri ve Yolak Analizleri yapılmıştır. Bu biyoinformatik analizler sonucunda belirlenen aday gen listesinde bulunan genlerin validasyonu ise pankreas kanseri hastaların hem kan hem de tümör doku örnekleri kullanılarak QRT-PCR ile valide edilmiştir. Bu şekilde hem pankreas kanserinin oluşumunda hem de prognoz sürecinde rol oynayan moleküler mekanizmalar hakkında bilgi edinilmekte hem de pankreas kanserinin moleküler alt tipleri hakkında önemli veriler elde edilebilmektedir. Bu çalışmaların bazılarında bu kanserin 3 farklı moleküler alttipi olduğu bazılarında ise dört farklı moleküler alttipi olduğu ifade edilmiştir. Ancak bu konuda yapılan çalışmalar daha çok yeni olduğu için bu konuda yeterince veri bulunmamaktadır. Bundan dolayı gelecek açısından pankreas kanserine spesifik olan, invazif olmayan, klinik uygulamaya geçme potansiyeli yüksek doğru ve özgül olabilecek bir moleküler biyobelirtecin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pankreatik Kanser, Biyoinformatik, İfade Analizi, Genler

ABSTRACT

Genom - Wide Expression Analysis Of Human Pancreas Cancer With Bioinformatic Tools

Lütfiye KADIOĞLU DALKILIÇ

Ph.D. Thesis

FIRAT UNIVERSITY
Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology
July 2022, Pages: xx + 153

Pancreatic cancer is a highly metastatic malignancy with a very poor prognosis and low survival rate, which is difficult to diagnose and treat. Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common type of pancreatic cancer and is a cancer with a very poor prognosis. The one-year survival rate is approximately 18%. Since the disease does not show symptoms in the early period, it is usually in the 3rd or 4th stage when diagnosed. In such pathologies, where early diagnosis is very important, the patient is lost soon (6-12 months) after the diagnosis of the disease. The most important reason for this situation is that non-invasive molecular biomarkers (genes) that can be used in the early diagnosis of pancreatic cancer have not been detected, so the disease can usually be detected in the advanced or metastatic stage. In this sense, only 20% of patients diagnosed with pancreatic cancer are suitable for surgical resection. Local and distant metastases are seen in most of the patients at the time of diagnosis.

There is no non-invasive screening test that can be used to diagnose pancreatic cancer. In pancreatic cancer, CA 19-9, P53, K-ras and microRNAs are the most frequently studied and associated tumor markers with pancreatic cancer. CA 19-9 is the most preferred serum marker for diagnosis. However, the specificity and sensitivity of this marker to pancreatic cancer is questionable. Serum carbohydrate antigen CA 19-9 (CA 19-9) is a tumor-associated antigen, also known as Lewis a-antigen. CA 19-9 is normally secreted from cells of the pancreas, bile duct, stomach, colon, endometrium, salivary glands, and bronchial epithelium. CA 19-9 is the most commonly used tumor marker in the diagnosis of pancreatic cancer. CA 19-9 is not only specific for pancreatic adenocarcinomas, but may also be elevated in many tumors caused by the gastrointestinal tract. It is also associated with blood group antigens of CA 19-9. CA 19-9 synthesis does not occur in individuals with the genotype Lewis a-b-. Therefore, this patient group can be evaluated with false results. Again, CA 19-9 is not very sensitive in small pancreatic tumors. In recent years, studies on new tumor markers have been carried out. The effect of genetic changes in cell proliferation and growth on the development of cancer is known. The function of oncogenes, increase in their stimulation, inhibition of tumor suppressor genes, changes in DNA repair mechanisms and defects in genes responsible for apoptosis are responsible for the basic molecular pathology of cancer. Another marker, K-ras, as a guanine nucleotide binding protein, takes part in growth factor signal transduction. With this function, cell proliferation increases and resistance to apoptosis develops. K-ras is the most frequently detected mutated oncogene in human cancers. Mutations in the K-ras oncogene are detected in approximately 90% of cancers of pancreatic ductal origin, and it becomes important especially in the early stages of carcinogenesis. K-ras mutation can be detected not only in pancreatic tissue cells, but also in pancreatic fluid, duodenal brush biopsies, blood and stool samples. As the cellular type increases, the K-ras oncogene mutation rate also increases.

Today, in the diagnosis of pancreatic cancer; Ultrasound, EUS, CT, ERCP, MR and fine needle aspiration are used. However, these methods do not give a clue for early diagnosis of the disease.

In our study, in silico analyzes were performed using the raw transcriptome data in the NCBI GEO DataSet database. In these analyzes, the expression profiles of pancreatic cancer and normal tissue and blood samples were compared, and genes with different expression levels were determined between these two groups. Gene Set Enrichment Analysis, Hierarchical Cluster Analysis and Pathway Analysis were performed using these gene lists which obtained from different datasets. The validation of the genes in the determined candidate gene list as a result of these bioinformatics analyzes was validated by QRT-PCR using both blood and tumor tissue samples of pancreatic cancer patients. In this way, information about the molecular mechanisms that play a role in both the formation of pancreatic cancer and the prognosis process can be obtained, and important data can be obtained about the molecular subtypes of pancreatic cancer.

Recently, intensive studies have been carried out to determine the molecular subtypes of pancreatic cancer. In some of these studies, it was stated that this cancer has 3 different molecular subtypes, and in some, it has four different molecular subtypes. However, since the studies on this subject are relatively new, there is not enough data on this subject. Therefore, for the future, it is of great importance to develop a non-invasive, accurate and specific molecular biomarker that is specific for pancreatic cancer and has a high potential for clinical application.

Keywords: Pancreatic Cancer, Bioinformatics, Expression Analysis, Genes

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Normal hücre ve kanser hücresi	4
Şekil 2.2. 2015 verilerine göre Türkiye’de erkekler arasında görülen en yaygın 10 kanser tipi	6
Şekil 2.3. 2015 verilerine göre Türkiye’de kadınlar arasında görülen en yaygın 10 kanser tipi	6
Şekil 2.4. 2020 Verilerine göre her iki cinsiyet için dünyada yaşa göre standartize edilmiş insidans ve ölüm oranları	7
Şekil 2.5. Kadın ve erkeklerde alkol kullanımına bağlı kıtalara göre yeni kanser vaka sayısı	8
Şekil 2.6. Kıtalara göre kadın ve erkekler arasında radyasyona maruz kalmaya bağlı kanser vaka sayıları ..	9
Şekil 2.7. 2018 Dünya kanser verilerine göre enfeksiyonların sebebiyet verdiği kanserler	9
Şekil 2.8. Obeziteye bağlı olarak farklı kanser türlerinde meydana gelen artış oranları	10
Şekil 2.9. Gelişmiş ülkelere bağlı farklı kanser oranları	11
Şekil 2.11. A. Erkek B. Kadın bireylerde görülen farklı kanser türlerinin yıllara göre değişimi	12
Şekil 2.12.a. Kanser çeşitlerine göre ölüm ve sıklık oranları	13
Şekil 2.12.b. Kanser çeşitlerine göre ölüm ve sıklık oranları	14
Şekil 2.13. Hücre ölüm yolları.....	19
Şekil 2.14. Apoptozun intrinsik ve ekstrinsik yolak mekanizması	21
Şekil 2.15. Vaskülogenez ve anjiyogenez oluşumu.....	22
Şekil 2.16. A. Tümör damar oluşumu B. Normal damar oluşumu	23
Şekil 2.17. Otofaji yolları	24
Şekil 2.18. Karsinogeneze neden olan mekanizmalar.....	25
Şekil 2.19. Pankreasın anatomik yapısı	28
Şekil 2.20. Pankreas kanserinin bölgelere göre insidansı	32
Şekil 2.21. Tümör evreleme şeması	34
Şekil 2.22. Pankreas kanserinin tedavi yöntemleri	37
Şekil 2.23. Pankreas kanserinde biyobelirteç olarak rol alan genler ve bunların mutasyon sıklığı	40
Şekil 3.1. Araştırmanın deneysel akış şeması.....	48
Şekil 4.1. GSE49641 veri setinde ifadesi artan ve azalan genler.....	57
Şekil 4.2. GSE49641 veri setinin PCA ayrımı	57
Şekil 4.3. GES49641 Kanser ve kontrol grubunun (scatter plot) dağılım grafiği	58
Şekil 4.4. GSE49641 veri setinin differansiyel olarak p değişim ve kat değerine göre volcano plot grafiği	59
Şekil 4.5. GSE49641 tüm örneklerin sinyal seviyeleri.....	59
Şekil 4.6. GSE49641 diferansiyel olarak elde edilen ısı haritası	60

Şekil 4.7. GSE49641 farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımı.....	61
Şekil 4.8. PPI network analiz sonucu	66
Şekil 4.9. PPI network analiz sonucu	66
Şekil 4.10. GSE62452 yolak analizleri sonucu tespit edilen en önemli moleküler yolların listesi	69
Şekil 4.11. GSE62452 Principle component analizi sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımlarını gösteren harita	70
Şekil 4.12. GSE 62452 Kanser ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim skor dağılımını gösteren grafik	70
Şekil 4.13. Tümör ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim ve p değerinin dağılımını gösteren volcano grafiği	71
Şekil 4.14. GSE62452 Analiz sırasında kullanılan her bir örnekten gelen sinyallerin log2 değerini gösteren grafik.....	72
Şekil 4.15. GSE62452 Tümör ve normal doku karşılaştırması sonucunda farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan Unsupervised Hierarchical Cluster Analysis sonucunda elde edilen HeatMap grafiği.....	73
Şekil 4.16. GSE62452 Grup karşılaştırması sonucunda farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösteren grafik.....	73
Şekil 4.17. GSE62452 Farklı ifade edilen genlerin kat değişimi.....	74
Şekil 4.18. GSE62452 PPI Network analiz sonucu.....	77
Şekil 4.19. GSE15471 Tümör ve normal dokularda farklı ifade edilen genlerin sayıları.....	78
Şekil 4.20. Principle component analysis (PCA) sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımını gösteren harita.....	80
Şekil 4.21. GSE15471 Herbir örnekten alınan sinyali gösteren box plot	81
Şekil 4.22. GSE15471 Scatter plot	82
Şekil 4.23. GSE15471 Volcano plot.....	83
Şekil 4.24. GSE15471 Heat Map	84
Şekil 4.25. Farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösteren harita.....	85
Şekil 4.26. GSE15471 String ve Cytoscape ile yapılan PPI analizi sonucunda elde edilen Hub genleri ve Node'u gösteren harita.....	88
Şekil 4.27. Pankreas hastalarının kanından izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü.....	90
Şekil 4.28. Kontrol kanlarında izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü	90
Şekil 4.29. Pankreas kanserinin evrelere göre hasta sayıları	91
Şekil 4.30. Pankreas kanseri hasta sayılarının yaşlara göre dağılımı.....	92
Şekil 4.31. Dokudan RNA izolasyonu yapılan hasta grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri	93
Şekil 4.32. Dokudan RNA izolasyonu yapılan kontrol grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri	94
Şekil 4.33. EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	95

Şekil 4.34. EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	96
Şekil 4.35. EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	97
Şekil 4.36. EGFR geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	97
Şekil 4.37. EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	98
Şekil 4.38. EGF ve EGFR genlerinin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	98
Şekil 4.39. P53 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	99
Şekil 4.40. Bax geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	99
Şekil 4.41. Bcl2 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	100
Şekil 4.42. Bax geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	101
Şekil 4.43. Bcl2 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	102
Şekil 4.44. FOXO3 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	103
Şekil 4.45. Kaspaz8 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri..	104
Şekil 4.46. IKBKB geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	105
Şekil 4.47. KRAS geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	106
Şekil 4.48. UBE2W geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	107
Şekil 4.49. MDM4 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	108
Şekil 4.50. CXCR4 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri	109
Şekil 4.51. CXCR4 geninin tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri	110
Şekil 4.52. IRAK3 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	111
Şekil 4.53. CEACAM8 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	112
Şekil 4.54. MMP8 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	113
Şekil 4.55. HSP90B1 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	114
Şekil 4.56. HSPD1 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri.....	115
Şekil 4.57. Pankreas kanseri ve sağlıklı bireylerden alınan periferik kan örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genler	116

Şekil 4.58. Pankreas tümör dokusu ve normal pankreas dokusundan alınan FFPE örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genler.....	117
Şekil 4.59. GSE36076 Tümör ve normal periferik kan örneklerinde farklı ifade edilen genlerin sayıları .	119
Şekil 4.60. GSE36076 veri setinde Principle component analiz (PCA) sonucunda tümör ve normal kan örneklerinin dağılımını gösteren harita	120
Şekil 4.61. GSE36076 Scatter plot	121
Şekil 4.62. GSE36076 Volcano plot.....	122
Şekil 4.63. Farklı ifade edilen genler kullanılarak yapılan hiyerarşik kümeleme analizi sonucu elde edilen heatmap	123
Şekil 4.64. GSE36076 Herbir örnekten alınan sinyali gösteren box plot	124
Şekil 4.65. GSE36076 veri setinde farklı ifade edilen genlerin bulunduğu önemli yollar.....	125
Şekil 4.66. GSE36076 gen listesi üzerinden Cytoscape programı ile yapılan PPI network analizi sonucu belirlenen Hub genler.....	129

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Tümör belirteçlerin pankreas kanserinde görülme sıklığı.....	35
Tablo 2.2. Pankreas kanserindeki tanısal metodlar	36
Tablo 3.1. Pankreas kanserinde çalışılan veri setleri ve içeriği.....	42
Tablo 3.2. Kanser ve kontrol grubu arasındaki izlenecek yollar	43
Tablo 3.3. Gruplardaki örnek sayıları	45
Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan ekipmanlar.....	46
Tablo 3.5. Kullanılan kimyasallar ve kitler.....	47
Tablo 3.6. Jel elektroforezin materyalleri	51
Tablo 3.7. cDNA ters transkripsiyonunun bileşeni	52
Tablo 3.8. Termal döngü koşullarının programı	52
Tablo 3.9. QRT-PCR reaksiyon bileşenleri	53
Tablo 3.10. Kullanılan primerler ve primer dizileri	54
Tablo 3.11. Üç aşamalı termal döngü profili	54
Tablo 4.1. GSE49641 veri setindeki kontrol ve hasta sayıları	56
Tablo 4.2. GSE49641 ifadesi artan ve azalan genler	56
Tablo 4.3. PDAC ve kontrol karşılaştırması sonunda elde edilen en yüksek kat değişim skoruna sahip ifade düzeyi artan ilk 25 gen.....	61
Tablo 4.4. PDAC ve Kontrol karşılaştırması sonunda elde edilen en yüksek Fold Change skoruna sahip ifade düzeyi azalan ilk 25 gen.....	62
Tablo 4.5. Fonksiyonel annotation cluster analizi sonucu zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan ilk 5 küme	63
Tablo 4.6. DAVID Bioinformatics Tools ile yapılan yolak analizleri sonucunda gruplar arasında farklı ifade edilen genlerin bulunduğu moleküler yolların listesi	65
Tablo 4.7. GSE62452 veri setindeki kontrol ve hasta sayıları	67
Tablo 4.8. GSE62452 Normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 gen listesi	68
Tablo 4.9. GSE62452 Normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 ifadesi azalan gen listesi	68
Tablo 4.10. GSE62452 DAVID bioinformatics tool ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizi sonucunda elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan en önemli ilk 5 kümeyi ve istatistiksel analizi.....	75
Tablo 4.11. Farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan KEGG yolak analizi sonucunda elde edilen ve istatistiksel olarak en anlamlı olan moleküler yollar	76

Tablo 4.12. GSE15471 Tümör ve normal doku karşılaştırmasında elde edilen farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi artan genler.....	79
Tablo 4.13. GSE15471 Tümör ve normal doku karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi azalan genler.....	79
Tablo 4.14. DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler	86
Tablo 4.15. GSE15471 KEGG veritabanı üzerinden yapılan yolak analizleri sonucunda farklı ifade edilen gen listesinde bulunan genlerin bulunduğu moleküler yolların listesi	87
Tablo 4.16. Pankreas kanseri olan hastaların kanlarından izole edilen RNA'ların konsantrasyonları ve örneklerin cinsiyet dağılımları	89
Tablo 4.17. Dokudan izolasyonu yapılan hasta ve kontrol grubu RNA'ların konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	92
Tablo 4.18. DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler	126
Tablo 4.19. En yüksek kat değişimi gösteren ve ifade düzeyi artan ilk 25 geni içeren liste	126
Tablo 4.20. En yüksek kat değişimi gösteren ve ifade düzeyi azalan 25 geni içeren liste	127
Tablo 4.21. Yolak analizi sonucu ilgili gen listesine göre öne çıkan ilgili moleküler yollar	128

EKLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil A1.1. iBright™750, gel documentation, and analysis image system	154
Şekil A1.2. Centrifuge/ NUVE NF 800R	155
Şekil A1.3. Electrophoresis digital power supply & Agarose Gel electrophoresis system	155
Şekil A1.4. PCR/ Thermal cycle.SimpliAmp/Applied Biosystem.....	156
Şekil A1.5. Quantitative Real-Time PCR	157
Şekil A1.6. Qubit fluorometer-Concentration measurement	157
Şekil A1.7. Mini Centrifuge Spin & Multi mixer vortex	158



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

2-ΔΔCT	: 2 ^Δ (–delta delta CT)
%	: Yüzde
°C	: Santigrat
ml	: Mili Litre
μl	: Mikro Litre
μg	: Mikrogram
g	: Gram
ng	: Nanogram
rpm	: Revolutions per minute
Mm	: Mikromolar

Kısaltmalar

Bax	: Bcl-2 ile ilişkilendirilmiş protein
Bcl-2	: B hücreli lenfoma 2
bp	: Baz uzunluğu
CA	: Kanser Antijeni
cDNA	: Komplementer DNA
CD84	: Farklılaşma kümesi 84
CEACAM8	: CEA cell adhesion molecule 8
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
CXCR4	: Kemokin reseptörü
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
FFPE	: Formalin-Fixed Paraffin Embedded
FOXO3	: Forkhead box
FÜBAP	: Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi
G0	:Gap 0
G1	:Gap 1
G2	:Gap 2
GAPDH	: Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz
GEO	: Gene Expression Omnibus
GWAS	: Genome-Wide Association Analysis
H ₂ O	: Su
HSPD1	: Isı şok proteini
HSP90B	: Isı şok proteini
IKBKB	: Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta
IRAK3	: Kinaz 3 ile ilişkili interlökin 1 reseptörü
Kaspaz8	: Apoptozda rol oynayan proteaz

Kb : Kilobaz
KRAS : PDAC' ın oluşumunda rol oynayan önemli bir onkogen
MiRNA: Mikro Ribo nükleik asit
MMP8 : Matriks metalloprotein 8
mRNA : Mesajcı RNA
PCR : Polymer Chain Reaction
PC : Pankreas kanseri
PDAC : Pankreatik duktal adenokarsinom
P53 :Tümör protein 53
RNA : Ribonükleik Asit
Rpm: : Revolutions Per Minute
RT-PCR: Real Time-Polymer Chain Reaction
TBE : Tris Borate EDTA
TGF- α : Tümör Nekroz Faktörü-Alfa
TNFSF15: Tumor Necrosis Factor Superfamily-15
TÜBİTAK:Türkiye Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Kurumu
UBE2W: Ubikitin konjugasyon enzimi
WHO : Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Bugün sahip olduğumuz yüksek teknoloji ve ilerlemeler sayesinde özellikle sağlık alanında ve hastalıklar özelinde çok önemli başarılar elde etmiş bulunmaktayız. Eskiden tedavi edilemeyen veya mekanizması ve patofizyolojisi bilinmeyen pekçok hastalığın altında yatan önemli mekanizmalar çözülmüş ve tedavide çok önemli başarılar elde edilmiştir. Bilimsel ve teknolojik anlamda elde ettiğimiz bu kadar başarıya rağmen hala tam olarak anlayamadığımız, moleküler mekanizmasını ve patogenezi net bir şekilde ortaya koyamadığımız birçok hastalık da bulunmaktadır. Bu hastalıkların başında da kanser gelmektedir. Kanser multifaktöryel ve genetik bir hastalık olarak hasas bir denge üzerine kurulan sistemik organizasyonu tüm boyutlarıyla etkileyen bir patolojidir.

Kanser, dünyada yılda 10 milyondan fazla ölüme sebebiyet veren önemli bir sağlık problemidir. Günümüzde kullanılan kanser tedavilerinin ortak amacı kanserli hücreleri öldürerek bu hastalığı tedavi etmek veya hastalığın ilerlemesini durdurarak metastaz adı verilen süreci geciktirmek ve hastaların yaşam kalitesini korumaktır. Ancak kanser tedavisinde kullanılan farklı yaklaşımlar özellikle de sitotoksik aktivite gösteren kemoterapötik ajanlar, yeterli düzeyde seçici toksisiteye sahip olmadıkları için sağlıklı hücreleri de öldürmekte ve bu durum önemli yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastada ortaya çıkan bu yan etkiler nedeniyle bazı durumlarda tedaviye son verilmektedir. Bu sebeple araştırmacılar sadece kanserli hücreleri yok edebilecek, hedefe yönelik aktivite gösterebilen moleküllerin tanımlanması üzerine araştırmalar yapmaktadırlar. Tümör dokusunu oluşturan hücrelerin heterojen olması ve genomik olarak instabil olmaları da kanserin tedavisinde büyük zorluklar oluşturmaktadır [1].

Günümüzde kanserin epidemiyolojik verileri değerlendirildiğinde sağkalım oranı en düşük olan ve tedavi başarısı en düşük kanserin Pankreas kanseri olduğu görülecektir. Bunun birçok sebebi bulunmakla birlikte, son evreye kadar belirti göstermemesi, hızlı ilerlemesi ve agresif özellikte olması ve birçok ilaca direnç geliştirmesi en önemli sebeplerdir. Pankreas kanserinin histopatolojik sınıflandırmasına ilave olarak yapılan genomik analizlerde farklı moleküler profile sahip alt türlerinin olduğu da tespit edilmiştir. Bu durum da pankreas kanserinin teşhis edilmesinde, tedavisinde ve moleküler mekanizmasının anlaşılmasında önemli problemler yaratmaktadır. Aynı zamanda kanserin ilerlemesini ve metastatik kapasitesini oldukça aktif hale getirmektedir [2].

Pankreas kanseri özelinde düşünüldüğünde daha hassas teşhis yöntemlerinin belirlenmesi, hastalığın prognozunu değerlendirilmesinde kullanılabilecek biyobelirteçlerin tespit edilmesi tüm dünyada araştırmaların odak noktasını oluşturmaktadır. Buradan yola çıkılarak dizayn edilen bu tez çalışmasında, pankreas kanserinin ortaya çıkmasında hangi moleküler mekanizmaların rol oynadığı ve genomik düzeyde ne gibi farklılıkların ortaya çıktığı araştırılmıştır.

Bu tezin temel konusunu oluşturan Pankreas kanserinin gen ifade düzeyinde incelenmesi ve altta yatan moleküler mekanizmanın ve yolakların belirlenmesi ile ilgili tasarlanan araştırma stratejisi ve çalışmada elde edilen bulgulara geçmeden önce, çalışmanın bilimsel dayanaklarını ayrıntılı olarak açıklayabilmek için, kanser hakkında genel bilgiler verilerek bu patolojinin ayrılmaz moleküler bileşenleri olan onkogenler, tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü ve kanserde epigenetik regülasyonlar hakkında bilgiler verilmiştir.

Daha sonraki bölümlerde çalışma sonunda elde edilen bulgular güncel literatür ile karşılaştırılarak sonuçlar bilimsel anlamda tartışılmıştır.



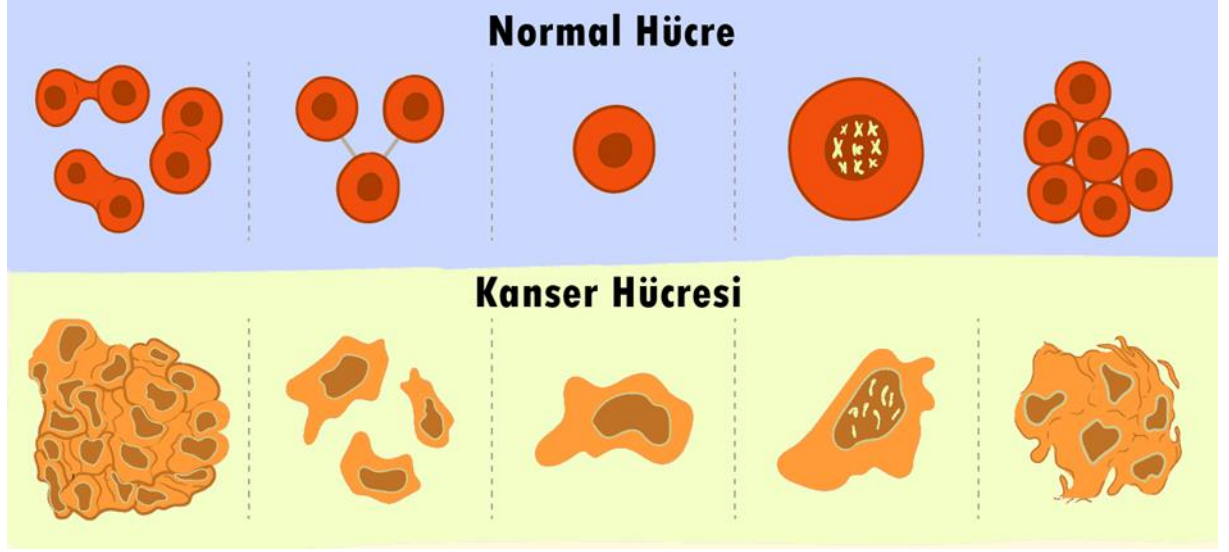
2. KANSER

Kanser, vücudumuzda sıkı bir regülasyon ve kontrol altında bulunan hücrelerin, bu kontrol mekanizmasından çıkarak, sınırsız olarak bölünme yeteneği kazanması olarak ifade edilebilir. Bu kontrol dışı hücrelerin sürekli bölünerek oluşturduğu hücre kitlesi ise tümör olarak adlandırılır. Bu primer tümörden ayrılan bazı kanser hücreleri metastaz adı verilen bir mekanizma ile vücudun farklı doku ve organlarına gidip orada da tümörler oluşturabilir [3]. Tümörlerin karyotipleri genellikle normal değildir, çoğunlukla sayı ve yapı bakımından kromozomal anormallikler mevcuttur [4]. Tümörler sıklıkla, sekonder veya tersiyer genetik değişiklikler yoluyla neoplastik-transformatasyon geçiren hücreden ortaya çıkan sitogenetik olarak farklı klonlara sahiptirler. Bu heterojenlik, klinik davranıştaki farklılıklara ve aynı teşhis tipindeki tümörlerin tedavisine verilen yanıtlara ışık tutacak niteliktedir.

Tümörler, farklı genetik değişikliklere ve farklılaşma durumlarına sahip bir hücre spektrumu oluşturan progenitör kanser hücrelerini de içerebilmektedir. Popülasyonlar kemoterapi, radyoterapi ve diğer tedavilere duyarlılık açısından farklılık gösterebilmektedir. Bu durum klinik yönetimi de zorlaştırabilmektedir. Kanser gelişimindeki başlangıç basamakları önemli klinik değere sahiptir ve akılcı kanser tedavisinin geliştirilmesinde bir öncelik niteliğini taşımaktadır [5].

Normal hücreler enerjilerini oksidatif fosforilasyondan sağlarken, kanser hücreleri ise, substrat düzeyinde fosforilasyondan sağlamaktadırlar [6]. Normal hücre ve kanser hücresi temelde birbirlerine benzerken belirgin farklarda bulundurmaktadırlar (Şekil 2.1). Büyüme ve gelişmeyi belirli sınırlar içerisinde tutan mekanizmalar kanser hücresinde bozulmuştur ve bu sebeple kanser hücreleri sınırsız ve herhangi bir kontrol dahilinde olmadan büyüyüp çoğalabilirler oysa normal hücrelerde büyüme ve gelişme çeşitli mekanizmalar ile denetim altındadır [7].

Kanser hücrelerinin sürekli olarak büyüyebilmeleri için çeşitli büyüme faktörlerinin ekspresyon seviyelerinde artış olması gereklidir normal hücrelerde ise büyüme faktörlerinin ifade düzeylerinde bir anormallik yoktur [8]. Kanser hücreleri kemoterapik ajanlara karşı fark edilir bir direnç gösterirken normal hücreler bu direnci gösteremezler [9]. Bununla birlikte bir diğer fark ise normal hücreler ajanlara karşı belirli tepkiler verirken kanser hücresinin verdiği tepkiler kendisine özgü olmaktadır [10].



Şekil 2.1. Normal hücre ve kanser hücresi [11].

20. yüzyılın en korkutan hastalıklarından birisi olan kanser, 21. yüzyıla gelindiğinde ise insidansı hala artan bir patoloji olarak ciddiyetini korumaktadır. Durum o kadar ciddi bir boyut kazanmıştır ki her dört kişiden biri yaşam boyu kanser riski taşımaktadır [12].

2.1. Kanser Tarihçesi

Kanserin varlığı insanlık tarihi kadar eskidir. Paleopatolojik bulgulara göre tümörün varlığı insanlık ortaya çıkmadan çok daha öncelere dayanmaktadır [13]. İlk yazılı kaynaklara göre kanserin varlığına M.Ö. 3000 yılında Edwin Smith'in papirüsünde rastlanılmaktadır. Kanser, M.Ö. 460-370 yılları arasında Hipokrata göre "karkinos" ya da "karkinoma" olarak tanımlanmıştır [14]. Hipokrat ve arkadaşları kanserin doğal oluşumların sonucu ortaya çıktığına inanıyorlardı. Kanserın büyümesi ona göre hareketli yengeçleri anımsatıyordu. Hipokrat'a göre bu hareketliliklerdeki gözlemler sonucunda, karsinom ve ülserli habis tümör kavramlarının ortaya çıkmasına neden oldu. Hipokrat, anorektal kondilomları ve poliplerin tanımını ve lezyonların kolonda daha yaygın olup olmadığını anlamak için spekulum kullanmıştır [13].

M.Ö. 28-50 yılları arasında Aulus Celsus'a göre Yunanca "karkinos" Latince "kanser" olarak tanımlanmıştır [14]. M.S. 130-200 yıllarında ise Galen tarafından tümörleri tanımlamak üzere "onkos"(şişkinlik) kelimesi kullanılmıştır [14]. Mısırlılar 19. Yüzyıla kadar tümör ve kanserleri koter, bıçak ve tuzlarla tedavi etmeye çalıştılar ve bunu "Mısır merhemi" olarak adlandırdılar. Kullanılan bu merhemın ana ham maddesi olarakta arsenik kullanılmıştır [15]. Aynı yıllarda Sümerler, Çinliler, Hintliler, Persler ve İbraniler çay, meyve suları, incir ve haşlanmış lahana gibi bitkisel ilaçlar kullanılmaktaydı. İleri derece vakalarda çözelti ve macunların kullanımına da

başvurulmuştur. Bu karışımların birçoğu farklı zamanlarda farklı toplumlarda 3000 yıldan fazla süredir çeşitli konsantrasyonlarda kullanılmıştır [13].

325-403 yıllarında Oribasius, kanserlerin çoğunlukla ağrısız olduğunu ve iltihaplı lezyonlar kadar kırmızı olmadığını belirtmiş ve kanserli bölgeleri keserek, scirrhus doku, kara safra ve nekrozların oluşumunu gözlemlemiştir [13].

Kanser, hücrelerin anormal bir şekilde büyümesi ve bölünmesidir. Kanser, yılda 10 milyondan fazla ölüm oranıyla dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup 20. yüzyılın en tehlikeli hastalıklarından birisidir [1]. 21. yüzyılda sürekli artan insidansla daha da yayılmaktadır [12]. 2020 yılına kadar 16 milyona kişiye kanser teşhisi konulmuş olup, bu sayının giderek artacağı tahmin edilmektedir [16].

2.2. Kanser Epidemiyolojisi

Kanser epidemiyolojisi; kanserin sebebinin ortaya çıkarılmasına, tanı ve teşhisin belirlenmesinde hastalığın erken evrede saptanabilmesinde, tedavinin takibinde ve hastalığın kişisel duyarlılığına yardımcı olacak moleküler biyobelirteçler oluşturmayı hedeflemektedir [17].

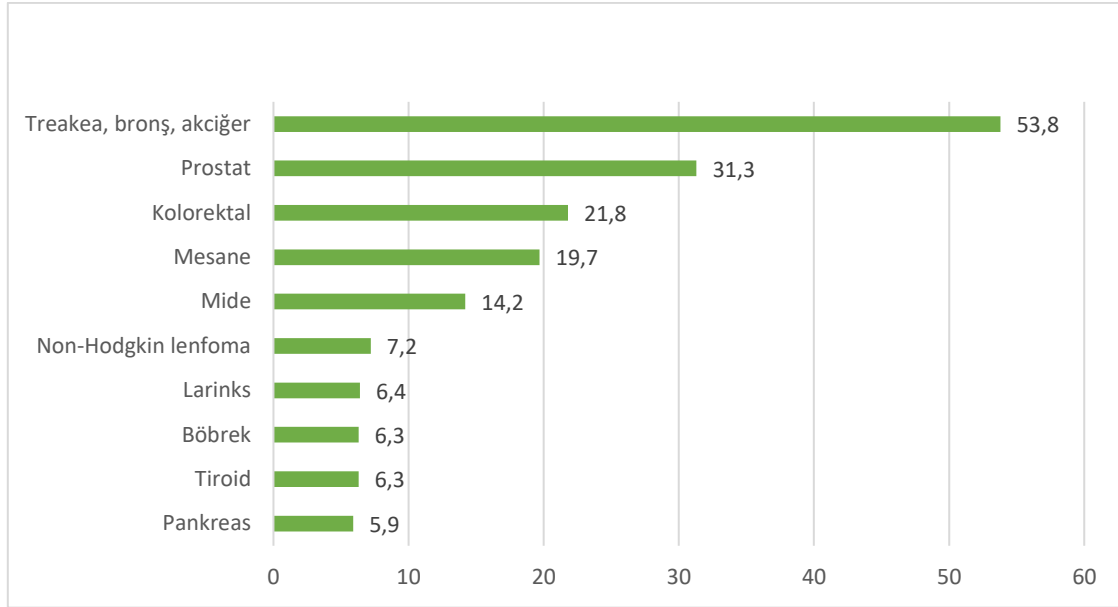
Moleküler epidemiyolojinin, asıl esaslarından biri; hastalığın bireysel risk sebeplerini belirlemek ve sağlıklı olan bireylerle karşılaştırma yaparak bir yol haritası çıkarmayı hedeflemektir [17]. Kanser epidemiyolojisine birçok etken etki etmektedir. Bunlar: coğrafi dağılım, cinsiyet, yaş, sosyoekonomik durum, meslek gibi etmenlerdir [14].

2.2.1. Coğrafi Dağılımı

Coğrafi dağılım; kanserin kıtalara, bölgelere, ülkelere ve hatta aynı ülkenin farklı yaşam alanlarına göre değişmektedir. Bunun sebepleri arasında genetik bir yatkınlığın ya da çevresel etkenlerin olabileceği olgusudur.

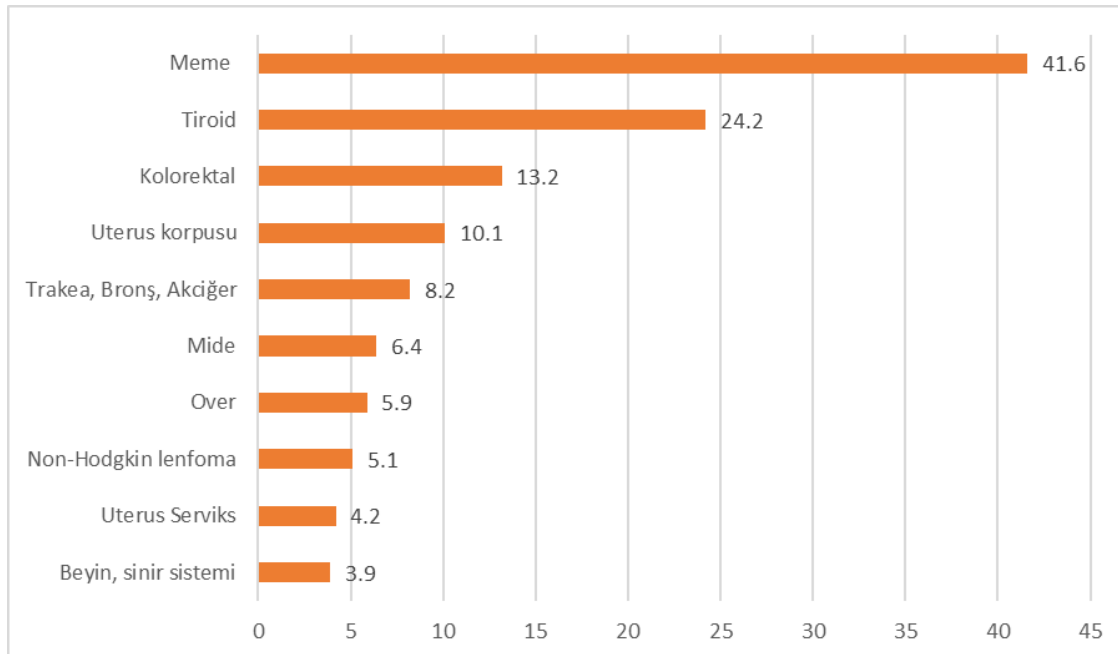
2.2.2. Cinsiyet

Cinsiyet kanser türüne ve sıklığına göre değişen bir kavramdır. Türkiyede 2015 yılındaki verilere göre erkekler arasında en yaygın görülen ilk 10 kanser türleri; akciğer kanseri ilk sırada yer alıp 100.000 kişide görülme oranı 53.8 olarak belirlenmiştir (Şekil 2.2.). 2. sırada ise; prostat kanseri gelmekte olup oranı 31.3, 3. sırada kolorektal kanser takip etmekte olup oranı 21.8, 4. Sırada mesane kanseri 19.7.5. Sırada mide kanseri 14.2, 6.sırada lenfoma 10.2, 7.sırada larinks kanseri 6.4, 8. Sırada böbrek kanseri 6.3, 9. sırada tiroid kanseri 6.3 ve sonuncu olarak da pankreas kanseri 5.9 olarak bildirmiştir [14].



Şekil 2.2. 2015 verilerine göre Türkiye’de erkekler arasında görülen en yaygın 10 kanser tipi [14].

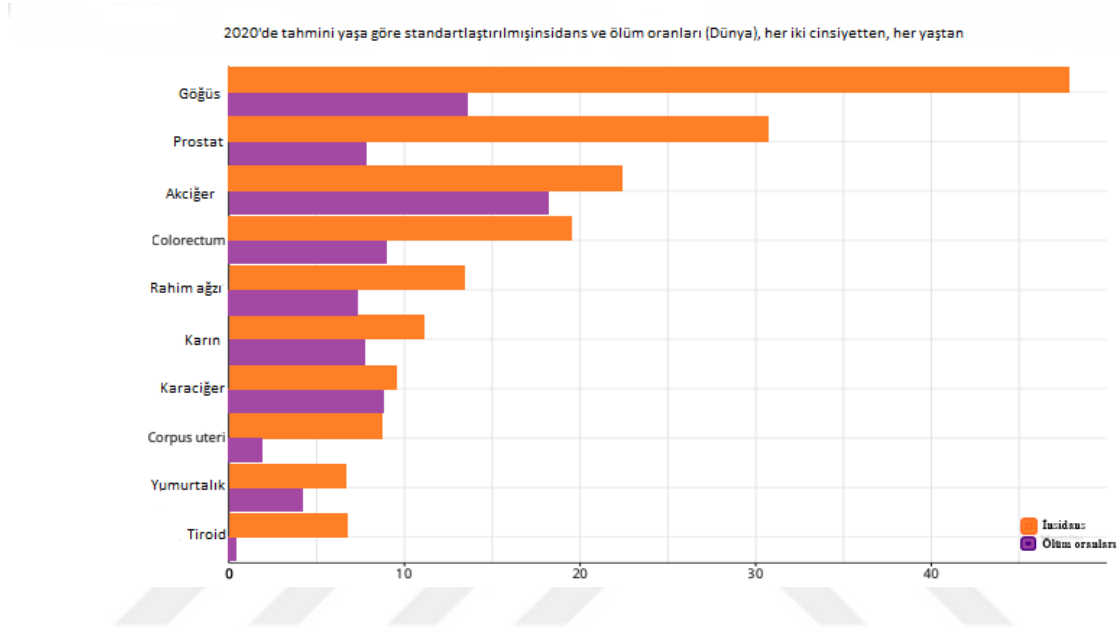
Yine aynı verilere göre kadınlar arasında en yaygın görülen kanserler arasında 1. sırada meme kanseri gelmekte olup, 100.000 kişide görülme oranı 41.6 olarak 2. sırada ise; tiroid kanseri gelmekte olup oranı 24.2, 3. sırada kolorektal kanser takip etmekte olup oranı 13.2’dir (Şekil 2.3.). 4. Sırada uterus kanseri 10.1, 5. sırada akciğer kanseri 8.2, 6.sırada mide kanseri 6.4, 7.sırada overyum kanseri 5.9, 8. Sırada lenfoma 5.1 , 9. sırada uterus kanseri 4.2 ve sonuncu olarak da beyin kanseri 3.9 olarak rapor edilmiştir [14].



Şekil 2.3. 2015 verilerine göre Türkiye’de kadınlar arasında görülen en yaygın 10 kanser tipi [14].

2.2.3. Yaş

Kanser riski yaşa bağlı olarak artmakta olup, kanser çeşidine bağlı olarak da yaş oranları değişebilmektedir. Globacan dünya kanser verilerine göre 2020 yılında her iki cinsiyetten ve her yaştan en fazla insidansa sahip olan kanser türü meme kanseri olup, ardından prostat kanseri ve akciğer kanseri gelmektedir (Şekil 2.4.). En düşük insidans gösteren kanser türleri ise yumurtalık ve tiroid kanseri olarak belirtilmiştir.



Şekil 2.4. 2020 Verilerine göre her iki cinsiyet için dünyada yaşa göre standartize edilmiş insidans ve ölüm oranları [18]

Her iki cinsiyete bağlı en yüksek ölüm oranları ise akciğer kanseri ve meme kanseri olarak rapor edilmiştir. Tiroid ve rahim kanseri de en düşük ölüm oranına sahip kanser türleri olarak belirtilmiştir.

2.2.4. Sosyo Ekonomik Durum

Toplumlarda sosyoekonomik durumu düşük olan ülkeler sağlık hizmetlerinden de daha az yararlanmakta olup, bu ülkelerde kansere yakalanma ihtimali daha fazla olmaktadır. Aynı zamanda bu ülkelerde kanser vakalarının kayıtlarına, farklı kanserlerin görülme sıklığına, kanser patolojilerine de daha az ulaşılmaktadır.

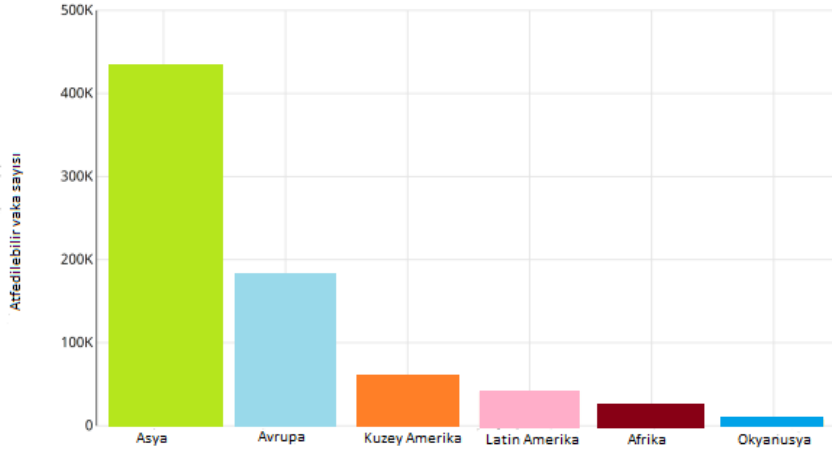
2.2.5. Meslek

Kanserin meydana gelmesinde mesleki etkiler 1775 yılında Pott tarafından, baca temizleyiciliği yapan işçilerde skrotum kanserinin sık görülmesinden yola çıkılarak öne sürülmüştür. Benzen isimli bir kimyasal maddenin yapıştırıcılarda yoğun şekilde bulunmasının

lösemiye sebebiyet verdiği bilinmektedir. Nitekim, açık havalarda çalışanların aşırı güneş ışınlarına maruz kalması sonucunda cilt kanseri meydana gelmektedir. Özellikle hastane ortamında çalışan sağlık çalışanlarında Hepatit B – C ve karaciğer kanseri yaygın gözükmemektedir. Yine sanayi alanında çalışanlarda da akciğer kanserine sık rastlanmaktadır [14].

2.2.6. Alkol Tüketimi

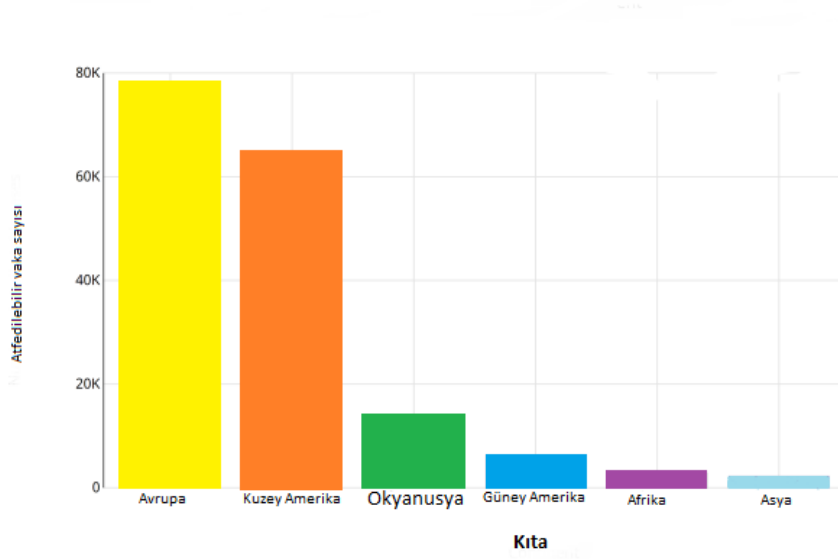
Alkol tüketimi dünyada kıtalara göre değişmekte olup, özellikle ekonomik durumu iyi olan ülkelerde fazladır (Şekil 2.5.). Alkol tüketimine bağlı olarak Asya ülkelerinde yeni kanser vaka sayısı en fazla görülürken en düşük vaka sayısı Okyanusya’da görülmektedir [19].



Şekil 2.5. Kadın ve erkeklerde alkol kullanımına bağlı kıtalara göre yeni kanser vaka sayısı [19].

2.2.7. Ultraviyole Işınlara Maruz Kalma

Gelişmiş ülkelerde radyasyona maruz kalma durumu az gelişmiş ülkelere göre daha fazla görülmektedir (Şekil 2.6.). Kıtalara göre her yaş grubundan dahil olmak üzere hem kadın hem de erkeklerde UV ışınlarına maruz kalma en çok Avrupa ülkelerinde görülürken, sırasıyla Kuzey Amerika, Okyanusya, Güney Amerika, Afrika ve en düşük olarak da Asya kıtasında belirlenmiştir [20].

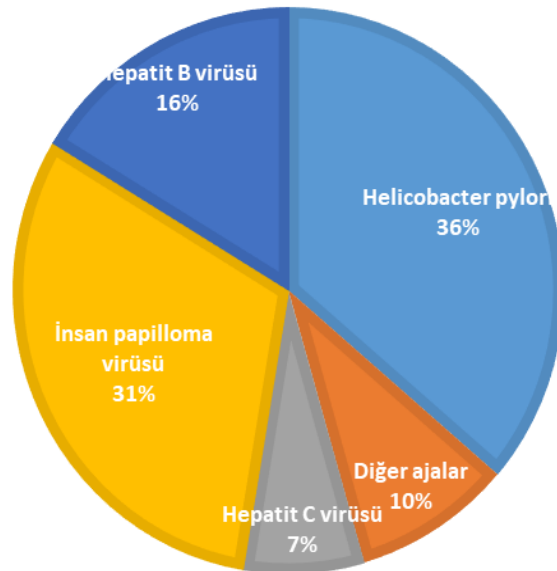


Şekil 2.6. Kıtalarla göre kadın ve erkekler arasında radyasyona maruz kalmaya bağı kanser vaka sayıları [20].

2.2.8. Enfeksiyonlar

Enfeksiyonlar kanser etkeni olabilmektedir. *Helicobacter pylori*'nin %36 oranında mide kanserine sebep olduğı bilinmektedir. Hepatit B-C virüsleri'nin ise %5-20 arasında karaciğer kanserine sebep olduğı Şekil 2.7.'de olduğı gibi düşünölmektedir.

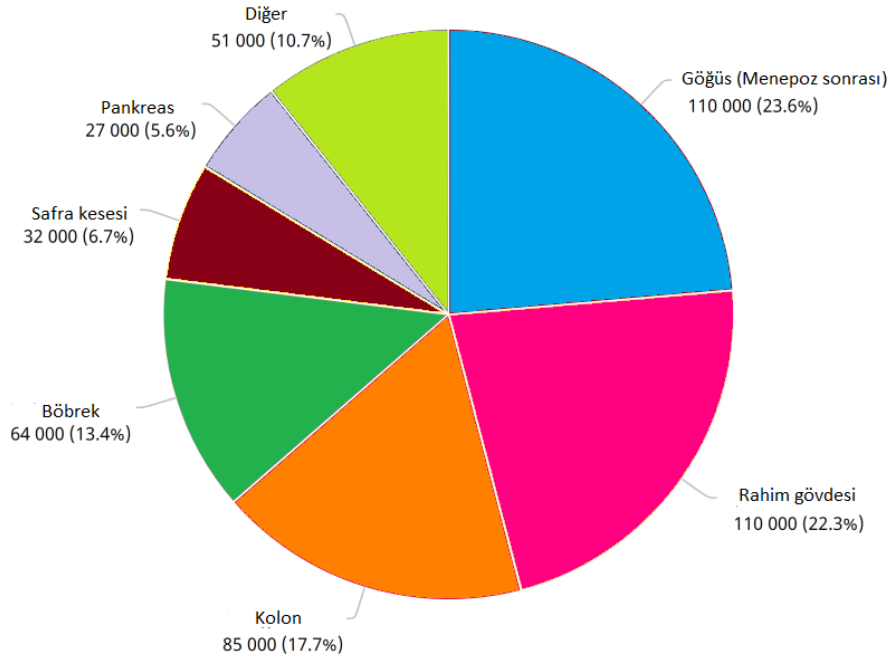
■ *Helicobacter pylori* ■ Diğer ajalar ■ Hepatit C virüsü ■ İnsan papilloma virüsü ■ Hepatit B virüsü



Şekil 2.7. 2018 Dünya kanser verilerine göre enfeksiyonların sebebiyet verdiğı kanserler [21].

2.2.9. Obezite

Dünya Sağlık Örgütü, obeziteyi vücutta aşırı yağ birikmesi sonucunda sağlığın bozulması olarak ifade etmiştir. 2012 yılında tüm dünyada, her iki cinsiyette de vücut kitle indeksinin artışına paralel olarak kanser görülme riskinin arttığı ifade edilmiştir [22]. Kanser türleri içerisinde obeziteye bağlı artış gösteren kanserler arasında meme ve rahim kanseri ilk sırada gelirken, safra kesesi ve pankreas kanserinde bu oran oldukça düşüktür (Şekil 2.8.).

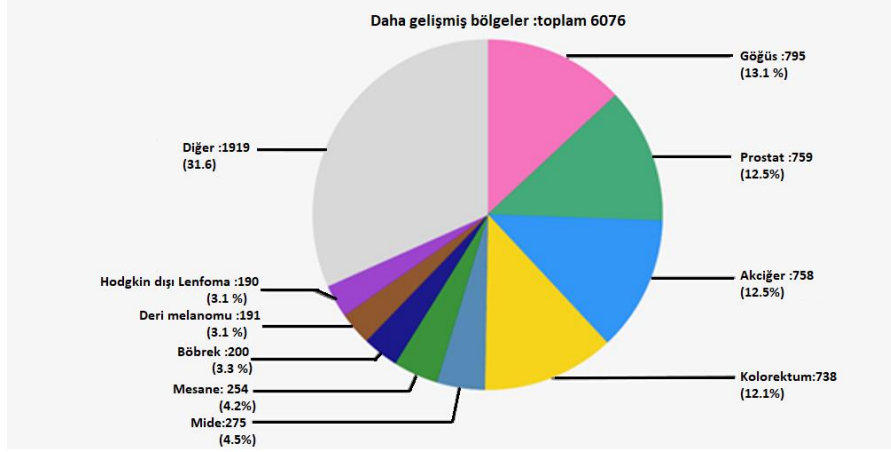


Şekil 2.8. Obeziteye bağlı olarak farklı kanser türlerinde meydana gelen artış oranları [22].

2.3. Dünyada Kanser Yüğü

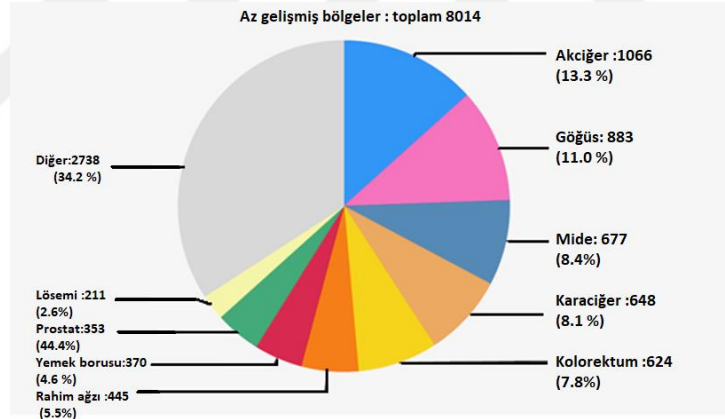
2012 yılı istatistiklerine göre dünyada 14.1 milyon yeni kanser vakası ve 8.2 milyon kanser kaynaklı ölüm meydana geldiği belirtilmiştir. Bunlardan akciğer kanseri hem ölüm oranındaki artış hem de yeni vaka sebebiyle ilk sırada gelmektedir (Şekil 2.9). Meme kanseri ise en yaygın kanser sıralamasında 2. sıradadır ancak erken teşhisde tedaviye olumlu yanıt verdiği için kanser kaynaklı ölüm oranında 5. sırada gelmektedir [23]. Gelişmiş ülkelerde en fazla görülen kanser tipi meme kanseri olup, bunu prostat, kolorektal ve akciğer kanseri takip etmektedir [23].

Bu ülkelerde deri melanomu, böbrek, mesane, mide kanserine ve hodkin dışı lenfoma'ya daha az rastlanmaktadır.



Şekil 2.9. Gelişmiş ülkelere bağlı farklı kanser oranları [23].

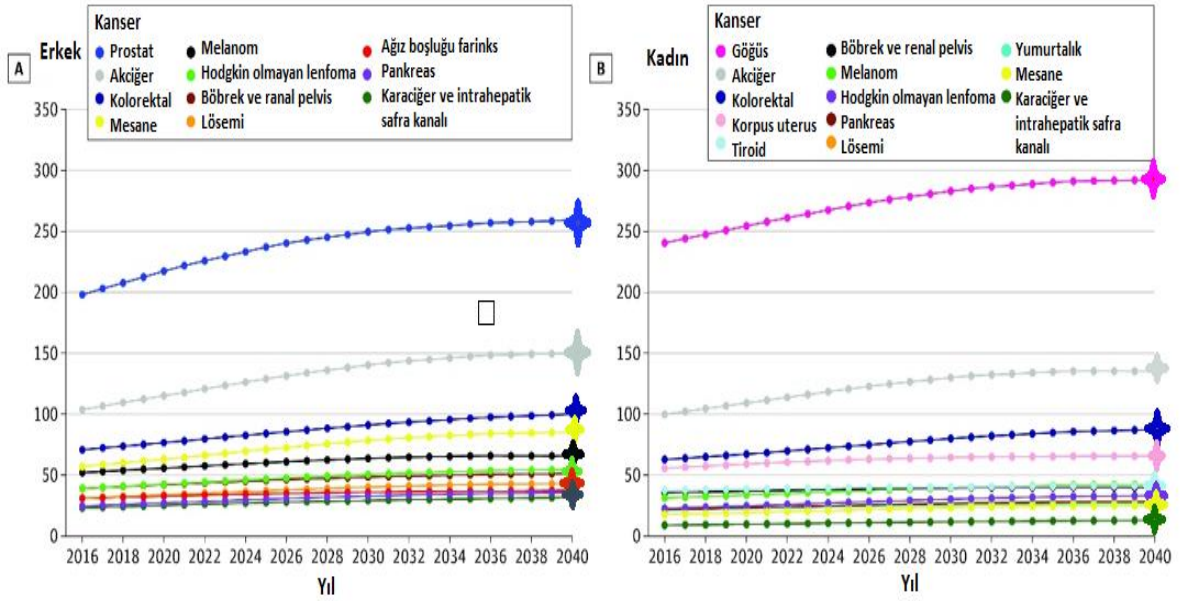
Daha az gelişmiş ülkelerde ise; ön sırada akciğer kanseri gelmekte olup; meme, mide, karaciğer ve kolorektal kanserler bunu takip etmektedir [23]. Bu ülkelerde rahim ağzı, yemek borusu, prostat kanseri ve lösemi daha az görülmektedir (Şekil 2.10.).



Şekil 2.10. Az gelişmiş ülkelerde görülen farklı kanser tipleri [23].

2.4. Kanserın Görölme Sıklığı

Kanserın görölme sıklığında cinsiyet, yaş, kanser tipi, çevresel ve genetik faktörler önemli derecede etki etmektedir. Elde edilen bilgilere göre 2040 yılına kadar erkeklerde en yaygın kanser tipleri; öncelikle melanom, akciğer, mesane, böbrek ve kolorektal kanseri olacağı tahmin edilmektedir [24]. Kadınlarda ise, meme, akciğer, rahim, melanom ve kolarektal kanser en sık görülen kanserler olacağı tahmin edilmektedir [24]. Cinsiyete göre görülen farklı kanser türlerinin yıllara göre değişimi Şekil 2.11.A ve B’de gösterilmiştir.



Şekil 2.11. A. Erkek B. Kadın bireylerde görülen farklı kanser türlerinin yıllara göre değişimi [24].

2.5. Kanser Tedavilerinde Kullanılan Yöntemler

Kanser tedavisinde temel hedef sadece malignant hücrelerin öldürülmesi ve vücuttan temizlenmesidir. Bu sırada malignant olmayan normal hücrelerin mümkün olduğunca korunması gerekir. Yüksek oranda çoğalan mutasyona uğramış tümör hücrelerini hedef alan cerrahi, radyasyon, kemoterapi ve immünoterapi gibi yöntemler mevcuttur. Bu tedavi yöntemleri sıklıkla sağlıklı hücreleri öldüren ve hastalarda toksisiteye neden olan kemoterapötik ilaçların alınmasını içerir. Kanserli hücrelerin tümör içi heterojenliği, etkili bir kanser tedavisinin önündeki ana engeldir. Bununla birlikte, tümörün moleküler temelini daha iyi anlaşılması ve yeni teşhis teknolojilerinin ortaya çıkması, çeşitli kanserlerin tedavisinin iyileştirilmesine yardımcı olabilir.

Belirlenen dört öge oluşmadığı sürece bunlar: Kanserli kitle cerrahi olarak çıkarılmazsa, kemoterapi veya hormon tedavisi gibi kansere ilişkin bir ilaç türü kullanılmazsa, kanserin tipine özgü radyasyon tedavisi uygulanmazsa veya tümör küçülüp ve kendi kendine kaybolmazsa; kanser hücreleri sürekli olarak bölünür ve tümör dokusu büyümeye devam eder [12].

2.6. Kanser Oluşumundaki Risk Faktörleri

Tümör oluşumunun nedenleri hala tam net değildir, fakat kanserin gelişiminde genetik bozukluklar, sağlıksız beslenme alışkanlıkları, mesleki stres, radyasyona veya kanserojen maddeye uzun süre maruz kalma, toksin alımı, genotoksik ajanlar, enfeksiyon, virüsler gibi etmenlerin tümör gelişimine neden olabileceği kabul edilmektedir [6].

2.7. Kanserin Belirtileri

Kanser hücreleri bulunduğu dokuya veya organa ve evresine göre farklı belirtiler gösterir. Bazı kanser türlerinde hızlı kilo kaybı, iştahsızlık, halsizlik, devamlı uyku hali gözlenirken bazılarında ise sırt ağrısı, göğüste hırıltı, nedeni bilinmeyen ağrı ile kendini göstermektedir. Bazı kanser türleri ise son evreye gelinceye kadar hiçbir belirti vermemektedir.

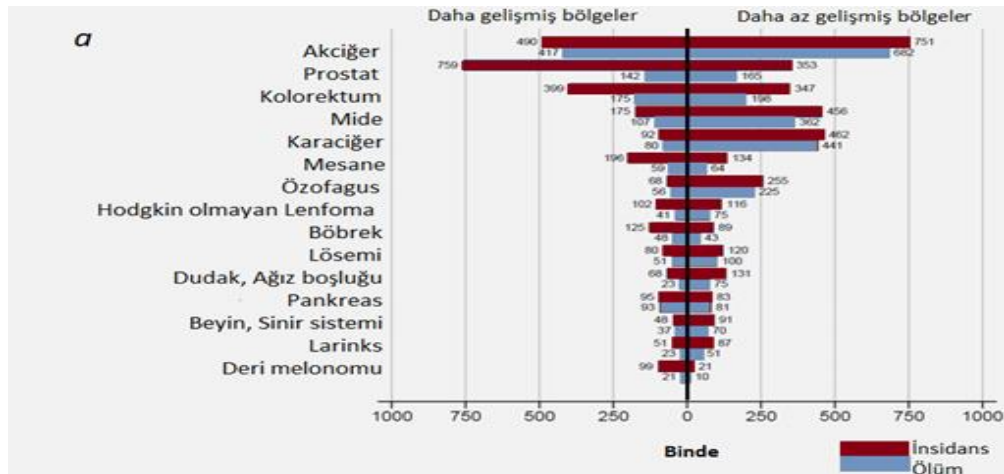
2.8. Kanser Tipleri

Tümör gelişiminin semptomları o tümörün yerine bağlı olarak değişkenlik gösterir. En yaygın iyi huylu tümörler; adenomlar, fibroidler, hemanjiyomlar, lipomlar, menenjiyomlar, miyomlar, nöromlar, osteokondromlar ve papilloma'dır [25].

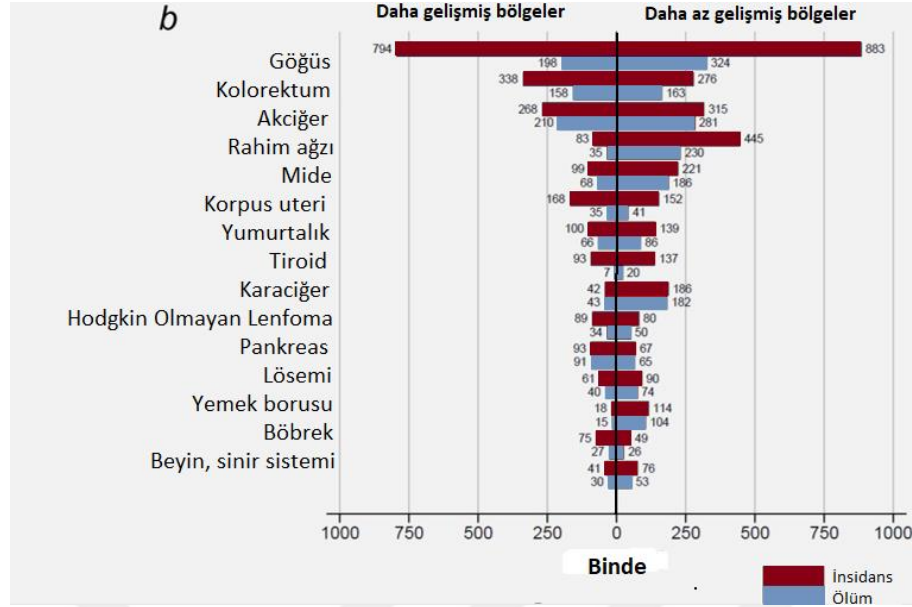
Medikal teknoloji alanında elde ettiğimiz gelişmeler ile birlikte daha önceden teşhisi zor olan birçok kanserin teşhis edilmesinde önemli ilerlemeler elde edilmiştir örneğin; mesane, meme, rahim ağzı, kolon, rahim, mide, lösemi, akciğer, yumurtalık, pankreas, prostat, böbrek ve tiroid kanserleri [26].

2.9. Kanser Ölümleri

Yapılan araştırmalara göre 2040 yılına kadar akciğer kanserine bağlı ölümlerin ilk sırada yer alacağı ama bu kansere bağlı ölümlerin azalacağı düşünülmektedir (Şekil 2.12. a). Pankreas, karaciğer ve safra kanalı kanserlerinin kolorektal kanserin önüne geçeceği tahmin edilmektedir. Şekil 2.12.b.'de ise meme kanserine bağlı ölümlerin de azalması beklenmektedir [24].



Şekil 2.12.a. Kanser çeşitlerine göre ölüm ve sıklık oranları [23].



Şekil 2.12.b. Kanser çeşitlerine göre ölüm ve sıklık oranları [23].

2.10. Hücre Döngüsü

Hücre döngüsü; mitozla sonuçlanan ve içerisinde bir çok düzenleyici proteini içeren karmaşık bir süreçtir [27]. Hücre proliferasyonu sırasında gerçekleşen olaylar hücre döngüsü olarak adlandırılır ve bu döngü Gap0 (G0), Gap1 (G1), Sentez (S), Gap2 (G2) ve Mitoz (M) fazı olarak adlandırılır. Bu fazlardan G1 ve G2 fazı iki ara boşluk fazı iken S fazı sentez M fazı ise mitozun gerçekleştiği evredir [28, 29].

Sürecin merkezinde siklin ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) bulunmakta olup, bu döngüyü düzenlemektedirler [27]. Siklin ve CDK ikilisi hücre döngüsünün durdurulması ve hücrenin hayatta kalması için önemlidir. Siklinlerin seviyesi sabit kalsa da CDK'ların seviyesi artar [30]. Siklinler CDK'ları sentezleyerek aktivasyonunu sağlamaktadırlar [31]. Yani siklinler olmadan CDK'lar aktif hale gelememektedir [30]. Hücre proliferasyonunu içeren bu döngü G1, G2, S ve M fazlarından oluşmaktadır [32].

2.10.1. G0 Fazı

Hücreler belirli görevleri yapmak üzere programlanmaya hazırlanır [33].

2.10.2. G1 Fazı

G1 fazı sırasında siklin bağımlı kinaz aktivasyonu DNA replikasyonunu destekleyip G1 fazından S fazına geçişi başlatır. İnsan vücudundaki hücreler çoğunlukla hareketsiz durumdadır belirli zamanlarda ihtiyaç duyduklarında aktif hücre döngüsüne girmeye karar verirler hücre

döngüsünün G1 fazındaki karar verme süreci, kontrol noktası adı verilen bir mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. Kontrol noktası bir defa geçildiği zaman memeli hücreleri G1-S fazı geçişinden sonra genetik materyalini çoğaltmak istemektedirler [34].

2.10.3. S Evresi

Sentez fazında DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi, RNA ve protein sentezi gerçekleşmektedir [35]. S fazı G1 fazından sonra gelir ve genetik materyal iki katına çıkar, sırasında ise hücre genetik materyalin iki katına çıkıp çıkmadığını kontrol eder, eğer olası bir hata var ise tamir mekanizmaları ile hata düzeltilir ve tamir işlemi bitene kadar hücre döngüsü duraklatılır. Hücre S fazına her zaman girmez ve eğer S fazına girmemiş ise G0 fazına girer ve tekrar hücre döngüsüne katılmadan önce uzun bir süre bekleyebileceği dinlenme süreci başlamış olur [36].

2.10.4. G2 evresi

DNA replikasyonu gerçekleşmez, protein ve RNA sentezi devam eder [35]. Bu fazda hücre büyümeye devam etmektedir.

2.10.5. M evresi

Mitoz ve sitokinez gerçekleşir. G1 evresi ilk bölünmede oluşan eş hücrelerin tekrar hücre bölünmesine girmeden S evresine hazırlandığı evredir. DNA replikasyonu olmaz. Ancak RNA ve protein sentezi devam eder [35]. M fazı 4 evreden oluşur bunlar profaz, metefaz, anafaz ve telofazdır. Bu fazda sentrozom duplike olur ve yavru kromozomlar oluşur [37].

Hücre döngüsünde bir aşama tamamlanmadan diğer bir aşamaya geçilmez eğer geçilirse DNA hatasız kopyalanmadığı için hücrede çeşitli hasarlar meydana gelmektedir [38].

2.11. Hücre Bölünmesinin Regülasyonu

Hücre döngüsünde proteolitik kontrol önemli olup, bu kontrol siklin-CDK ikilisi tarafından gerçekleşmektedir [39]. Örneğin; ubiquitin proteini endoplazmik retikulumda yıkıma uğrayacak proteinleri tutmakla sorumlu önemli bir işleve sahip olup anafaz başlangıcı ve mitozun çıkışı için gereklidir [40].

Hücre döngüsüne katılan hücreleri üç kontrol noktası beklemektedir. Bunlar G1/S, G2/M ve mitotik kontrol noktası'dır [41]. Hücreler; hücrel hasarın tamir edilmesi, dışsal olarak hücrel stres varlığı gibi durumlarda hücre döngüsü kontrol noktalarında geçici olarak durdurulabilir [41].

Pluripotent kök hücreler organizmada farklılaşma yeteneğini koruyan ve birçok hücre tipine farklılaşabilen özel kök hücrelerdir [42,43]. Pluripotent kök hücreler özelleşme sinyalleri

aldıklarında, farklılaşma programlarını aktive ederler ve hücre döngüsünü yeniden dizayn ederler. Bu düzenleme sonucunda G1 fazının uzunluğu ve toplam hücre bölünme süreleri artar. Kök hücrelerin farklılaşma sinyallerine verdikleri tepki ilginç olarak çok heterojendir ve bu durum farklılaşma sürecinde asenkronizasyona sebep olur.

Yapılan çalışmalarda bu fenomenin G1 fazının aktivasyonunu sağlayan gelişimsel genlerin kontrolünde olduğunu, bu mekanizmanın yine multipotent hücrelerin G1 fazına girişlerini de kontrol eden özel bir biyolojik mekanizma olduğunu ortaya koymuştur [44].

2.12. Kanserın Moleküler Biyolojisi

Otofaji tüm ökaryot hücrelerde korunan hücresel stres yanıtına cevaptır. Hücredeki yanlış katlanmış veya biriken proteinlerin ve hasara uğramış olan organellerin geri döndürülmesini sağlar. Aynı zamanda hücre içi stres durumunda hücrenin yaşamını sürdürebilmesi için, temel yapıtaşlarının üretilmesi için aktive olur [45]. Bu yüzden otofaji hücrede hayatta kalma aracı olarak görev yapar. Bazı durumlarda hücreyi dolaylı olarak apoptoza ya da doğrudan nekroza götürmede rol oynar.

Otofaji ile ilişkilendirilmiş yaklaşık 30 gen tanımlanmıştır [46]. Bu genler hipoksi, ısı stresi ve reaktif oksijen türlerinin [47] birikmesi gibi stres durumlarına verilen cevaplarda rol oynar [48]. Bir takım kanser türleri otofajiyi indükler. Bazı kanserler mitokondriyal fonksiyonu ve artan enerji ihtiyacını karşılamak için otofajiden yararlanabilir. Bu durumda otofaji mekanizması kanserin yararına çalışan bir mekanizma gibi davranır. Bundan dolayı bazı kanserlerin tedavisinde otofajinin inhibisyonu etkili bir tedavi seçeneği olabilmektedir [49].

2.11.1. Onkogenler

Kanser oluşumunda en önemli risk faktörleri genellikle genetik kökenlidir. Kanser oluşumunda rol oynayan genler, protein kodlayan nükleotid kodunu potansiyel olarak değiştiren, kopya sayısını değiştiren veya artıran gen transkripsiyonuna yol açan çeşitli mekanizmalarla malign süreç başlatabilir. Bir kanserin tam olarak gelişim gösterebilmesi için genellikle birkaç farklı değişim geçirmesi gerekmektedir [50].

Bu değişimlere kaynaklık eden etmenlerin başında onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve mikroRNA genleri üzerinde meydana gelen mutasyonlar gelmektedir. Genler üzerindeki bu değişiklikler genelde somatik olmakla birlikte germ hattında oluşabilecek herhangi bir mutasyon, kanserin kalıtsallığını veya ailesel olarak yatkınlığını belirleyebilir. Kanser hücrelerinin oluşumunda birden fazla genetik değişim ve bunlara bağlı karmaşık mekanizmalar bütünü etkili olabilmektedir [5].

Onkogenler, karsinogenez oluşumunu indükleyen genlerdir. Onkogenlerin temelinde normal hücresel işlevleri yerine getiren proto-onkogenler yatmaktadır. Proto-onkogenlerdeki bu

düzenleyici sistemler bozulduğunda, proto-onkogenler onkogen haline dönüşebilmekle birlikte hücre transformasyonu ve karsinogenezi indükleyebilmektedir [51]. Proto-onkogenlerin aktivasyonu, mutasyonlar aracılığıyla gerçekleşir [52]. Örneğin; nokta mutasyonları, nükleotid delesyonları ya da kromozomal translokasyonlar bu mutasyonlara neden olabilmektedir. Yapılan araştırmalarda tek bir onkogenin çok aşamalı bir karsinogenez sürecinde yer alabileceği belirtilmiştir. Uygun şekilde aktivasyonu sağlanmış tek bir onkogen, normal bir hücrenin malign dönüşüm sürecini tetikleyebilmektedir [53].

ERG onkogeni hematopoez, anjiyogenez, vaskülogenez, inflamasyon, migrasyon ve invazyonun düzenlenmesinde görev alan bir transkripsiyon faktörünü kodlar. *ERG* onkogeni, malign prostat kanserinde aşırı eksprese edilen onkogenlerden biridir ve prostatik intraepitelyal neoplaziden karsinomaya geçişte önemli bir gendir. 2005 yılında Tomlins ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir makalede *ERG* onkogeninin, *TMPRSS2* geninde bir gen füzyonunun sonucu olarak prostat karsinomlarında aşırı oranda eksprese edildiğini göstermiştir. Buna ilaveten Ewing's sarkomu ve lösemi dâhil olmak üzere diğer kanserlerde de rol oynamaktadır. *ErbB2*, *PI3KCA*, *MYC* ve *CCND1* (siklin D1'i kodlar) onkogenleri meme kanserinde düzensizdir. PI3K sinyali hücre büyümesini, hayatta kalmayı, metabolizmayı ve metastazı etkilemektedir. PI3K, büyüme faktörleri ve hücre dışı matriksten gelen sinyaller tarafından aktivasyonu sağlanmaktadır [54].

KRAS; hücrenin yüzey reseptörlerinden yayılan sinyal ağlarının temeli olarak kabul edilmektedir [55]. Aynı zamanda *KRAS*; guanozin trifosfat hidrolazı, GTPaz ailesine bağlı olan bir protein olup, hücrenin farklılaşmasında, bölünmesinde, apoptozun düzenlenmesinde ve tüm yaşamsal faaliyetlerde görev almaktadır [56, 57]. *RAS* gen ailesinin en önemli üç üyesi; H-RAS, N-RAS ve K-RAS proteinleridir. Özellikle *KRAS*'ın iki farklı formu *KRAS4A* ve *KRAS4B* en yaygın olanlar olup, *KRAS*'ın 4A ekspresyonu her yerde gözlenirken, 4B formunun ekspresyonu ise farklı dokularda farklı işlev göstermektedir [58].

KRAS onkogeninin aktivasyonu çeşitli kanser türlerinde özellikle pankreatik adenokarsinomunda (PDAC) artarak ortaya çıkmaktadır [55]. *KRAS* mutasyonu; pankreas karsinogenetiğinde en önde gelen genetik değişikliklerdir [57]. PDAC 'un %90'ından fazlasında *KRAS* mutasyonu görülmektedir [59].

Sonuç olarak onkogenler ve tümör baskılayıcı genler hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında kritik roller oynamaktadır. Ekspresyonları kanser hücrelerinde gen mutasyonu, delesyonu, yeniden düzenlenmesi, inaktivasyonu veya aşırı ekspresyonu ile sıklıkla değiştirilmektedir. Bu değişikliklerin bazıları doğrudan kötü huylu fenotiplerin gelişimi ile ilgilidir. Araştırmalar bu genlerin normal işlevinin eski haline getirilmesinin kanser tedavisinin etkili bir yolu olabileceğini öngörmektedir.

2.12.1. Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genlerden en çok öne çıkanlar siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan *CDKN2A*, *TP53* ve *SMAD4*'tür [60].

2.12.2. P53 Tümör Baskılayıcı Gen

En bilinen tümör baskılayıcı genlerden birisi olan *p53*, onkojenik strese cevap niteliğinde hücre ölümü ve replikatif yaşlanmanın ayrılmaz bir parçası olan döngüsel düzenleyici ve transkripsiyon faktörüdür [61]. Ayrıca *p53*'ün *INK4* ailesine bağlı tümör baskılayıcı 1'i kodlayan bir gen olduğu bildirilmiştir [62]. Apoptoz, hücre döngüsünün durması, DNA tamir mekanizmasında rol alan genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde görev almaktadır [63, 64]. *P53*'ün sebep olduğu hücre döngüsünün durması durumunda siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan *p21*'in önemli bir yardımcı olduğu bilinmektedir [63, 65].

P53 hücrenin çekirdeğinde bulunmakta olup, herhangi bir hücresel hasar meydana geldiğinde, aktif hale gelmektedir ve hücrelerin onarımına mı yoksa indüklenmiş apoptoza mı gideceğine karar vermesine aracılık etmektedir. Fakat *p53* mutasyona uğrarsa DNA'ya etkin bir biçimde bağlanamayacaktır. Bu durum da kontrolsüz hücre bölünmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu durum neticesiyle potansiyel tümörjenik hücrelere sebep olan DNA'da hasar oluşumuna sebep olmaktadır [66].

2.12.3. CDKN2A veya P16 Tümör Baskılayıcı Gen

CDKN2A geni *p16* olarak da bilinmekte olup; *CDKN2A* geninin tümör dokularındaki ekspresyonunun tümör bağımlılığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir [62]. Tümör baskılayıcı genlerden birisi olan siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan *CDKN2A*'nın inaktivasyonu özellikle PDAC'da sıklıkla görülmektedir [67].

2.12.4. SMAD4 Tümör Baskılayıcı Gen

SMAD4 veya *DPC4* transdüksiyon protein ailesine ait olup, transforme büyüme faktörü *TGF-β* uyarısına cevap olan bir yanıttır [68]. Özellikle PDAC 'da *SMAD4*'ün inaktif olması belirleyici bir faktördür [68].

2.12.5. . Fragil Histidin Triad Geni (FHIT)

Fragil histidin triad geni özellikle pankreas kanserinde tümör baskılayıcı gen olarak işlev görmektedir. *FHIT* geninin aşırı ekspresyonu pankreas kanseri hücrelerinde apoptoza karşı duyarlılığını artırmaktadır [69].

2.13. Apoptozis (Programlanmış Hücre Ölümü)

Apoptozis programlanmış hücre ölümü olarak bilinir. Apoptoz organizmanın kendi faydası için belirli hücreleri gözden çıkarmasını sağlayan fizyolojik olarak ilerleyen bir durumdur [70]. Şekil 2.13.'de görüldüğü gibi apoptoza uğrayan hücrelerde hücre membranında çöküntüler meydana gelir ve çekirdekte fragmentasyon görülür bu da kaspaz 3 enziminin aktivasyonunu artırır [71]. Aynı zamanda apoptoz çok hücreli organizmalara yaşam döngüleri ve homeostaz sürecinde önemli fayda sağlamaktadır [72].

Apoptoz hücredeki işlevini serin proteazlar olarak da bilinen kaspaz enzimi aracılığı ile yapmakta olup, kaspaz enzimi de hücre ölüm mekanizmasında görev yapmaktadır [73]. Apoptoz çok hücreli canlılarda korunarak genetik olarak da denetlenmektedir [71]. Sonuçta çevredeki dokulara en az hasar vererek vücudun temizlenme durumudur [74].



Şekil 2.13. Hücre ölüm yolları [71].

Apoptoza neden olan sinyal yolları ekstrinsik ve intrinsik yollar olarak ikiye ayrılır. Her iki yolda da yapısal ve düzenleyici bileşenleri ayıran ve buna ek olarak kaspazların aktivasyonunu başlatıp hücrenin ölümüne sebep olan bir yol vardır [75].

2.13.1. Ekstrinsik Yolak

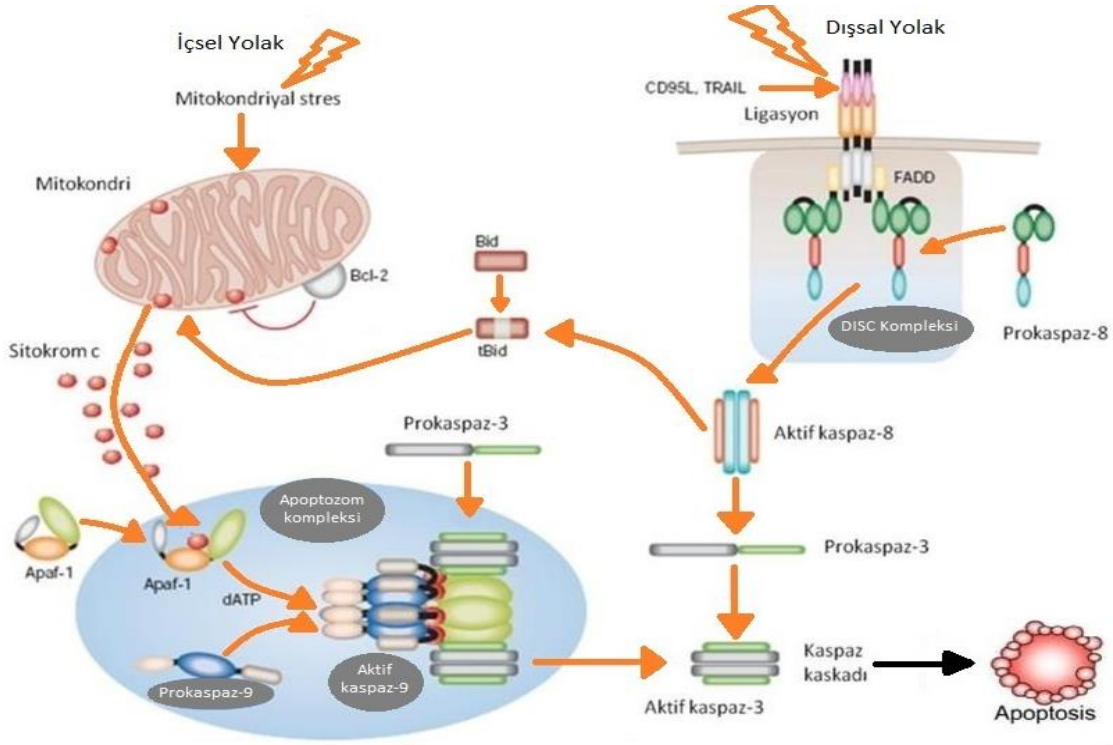
Ekstrinsik yolun aktive olabilmesi için hücre ölüm reseptörlerinin hücre yüzeyine bağlanması gerekmektedir. Bu reseptörler; fas ligandı, fas kompleksleri, kaspaz 8 ve 10'un bağlı olduğu farklı protein gruplarını içermektedir [75].

Ekstrinsik yolakta *kaspaz-8* önemli rol oynamaktadır. Ölüm reseptörleri, ligand bağlanması için hücre dışı alanını ve sinyal iletimi için hücre içinde ölüm bölgesini oluşturmaktadır. Pro-apoptotik ligandlar, büyük sitokin tümör nekroz faktör ailesine aittir. Bu ligandlar hücre yüzeyinde bulunmakla beraber hücre dışı boşluğa da salgılanır.

Pro-apoptotik ligandlar reseptörlerine bağlandığında, prokaspaz-8 ve prokaspaz-10 ile birlikte adaptör proteininin katılımı sonucunda ölüm indükleyici sinyal kompleksi oluşur. Ölüm indükleyici sinyal kompleksi oluşumu, kaspaz-8 ve kaspaz-10 işlenmesi ve aktivasyonuna yol açar. *Kaspaz-8* ve *kaspaz-10* aktivasyonunun takibinde sitoplazmaya salım gerçekleşir, efektör kaspazlar aktive olur ve apoptoz indüklenir [76].

Fas, ölümle ilgili reseptör olarak görev almaktadır. Fas reseptörü *Apo-1* veya *CD95* olarak da tanınmaktadır. *TNF* reseptörleri ise *TNF R1*, *DR3*, *DR4*, *DR5* ve *DR6* 'yı kapsamaktadır [77]. Herhangi bir uyarısı geldiği zaman yüzeye bağlı olan *Fas* ligandı *Fas* bileşenleri ile iletişime girerek ölüme sebebiyet veren sinyal kompleksini oluşturmakta olup, *kaspaz 8* aktive olarak ölümü gerçekleştirebilmektedir.

Bazı hücrelerde de *kaspaz 8*, *Bcl-2* ailesinin bir proapoptatik üyesi olan Bid'i parçalayarak intrinsik olan apoptotik yol aktivasyonu sağlamaktadır [78]. Şekil 2.14.'de apoptozun intrinsik ve ekstrinsik yolak mekanizması gösterilmektedir.



Şekil 2.14. Apotozun intrinsik ve ekstrinsik yolak mekanizması [79].

2.13.2. İntersik Yolak

İntersik mitokondriyal yolak: mitokondriyal elektron transport zincirinin bir elemanı olan sitokrom c'nin mitokondriden sitosole salınımı ile başlamaktadır. Mitokondride bulunan sitokrom-c'nin görevi ise ATP sentezlemektir [75]. Sitokrom c'nin salınımı sonucunda hücre içinde stres oluşur ve bir sitokrom-c sitoplazmik protein olan 'apoptotic protease activating factor-1'i tetikler (APAF-1) Apaf-1, prokaspaz-9 ile birleşerek kaspaz-9'u aktive eder aktifleşen kaspaz-9 da apoptotik sürecin başlamasına sebebiyet vermektedir [80].

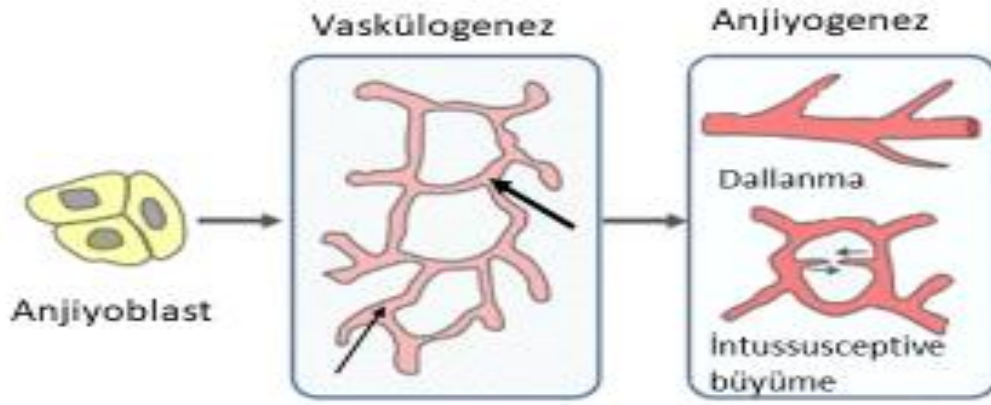
2.14. Nekrozis

Çevreden gelen dış hasara karşı oluşturulan pasif hücre ölümü ile neticelenen imflamatuar bir yanıtıdır [81]. Nekroza uğrayan hücrelerde; iyonik denge kontrolünü kaybederek hücrenin, suyu alarak parçalanmasına sebep olur.

Hücre zarı ve organeller ozmotik olarak şişer ve içeriği dışarı çıkarak hücre ortamında bulunan proteinlerin yüksek asit ve anormal bir pH varlığında çökmesine sebep olur [71]. Nekrozun başlıca nedenleri arasında iskemi, yüksek ateş, hipoksi, yüksek konsantrasyonlarda toksik maddeler ve şiddetli oksidatif stres bozukluğu olarak bildirilmiştir.

2.15. Anjiyogenez

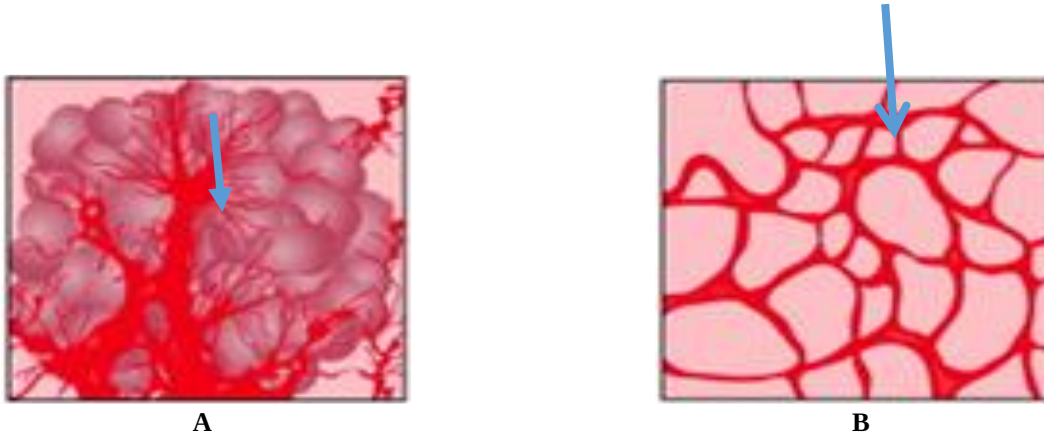
Anjiyogenez; rahimde başlayıp tüm yaşam boyunca devam etmekte olan bir dizi olaylar süreci olup Şekil 2.15’de belirtilmiştir [82]. Anjiyogenezde; var olan kan damarlarından yeni damarların oluşumu gerçekleşmekte olup, tümörlerin yayılmasında, yara iyileşmesinde ve üreme sisteminde önemli rol oynamaktadır [83]. Damar oluşumu iki farklı mekanizma tarafından gerçekleşmektedir: Bunlardan biri olan vaskülogenez, erken embriyogenezde gerçekleşmekte olup mezodermden kaynaklanan damar ağının oluşumunu ifade etmektedir [84]. Anjiyogenez ise; pro anjiyogenik moleküllerin, anjiyogenik moleküller üzerinde üstün olduğunda aktivasyonunu gerçekleştirmektedir [32].



Şekil 2.15. Vaskülogenez ve anjiyogenez oluşumu [82].

En bilinen pro anjiyogenik moleküller arasında vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) gelmekte olup, patolojik olarak kan damarlarının gelişmesi ve bakımından sorumludur [33].

VEGF-B de VEGF ailesi üyesinden biri olup, VEGF-A’dan farklı olarak proanjiyogenik bir molekül olarak değil de daha çok hayatta kalma reseptörü olarak görev yapmaktadır [33].



Şekil 2.16. A. Tümör damar oluşumu B. Normal damar oluşumu [85].

Tümörün yayılımı sırasında damarlardan besin, oksijen ve büyüme faktörleri damar ağı tarafından iletilmektedir. Şekil 2.16. A ve B’de gösterildiği gibi, anjiyogenezin ortaya çıkmasında önemli olan bu yollar; vasküler endotelyal büyüme faktör yolağı, epidermal büyüme faktörü yolağı, fibroblast büyüme faktörü yolağı, trombositin neden olduğu büyüme faktörü yolağı, transforme edici büyüme faktör yolağı ve tümör nekroz faktörü yolağıdır [83]. Klinik bilgilere bakıldığında zaman tümörün yayılımının anjiyogenezin şiddetine bağlı olduğu da bilinmektedir.

Yeni oluşan damarlarda iki hücre tipi tanımlanmıştır: bunlar uç ve sap hücrelerdir. Uç hücreler; anjiyogenik uyaranlar için hareketli olup önde uyaranlara açık haldedirler. Sap hücreler ise; uç hücrelerin arkasında bulunup, çok hızlı çoğalırlar [86]. Bu şekilde bir tümör hücresinin metastaz yapabilmek için damar ağının içerisine girip beslenmesi ve anjiyogenezi uyarması gereklidir [83].

2.16. Otofaji

Otofaji hücrenin iç dengesini devam ettirmek için, sitoplazmik materyallerin değiştirilip geri dönüştürüldüğü bir süreçtir [48]. Otofaji; hücrede homeostazı devam ettirmek ve embriyonik farklılaşmayı sağlamak amacıyla önemli işleve sahiptir [48]. Memelilerde ve mayada otofaji ile ilişkilendirilmiş (Atg) 30 adet gen tespit edilmiştir [46]. Atg’ler çevresel strese, basınç değişikliklerine ve oksijen yetmezliğine karşı verilen yanıt için gereklidir [48]. Otofaji; çekirdeklenme, uzama, otofagozom meydana gelmesi ve uzama olmak üzere 4 aşamada gerçekleşmektedir [87].

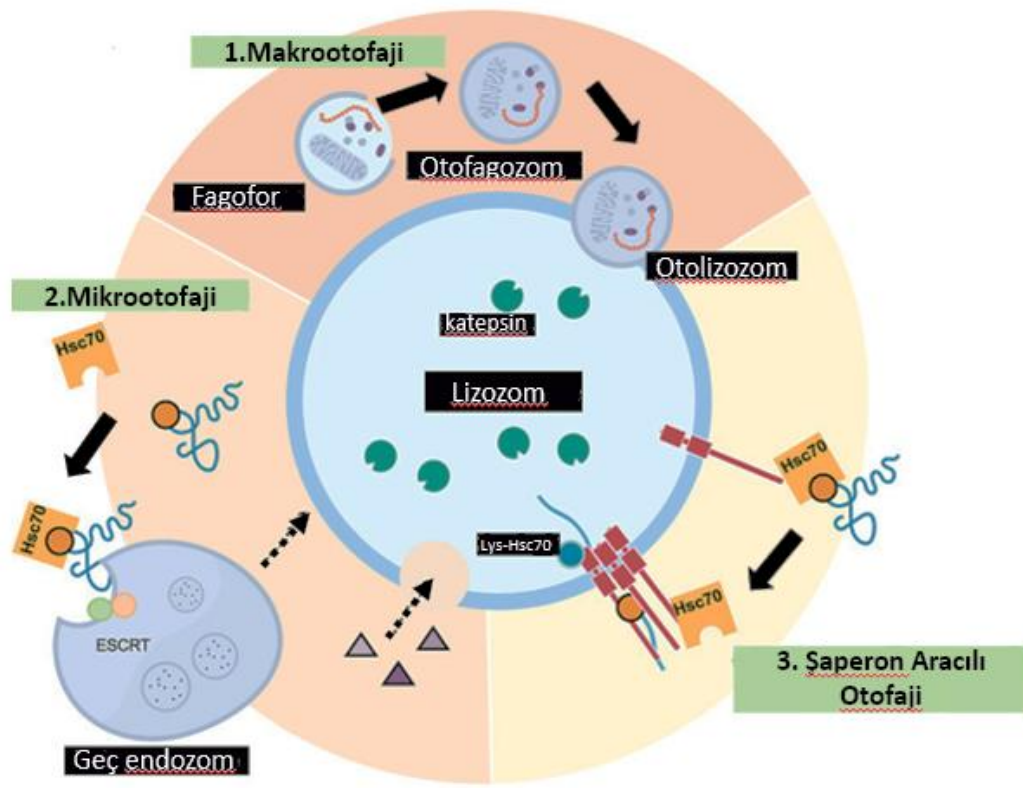
Memelilerde mikrootofaji, makro otofaji ve şaperon aracılı otofaji olmak üzere 3 otofaji yolu bulunmaktadır [88].

Mikrootofaji; Hsc70 proteini ısı şoku etkisinden bağımsız olup yapısal bir proteindir [89]. Mikrootofajide ve şaperon aracılı otofajide Hsc70 proteinine mutlaka ihtiyaç duyulmaktadır ancak

mikrotofajide lizozomal membran proteini olan ve 'Lamp2A' denen Hsc70 için bir reseptör görevi yapan proteine ihtiyaç duyulmamaktadır [90]. Mikrotofajide lizozom; belirli bileşenleri geç endozomlar ile direk olarak içine almaktadır [91, 92].

Şaperon aracılı otofaji; hücre içi materyallerin selektif olarak parçalandığı lizozomal bir aşama olup, belirli proteinleri seçip zamanında lizozoma göndererek parçalanma aktivasyonu başlatır [90, 93]. Mikro ve makrotofajiden farklı olarak vezikül yapılmasına bağımlı değildir [94].

Şekil 2.17.'de gösterildiği gibi makrotofaji; fagofor denilen ilk zar ile proteinleri içine alır, otofagozom ile vezikül oluşturarak yolağı kapatır ve proteazlar ile içerideki proteinleri parçalayarak otolizozomu meydana getiren lizozom ile kaynaşır [94].

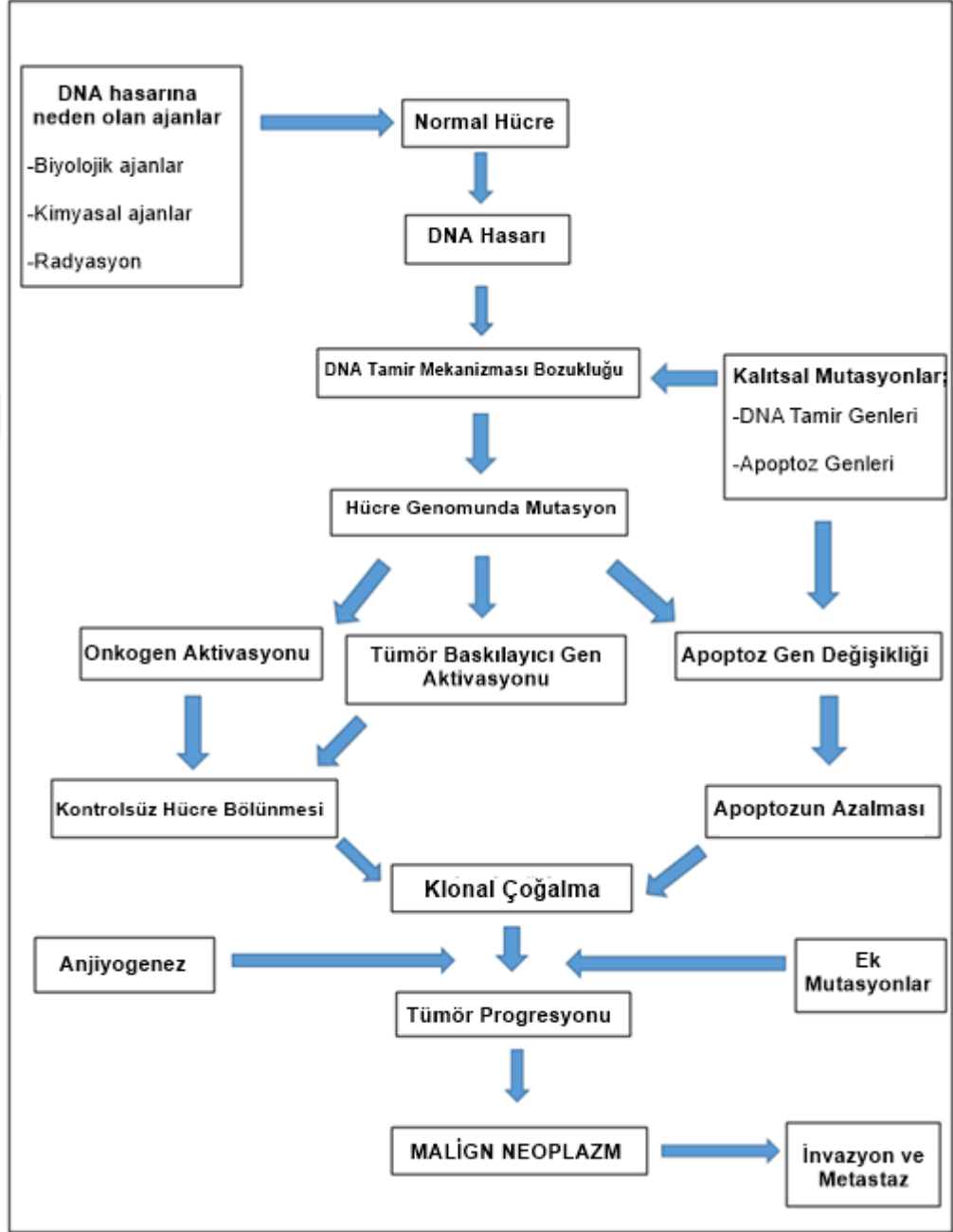


2.17. Karsinogenezis

Karsinogenez; onkogenlerin aktivasyonunu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu içeren kontrolsüz hücre bölünmesini kapsamaktadır [95]. Kontrolsüz hücre siklusu aynı zamanda apoptotik mekanizmaların inaktivasyonuna da yol açabilmektedir [52]. Kansere ilgili genlerde oluşabilecek kalıtsal veya somatik mutasyonlar karsinogenez tetikleyebilir.

Kanserin başlaması ve ilerlemesi olan bu durum, normal insan hücrelerinin malign hücrelere dönüşmesini sağlayan ilerleyici genetik değişiklikleri yansıtan bir süreç olarak kabul edilir. Şekil

2.18.'de gösterildiği gibi tümör başlangıcında anahtar rol oynayan genler: proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA onarım mekanizmalarında yer alan genlerdir [96].



Şekil 2.18. Karsinogenezise neden olan mekanizmalar [90].

Karsinogenez oldukça karmaşık bir süreçtir ve kontrolsüz hücre büyümesinin bir komplikasyonudur. Kanserın moleküler mekanizmalarının ve kanser oluşum sürecinin daha iyi anlaşılması kanserin erken tanısına yeni olanaklar sağlayabilecek, doğru tanı konması ve tanı

sonrası etkili tedavi yöntemlerinin ve yeni antitümöral stratejilerin gelişimine katkı sağlayacaktır [35].

2.18. Epigenetik değişiklikler

Epigenetik; gen regülasyonunda meydana gelen kalıtsal değişiklikler olup, DNA'nın kendi dizisini değiştirmeden ondan bağımsız olarak hareket edip DNA'yı ve DNA ile ilgili olan proteinlerin işlevini değiştiren mekanizma olarak tanımlanır [97, 98]. Epigenetik mekanizmalar doğrudan ve dolaylı yoldan olmak üzere iki yoldan gen ifadesinin kontrolünü yaparlar. Doğrudan gen ifadesinin kontrolünü yapan epigenetik mekanizmalar kromatin ve DNA düzeyinde olmak üzere iki farklı şekilde yapmaktadır. Histon modifikasyonları ve DNA metilasyonu gen ifadesinin düzenlenmesinde ve karsinogenezisde çok önemli role sahip olan epigenetik mekanizmalardandır. Dolaylı yoldan gen ifadesinin kontrolünü yapanlar ise; mikroRNA'lardır. Kromatin düzeyinde memeli gen ekspresyonunu etkileyen ve kalıtım kriterini karşılayan iki ana epigenetik değişim vardır. Bunlar; DNA metilasyonu ve histon modifikasyonudur [99].

2.18.1. DNA Metilasyonu

Genomda meydana gelen kalıtsal epigenetik değişiklikler olup, hücrel işleyişin ilerlemesinde önemli role sahiptir [100]. Bunlardan bazıları şunlardır: X kromozomunun inaktivasyonu, transkripsiyonun kontrolü, kromatin yapısı, embriyonik gelişimi kapsamaktadır [101, 102]. DNA metilasyonu; DNA metil transferazlar ve metil CpG bağlayıcı proteinler tarafından denetlenir [102]. CpG; sitozinle guanin arasına bir fosfat grubunun eklenmiş olmasını ifade eder [103]. CpG genomda özellikle dinükleotidlerin 5'-sitozin bazında gözlenir ve genellikle omurgalıların çoğunda görülen metilasyon şeklidir ve bu durum gen susturma olarak görülebilir [103, 104].

Sitozinde primidin halkasının 5 numaralı karbonuna metil grubunun eklemesi sonucunda gen ifadesinin regülasyonunda azalma meydana gelmektedir [105]. Genomda DNA metilasyonunun olmadığı bölgelerde CpG oranının yüksek olduğu ve bu bölgelerin histon modifikasyonlarıyla korunan bölgeler olduğu bilinmektedir [106]. CpG olmayan metillenme ise nöral gelişim sürecinde ve embriyonik kök hücrelerde görülmektedir [105, 107].

DNA metilasyonundaki bazı değişikliklerin önemli hastalıklarda rol oynadığı bilinmektedir bunlardan bazıları; parkinson, alzheimer, huntington ve amyotrofik lateral skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar ve kanserdir [103].

2.18.2. Histon Asetilasyonu

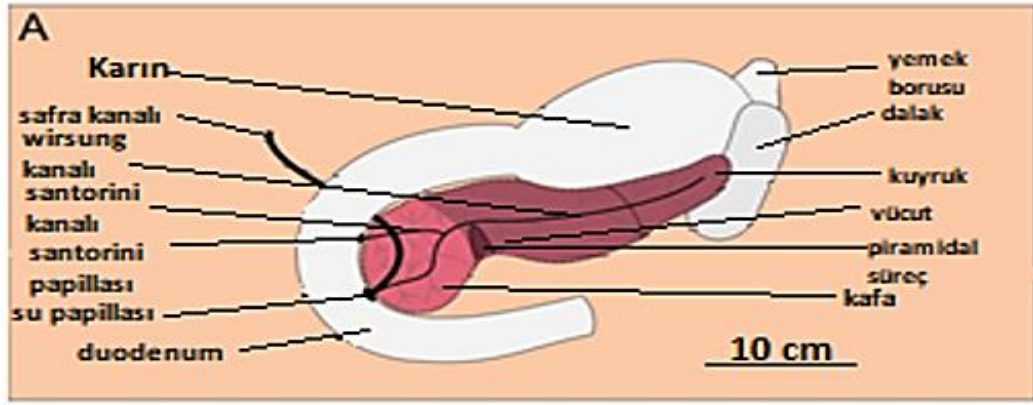
Histon asetilasyonu; histon proteinlerinin N-terminal kuyruklarının kimyasal modifikasyonlarıdır. Histon proteinlerinin, lizin asetilasyonu, arginin ve lizin metilasyonu veya serin fosforilasyonu gibi karmaşık transkripsiyon sonrası modifikasyonlarla DNA dizilerini düzenlediği anlaşılmıştır. Histon proteinlerinin kuyruklarında farklı modifikasyon kombinasyonlarının, gen aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan bir “histon kodu” oluşturduğu öne sürülmüştür [108]. Histon modifikasyon modelleri insan tümörlerinde değişime neden olur. Özellikle, histon H4 lizin 20 trimetilasyonu (H4K20me3) ve histon H4 lizin 16 monoasetilasyonu (H4K16ac) seviyeleri kanser hücrelerinde hem global olarak hem de belirli lokuslarda ciddi şekilde bozulmalara sebep olmaktadır [109].

2.19. Pankreatik Duktal Adenokarsinomunun Makroskopik ve Mikroskopik Özellikleri

Pankreasın büyük çoğunluğu (%95) gelişmiş epitel hücrelerden meydana gelmektedir [110]. Salgı epiteli pankreas kanal hücreleri (PDC) ve pankreatik asiner [111] hücreler ile fonksiyon göstermektedir [112]. Pankreas kanal epiteli; kollajen ve bu yapıyı çevreleyen tek katmanlı kübik hücrelerden oluşmaktadır[113]. Pankreatik İntraepitelyal Neoplaziler (PanIN), Prekanseroz lezyonlardan oluşmakta olup 3'e ayrılırlar: Bunlar; PanIN-1, PanIN-2 ve *PanIN-3*'dür. PanIN-1 yuvarlak ve oval çekirdekli düz lezyonları içermektedir. PanIN-2'de ise, papiller veya mikropapiller bulunur ve bazal membran tutunması bulunmamaktadır [114]. PanIN-3 ise PDAC'a tamamen bitişik olarak bulunmaktadır [115].

2.19.1. Pankreasın Anotomik Yapısı

Pankreas; baş, gövde ve kuyruktan oluşan, pembe sarı renge sahip duodenumun içini çevreleyen endoderm hücrelerin dorsal ve ventral tomurcuğunda gelişim göstermektedir [116]. Pankreas yaklaşık olarak 15-20 cm uzunluğunda 80-100 gr ağırlığında olup, kadın ve erkeklerde ağırlığı farklı olabilmektedir [117]. Şekil 2.19.'da gösterildiği gibi pankreas fibröz bir kapsül ile çevrili olup, lobüllere ayrılmıştır [118].



Şekil 2.19. Pankreasın anatomik yapısı [119].

Pankreas adacıkları; kanallar, damarlar, nöronlar ve hücre dışı matriks ile çevrili olan ekzokrin pankreas boyunca çevrelenmiş endokrinlerdir [120]. Pankreasın büyük çoğunluğu ekzokrin bezleri oluşturan asiner hücrelerden oluşurken, geri kalan kısmı ise; endokrin salgı yapan Langerhans adacıkları ve boşaltım kanallarından oluşur [117]. Ekzokrin salgı izotonik ve alkali özellikte olup, bileşik tubuloalveolar yapıdadır. Ekzokrin salgı bezlerinden yaklaşık olarak günde ortalama 1000-2000 ml arasında salgı salgılanır. Epitel hücreleri pankreasın ekzokrin kısmının sulu kısmını salgılayan, bu sıvının enzim kısmı ise, asinus hücreleri tarafından salgılanır [117]. Asiner hücreler hem lipaz, amilaz gibi sindirim enzimlerini hem de bunların öncüllerinin üretiminden ve salgılanmasından sorumludur [121].

Endokrin salgı bezleri; morfoloji ve boyanma özelliklerine göre; alfa, beta, gama, delta ve enterokromofin adı verilen hücrelerden oluşmaktadır. Pankreas hacminin %1-2 kadarını endokrin salgı bezleri oluşturur. Endokrin salgı yapan Langerhans adacıkları daha çok pankreasın kuyruk kısmına yönelmiştir [122]. Langerhans adacıklarından insülin ve glukagon salgılanır. Glukagon alfa hücrelerinden salgılanmakta olup, alfa hücreleri Langerhans adacığının %10-15'ini oluşturmaktadır. Ayrıca karaciğerde, glikojeni yıkarak kan şekerinin yükselmesine sebebiyet veren de glukagondur. Adacıkların %70'ini insülin salgılayan beta hücreleri oluşturur [123].

2.19.2. Pankreas Kanserinin Epidemiyolojisi

Dünya çapında pankreas kanserinin görülme sıklığında ve ölüm oranlarında önemli bir artış yaşanmaktadır. Küresel anlamda 2017 yılında 448000 vaka belirtilmiş olup bunun 232000 erkeklerden oluşmakta olup 1990 yılından bu zamana kadar, 2.3 katlık bir artış olduğu bildirilmiştir [124]. Buna ek olarak ölüm oranlarında da 2.3 katlık bir artış olmuş 196 000'den 441 000'e çıktığı belirlenmiştir [124]. Bu insidans artışının sebepleri arasında büyüyen, yaşlanan popülasyonlar ve gelişmiş ülkeler olduğu öngörülmektedir [125].

Pankreas kanseri, tanısı ve tedavisi oldukça zor olan, yüksek derecede metastatik özellikte olup oldukça kötü prognozlu ve sağkalım oranı düşük bir malignitedir. Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC), pankreas kanserleri içinde en sık görülen tip olup oldukça kötü prognoza sahip bir kanserdir [126]. PDAC lenfovasküler sisteme çok çabuk invaze olan diğer organlara kolayca metastaz yapabilen ve müsin üreten bir tümördür [127]. PDAC'ın en önemli patolojik özelliğinden birisi; desmoplazminin sebep olduğu fazlaca fibrotik stroma toplamasıdır [128].

Bir yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %18'dir. Hastalık, erken dönemde belirti vermediği için teşhis edildiğinde genellikle 3. veya 4. evrede olmaktadır. Erken teşhisin çok önemli olduğu bu tür patolojilerde, hastalık teşhisinden kısa süre sonra (6-12 ay) hasta kaybedilmektedir.

Bu durumun en önemli sebebi, pankreas kanserinin erken teşhisinde kullanılabilecek invazif olmayan moleküler biyobelirteçler (genler) tespit edilememiş olması bundan dolayı da hastalığın genellikle ileri veya metastatik safhada tespit edilebilmesidir [129]. Bu anlamda, pankreas kanseri tanısı konulmuş hastaların sadece %20 'si cerrahi rezeksiyon için uygunluk gösterir. Çünkü teşhis esnasında hastaların çoğunda lokal ve uzak metastaz görülür.

2.19.3. Pankreas Kanserinin Oluşumundaki Faktörler

PC için en büyük genetik risk faktörleri arasında: Ailesel Pankreas Kanseri (FPC), Peutz-Jehgers Sendromu (PJS), Kalıtsal Pankreatit ve *p16-Leiden* mutasyonları bulunur [129]. İdiyopatik PC için en büyük risk faktörü, kilo kaybı veya sigara öyküsü olan 50 yaşın üzerinde yeni başlayan diyabettir. Sigara içmek tüm kanserler olduğu gibi pankreas kanserinde de kişinin riskini oldukça artırmaktadır [115].

2.19.4. Peutz–Jeghers Sendromu

Peutz Jeghers otozomal dominant bir hastalık olup, gastrointestinal sistem boyunca belirgin poliplerin gelişimi ile ilgilidir. Klinik tanısı konulmuş kişilerde *STK11*'e bağlı bir mutasyon varlığı söz konusudur [130]. Bu durum da özellikle gastrointestinal kanser türleri ve meme kanseri ile ilişkilidir. PJS'li kişilerde kanama, kanalın tıkanması ve kanalda boşluk oluşması sık görülen belirtilerdir. PJS hastaları hem gastrointestinal çoklu polip çözünürlüğünü hem de, hayatları boyunca düzenli kanser taramasını; kolonoskopi, üst endoskopi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme veya pankreas ultrasonu, göğüs röntgeni, mamografi ve ultrason ile pelvik muayeneyi yaptırmaları gerekmektedir [111].

2.19.5. Ailesel Pankreas Kanseri

Pankreas kanseri teşhisi konulan bireylerin aile öykülerine bakıldığında %10'unda belirgin bir biçimde hastalık öyküsü olduğu anlaşılmaktadır [131]. Ailesel pankreas kanseri en az

birincil dereceden akrabaları içermektedir. Belirli genlerden birisi olan *BRCA2* geni pankreas kanseri riskinin artmasıyla ilişkilidir. Batı ülkelerinde *BRCA1* ve *BRCA2*'nin sıklığı, PDAC hastalarında %4,5 ile %8 oranında olmakla birlikte aile kanseri öyküsü olan kişilerde bu oran %26 oranında artış göstermektedir [132].

2.19.6. Kalıtsal Pankreatit

Kalıtsal pankreatit (KP) %80 otozomal olan dominant bir hastalık türüdür. Çocukluk döneminde kronik pankreatite doğru tekrar eden akut pankreatit atakları ile ilişkilendirilmektedir. Bu hastalarda PDAC oluşma riski oldukça yüksektir [133]. KP için tanı biçimi Avrupa Kalıtsal Pankreatit ve Ailesel Pankreatik Kanseri Kayıt Rehber tarafından belirlenmiştir [134]. Ancak hastaların %20'sinde altta yatan etken henüz belli değildir. Tüm KP çalışmalarında tütün tüketimi PDAC gelişimi için yüksek derecede bir risk faktörü olmakla birlikte ve sigara tüketenler arasında riskin iki katına çıktığı bildirilmiştir [135].

2.19.7. p16-Leiden mutasyonları

CDKN2A-p16-Leiden mutasyona sahip olan kişilerde PDAC oluşum riski oldukça yüksek olup bu oran %15-20'dir [136, 137].

2.20. Pankreas Kanseri Tipleri

Kanserler morfolojik olarak birbirlerine yakın olsalar da çok farklı klinik özelliklere sahip olabilmektedirler. Bununla beraber tedaviye farklı yanıt verebilme özellikleri de mevcuttur. Moleküler alt tipleri tespit etmek klinik öncesinde tedavi şekline yardımcı olmaktadır. Moleküler alt tipleri belirlenmemiş kanserlerin moleküler patolojisindeki değişiklikler hastalığın klinik seyrini önemli ölçüde belirlemektedir [138].

Genom ebadında transkriptomik analizler ile yapılan çalışmalara göre; yarı mezenkimal, skuamöz ve bazal benzeri olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır [59, 139, 140].

2.21. Pankreas Kanserinin Görülme Sıklığı

Pankreas kanseri genelde ileri yaşlarda daha sık görülmektedir, 30 yaşın altında ise nadir olarak görülür. Vakaların %90 'ı 55 yaşın üzerinde görülmektedir. PDAC'ın büyük bir çoğunluğu 70 yaş ve üzeri kişilerde tanımlanmaktadır [141]. Yaş bakımından görülme oranı ülkeler arasında çeşitlilik göstermektedir. Örneğin Hindistan'da 60 yaş ve üzeri en sık görülmesine rağmen, Amerika Birleşik devletlerinde 70 yaş ve üzeri daha sık görülür. Dünya genelinde erkeklerin

pankreas kanseri insidansı, kadınlara göre daha yüksektir. Bu durum yüksek gelişme gösteren ülkelerde daha fazladır.

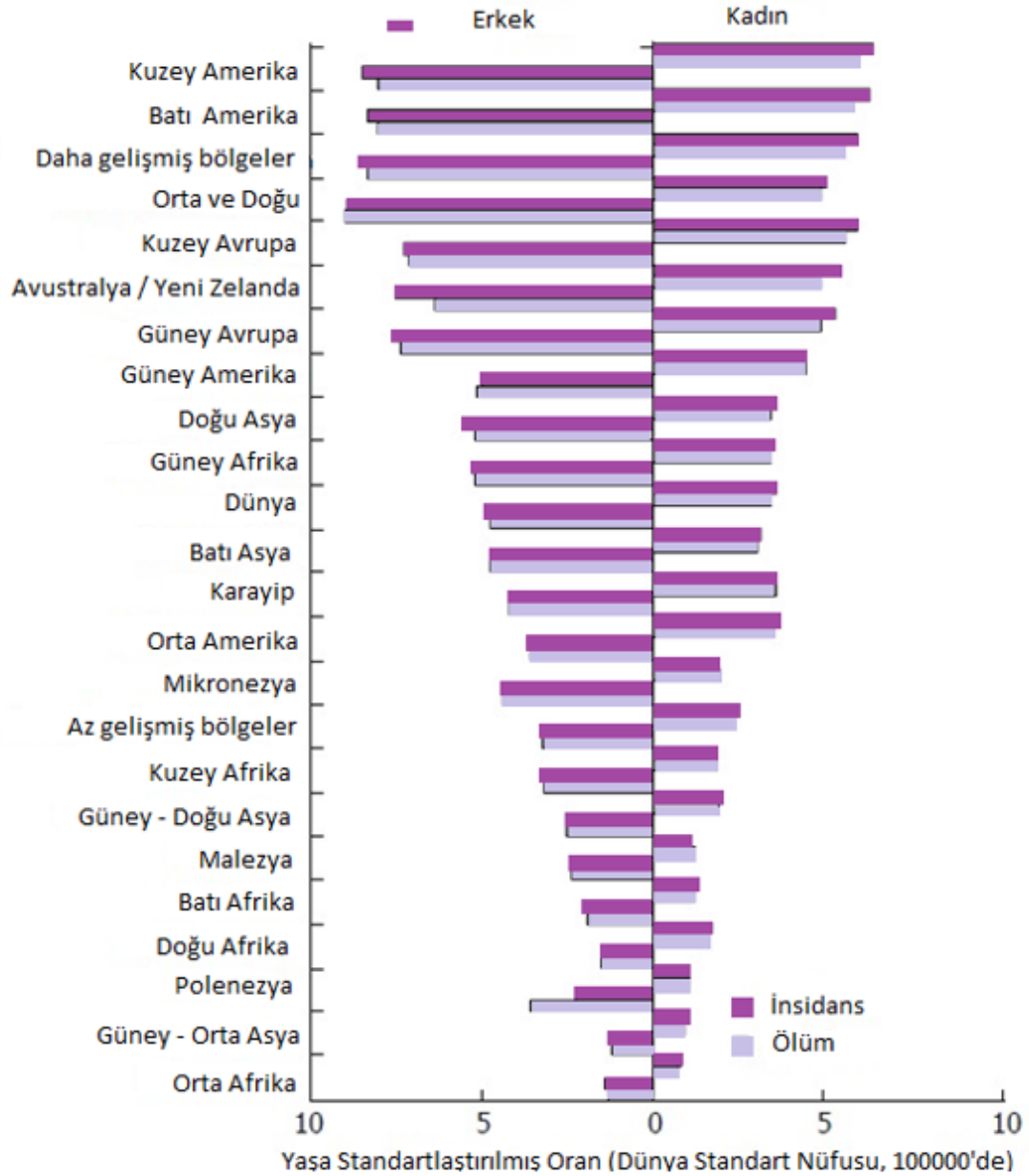
Pankreas kanseri riskinin farklı kan gruplarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Buna göre; kan grubu A olan hastalar ile kan grubu 0 olan hastaların, B kan grubu veya AB kan grubu olanlara göre daha riskli oldukları belirlenmiştir. Ayrıca kaynaklara göre, pankreas kanserinin aile öyküsü olan bireylerde olmayanlara göre 9 kat fazla olduğu belirtilmiştir. Diyabet de pankreas kanseri için bir risk faktörüdür. Ancak pankreas kanserinin de yeni diyabet başlangıcı olarak kendini gösterebildiği unutulmamalıdır. Pankreas kanserinin sıklığında genetik bazı sendromlar (herediter pankreatit, herediter kolon kanseri, Peutz-Jeghers sendromu, meme kanseri) risk faktörleri arasında olmakla birlikte sigara içmek, aşırı alkol kullanımı, obezite ve yaşam tarzı farklılık göstergesi olarak kabul edilir [142].

2.21.1. Pankreas Kanserinin İnsidansı

Pankreas kanserinin insidansı cinsiyete, yaşa, beslenme şekline, bölgelere ve o bölgede yaşayan bireyler arasında önemli farklılıklar gösterir.

2.21.2. Pankreas Kanserinin Bölgelere Göre İnsidansı

2021 yılında kaydedilen verilere göre; en yüksek görülme sıklığına sahip ülkelere göre en az olan ülkelere doğru sıralandığında Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda, Orta Afrika ve Güney-Orta Asya olduğu gözlenmiştir (Şekil 2.20). En yüksek orana sahip Çek Cumhuriyeti, en düşük orana sahip olan Pakistan'dan 20 kat fazla insidanda sahiptir. 2012'de ortaya çıkan yeni vakaların yarısından daha fazlası (%55,5) daha gelişmiş bölgelerde kaydedilirken, vakaların %41'i Asya ülkelerinde belirlenmiştir [143].



Şekil 2.20. Pankreas kanserinin bölgelere göre insidansı [23].

2.21.3. Cinsiyete göre dağılımı

Pankreas kanserinin insidansı cinsiyete göre değerlendirildiği zaman önemli farklılıklar mevcuttur. Erkeklerde kadınlara oranla daha yüksektir. Bunun sebebi ise; erkeklerdeki steroid düzeylerinin kadınlara göre daha düşük olması olarak gösterilmektedir [144]. Steroidin pankreas kanserine karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.

Erkeklerde pankreas kanseri gelişme riskinin en yüksek görüldüğü bölgeler; Ermenistan, Çek Cumhuriyeti, Slovakya, Macaristan, Japonya ve Litvanya iken, yakalanma riski Pakistan ve Gine en düşüktür.

Kadınlarda pankreas kanseri insidansının en yüksek olduğu bölgeler Kuzey Amerika Batı Avrupa, Kuzey Avrupa ve Avustralya/Yeni Zelanda'dır. En düşük orana ise Orta Afrika ve Polinezya sahiptir. Macaristan, Danimarka, Finlandiya ve Ermenistan'da yaşamlarını sürdüren kadınların pankreas kanserinden ölme riski en yüksek iken, Tanzanya, Gine, Kamerun, Namibya ve Pakistan'daki kadınlar en düşük hastalık riskine sahiptir [143]. Her iki cinsiyet için de yaşa bağlı olarak insidansı artmakta olup, aynı zamanda teşhis edilen hastaların %90 'ına 55 yaşından sonra tanı konmaktadır [47, 145, 146].

Pankreas kanserinin insidansındaki bu farklılığın nedeni tam olarak bilinmemekle beraber yaşam tarzı, çevresel faktörler, yaşlanma ve genetik yatkınlığın büyük ölçüde etkilediği düşünülmektedir [146-148]. Erkeklerde tütün kullanımı pankreas kanseri insidansının yüksek olması sebeplerinden biri sayılmaktadır [149]. Bunun yanı sıra kadınların bu tür kötü huylu tümörlere daha az eğilimli olması ya da çevrenin meydana getirdiği risklere daha az maruz kalmaları da önemli bir etken olabilmektedir [147, 150].

2.22. Pankreas Kanserinin Semptomları

Pankreas kanserinin semptomları arasında hastalarda; sarılık, depresyon, iştahsızlık ve sebebi bilinmeyen bir kilo kaybı görülür. Pankreas kanserli hastaların %70-%80'inde epigastriumda ağrı olur [151].

2.23. Pankreas Kanseri Risk Faktörleri

Aşırı hayvansal yağ ve et tüketiminin, pankreas kanserinin gelişimini tetiklediği bilinmektedir [152, 153]. Sigara kullanımı, obezite, diyabet, fiziksel hareketsizlik gibi etmenler hem risk faktörleri arasında sayılır hem de pankreas kanserine yakalanan kişilerin hayatta kalma oranını azaltmaktadır [42, 43, 154]. Sigara dumanının polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N - nitrozaminler, aromatik aminler, 1,3-bütadien, benzen, aldehitler ve etilen oksit olmak üzere bir çok kanserojen içerdiği bilinmektedir [155].

Özellikle sigara içenlerin içmeyenlere göre %75 oranında pankreas kanseri riskine sahip olduğu ayrıca pasif içicilerin de %50 oranında bu riske sahip olduğu belirlenmiştir [156, 157]. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki insanların alkollü içecek, doymuş yağ oranı ve kalorisi fazla olan besinleri tüketmesi risk faktörleri arasında sayılmaktadır [156, 158]. Fazla miktarda kuruyemiş tüketen kadınlarda pankreas kanseri riskinin anlamlı düzeyde düştüğü bilinmektedir [159, 160]. Fazla miktarda meyve sebze tüketiminin pankreas kanseri görülme riskini azalttığı tespit edilmiştir [161]. Akdeniz diyetinin sağlıklı yaşam şartları ile desteklendiğinde pankreas kanseri riskini azalttığı belirlenmiştir [162]. Oysa yüksek ısılarda pişirilen kırmızı etlerin de pankreas kanseri riskini artırdığı rapor edilmiştir [163].

2.24. Pankreas Kanserinin Evreleri

Gümümüzde pankreas kanserinin evrelerinin tespit etmek için; tümör-nod-metastaz sınıflandırılması kullanılmaktadır. Bu evreleme ile; tümörün metastaz durumu, eğer metastaz yapmış ise uzak mı yoksa yakın bölge ya da bölgelere mi yaptığı, tümörün boyutu, şekli, nodal olmayan metastatik durumu ortaya çıkarılmaktadır [164]. Doğru evreleme hastalığın prognozu için çok önemlidir.

Grup evreleme kriterleri			
Evre I	T 1-2	N0	M0
Evre II	T3	N0	M0
Evre III	Herhangi bir T	N1	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1
T1	Primer tümör pankreas dışına yayılmamış		
T1 a/b	Boyutu/ >2 cm		
T2	Duodenuma, safra kanalına veya peripankreatik dokulara sınırlı direkt yayılım		
T3	Tümör mideye, dalağa, kolona ya da komşu kan damarlarına yayılmış		
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var		
M0	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		

Şekil 2.21. Tümör evreleme şeması [165].

Şekil 2.21.'de gösterildiği gibi pankreas kanseri radyolojik veya klinik açıdan 3 evreye ayrılmaktadır:

- ✓ Evre I: T1-T2, secilmiş T3, NX, MO
- ✓ Evre II: Lokal ileri evre; T3-T4, NX-1, MO
- ✓ Evre III: Metastatik evre; T1-4, NX-1, M1

Evre 1 ve evre 2 kanserler cerrahiye uygun olan tümörler olup, bölgesel lenf nodu uzak metastazı olmayan tümörlerdir. Evre 3 ve evre 4 kanserler ise; cerrahi şansı fazla olmayan tümörler olup, bunlar ya uzak metastaz yapmışlardır ya da majör olarak arterial tutulumları mevcuttur. Evre 3 olan tümürlü hastaların hayatta kalma oranları 8-12 ay olup, 4. evre tümürlü hastaların sağ kalım oranları ise 3-6 aydır. Pankreas kanserine en çok rastlanan uzak metastaz bölgeleri karaciğer, peritonium ve akciğerler olup, en az metastazın görüldüğü yer ise kemiktir [166].

2.25. Pankreas Kanserinin Teşhisinde Kullanılan Yöntemler

Pankreas kanserinin teşhisinde kullanılabilecek invazif olmayan bir tarama testi yoktur. Pankreas kanserinde *CA 19-9*, *P53*, *K-ras* ve mikroRNA'lar en sık incelenmiş ve pankreas kanseri ile ilişkilendirilmiş tümör markırlarıdır. Tanıda en çok tercih edilen *CA 19-9* serum markırlarıdır. Ancak bu belirtecin pankreas kanserine spesifitesi ve sensitivitesi şüphelidir. Serum karbohidrat antijeni *CA 19-9* (*CA 19-9*) tümör ilişkili bir antijen olup, Lewis a-antijeni olarak da bilinir.

CA 19-9 normal şartlarda pankreas, safra kanalı hücreleri, mide, kolon, endometrium, tükrük bezleri ve bronşiyal epitelyum hücrelerinden salgılanır. *CA 19-9*, pankreas kanseri tanısında en yaygın olarak kullanılan tümör markeridir(Tablo 2.1.). *CA 19-9*, sadece pankreas adenokarsinomları için spesifik olmayıp gastrointestinal sistemin de neden olduğu birçok tümörde de yükselebilir. Aynı zamanda *CA 19-9*'un kan grubu antijenleri ile de ilişkisi vardır. *CA 19-9* sentezi genotip olarak Lewis a-b- olan kişilerde, oluşmaz. Bu nedenle bu hasta grubu yanlış sonuçlarla değerlendirilebilir. Yine *CA 19-9* küçük pankreatik tümörlerde hassas değildir.

Tablo 2.1. Tümör belirteçlerin pankreas kanserinde görülme sıklığı [167].

ANTİJEN	TİP	Pankreas kanserindeki sıklığı (%)
CA 19-9	Karbonhidrat antijen	90
CA 242	Karbonhidrat antijen	90
Ca Sm	Onkoprotein	87
CEA	Onkofetal protein	85-90
GA 733	Glikoprotein	85
HER-2/neu	Onkoprotein	27-80
K-ras	Onkoprotein	75-100
MUC-1	Glikoprotein	90
P 53	Tümör supresör gen	40-70

CA: Karbonhidrat antijen, **CEA:** Karsinoembriyonik antijen, **GA:**Glikoprotein antijen.

Son yıllarda yeni tümör markırları üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Hücre çoğalması ve büyümesinde oluşan genetik değişikliklerin kanser gelişimindeki etkisi bilinmektedir. Onkogenlerin fonksiyonu, uyarılmasındaki artışı, tümör baskılayıcı genlerin inhibe olması, DNA tamir mekanizmalarında meydana gelen değişimler ve apoptozdan sorumlu genlerdeki bozukluklar kanserin temel moleküler patolojisinden sorumludur [168].

Diğer bir belirteç olan *KRAS* ise bir guanin nükleotid bağlanma proteini olarak büyüme faktörü sinyal iletiminde görev alır. Bu fonksiyonu ile hücre çoğalması artar ve apoptoza karşı direnç gelişir. *KRAS* insan kanserleri içerisinde en sık tespit edilen mutasyona uğramış onkogendir.

Pankreatik duktal orijinli kanserlerin yaklaşık %90'ında *KRAS* onkogeninde mutasyon tespit edilir ve karsinogenezin özellikle ilk evrelerinde önem kazanır [169]. *KRAS* mutasyonu sadece

pankreas doku hücrelerinde değil, pankreatik sıvıda duodenal fırça biopsilerinde, kan ve gaita örneklerinde tespit edilebilir. Hücresel tipi arttıkça *KRAS* onkogen mutasyon oranı da artmaktadır.

MiRNA'lar, küçük kodlanmayan RNA molekülleridir. 20-22 nükleotitden oluşan ve gen ekspresyonlarını düzenleyen moleküllerdir. Pankreas tümör gelişiminde önemli rol oynarlar. Ayrıca onkogenik ve tümör süpresör özellikleri bulunmaktadır [168].

Yukarıda bahsedilen tüm biyobelirteçlerden hiçbirisi pankreas kanserine özgü belirteçler değildir. Özellikle *KRAS* ve *P53* insanlarda görülen tüm kanserlerin neredeyse %50 sinde mutasyona uğramıştır. CA19-9 un klinik kullanımında birçok şüpheli sonuç ve tereddütler bulunmaktadır.

Tablo 2.2. Pankreas kanserindeki tanısal metodlar [167].

Test	Sensitive (%)	Spesitive (%)
USG	80	90
EUS	90	90
BT	90	95
ERCP	90	90
MR	90	90
İİAB	90	98

Tablo 2.2.'de görüldüğü gibi günümüzde pankreas kanserinin tanısında; Ultrasonografi erişimi kolay, pahalı olmayan ve tekrarlanabilir olması sebebiyle vakaların çoğunda pankreasın değerlendirilmesinde en çok tercih edilen bir görüntüleme şeklidir [170]. Ayrıca ultrason, tomografi, manyetik rezonans ve ince iğne aspirasyonu kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler, hastalığın erken teşhisi için bir ipucu vermemektedir. Pankreas kanserinin moleküler alt tiplerinin belirlenmesi konusunda son zamanlarda yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Bu çalışmaların bazılarında bu kanserin 3 farklı moleküler alttipi olduğu bazılarında ise dört farklı moleküler alttipi olduğu ifade edilmiştir. Ancak bu konuda yapılan çalışmalar daha çok yeni olduğu için bu konuda yeterince veri bulunmamaktadır. Bundan dolayı gelecek açısından pankreas kanserine spesifik olan, invazif olmayan, klinik uygulamaya geçme potansiyeli yüksek doğru ve özgül olabilecek bir moleküler biyobelirtecini geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir [151].

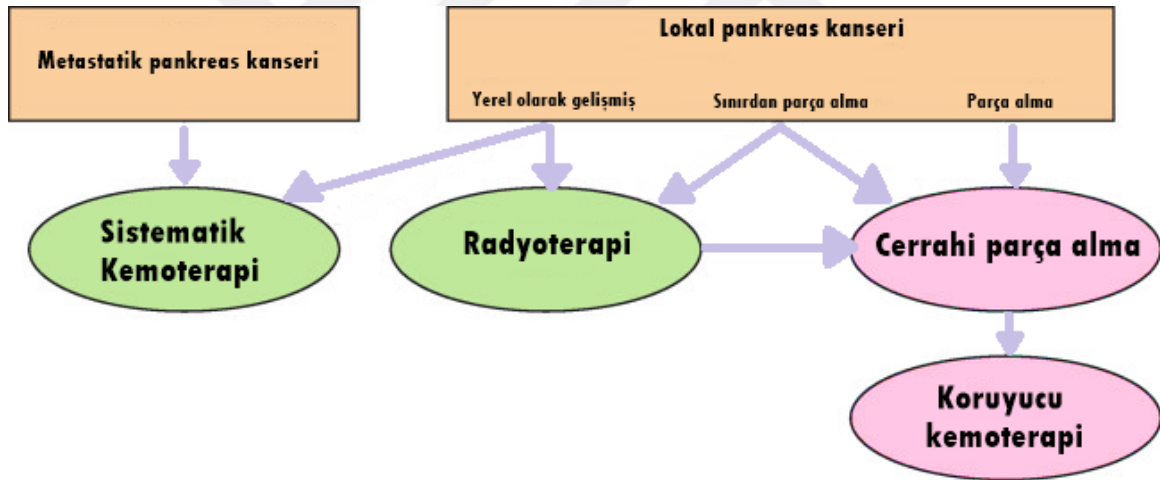
2.26. Pankreas Kanserinin Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

Pankreas kanserinin tedavisi tümörün evresine çıkarılma durumuna göre kullanılan tedavi yöntemleri farklılık göstermektedir. Pankreas kanserinin tedavisinde her ne kadar kombinasyon

kemoterapileri uygulansa da hastanın yaşam süresinde çok iyi gelişme kaydedilmemiş olup, anti anjiyogenik ilaçların immün kontrol hedeflerine katkısı az olduğu bilinmektedir [171, 172].

Sağ kalımda aktif rolü olan mitojenle aktive edilmiş MAPK yolağı ve hücre büyümesi, farklılaşmasında rolü olan fosfoinositid 3 kinaz inhibitörünün sinerjik etkilerinin aktivasyonunun belirleyici olduğu düşünülmektedir [60, 173]. MAPK sinyal yolağı; RAS, RAF, ERK ve MEK uyarı moleküllerini içerir. RAS proteinine tirozin kinaz enzimi bağlanır ve bu şekilde aktivasyon başlatılır [173].

Aktivasyonu gerçekleşen Ras proteini de RAF proteinine sinyal ileterek membrana toplanmasını sağlayarak aktive eder [174]. Raf proteini de MEK proteinini fosforile ederek, transkripsiyon faktörü olan ERK proteinini indüklemektedir [173, 175]. Pankreas kanserinde kemoterapinin etkili olmamasının sebeplerinden birisi de; desmoplazmiden dolayı fibrotik stromanın birikmesi sonucunda iç basıç tetiklenir bu şekilde kan damarları sıkıştırılır. Bu da, hipoksik ve hipovasküler bir ortam hazırlayıp, ilaç alımını ve kan damarı kompresyonunu engellemektedir [176].



Şekil 2.22. Pankreas kanserinin tedavi yöntemleri [127].

2.26.1. Palyatif Bakım

Şekil 2.22.'de gösterildiği gibi, PC hastaları için palyatif tedaviler çok önemlidir. PC'li hastalarda duodenumun tıkanması durumunda cerrahi, radyolojik veya endoskopik tedaviler gerekli olabilmektedir. Bu anlamda paltayif bakım PC için oldukça gereklidir [127].

2.26.2. Kemoterapi

Tümörün tamamı cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra uygulanan kemoterapi; lökovorin, 5-florourasil, irinotekan ve oksaliptatin (*MFOLFIRINOX*) 6 aylık adjuvan kemoterapi veya 6 aylık gemitabin ve kapesitabin olarak bilinmektedir [177].

2.26.3. Metastatik Evrede Kemoterapi

Metastatik PC'li hastalarda önerilen kemoterapi ile kombinasyon halinde folfirinok, gemitabin ve *NAB*-paklitaksel olarak bilinmektedir. Hasta kombine kemoterapiye uygun olmadığında ise gemitabin önerilmektedir [177].

2.26.4. Radyo Terapi

Radyasyon tedavisi, kanserli hücreleri ortadan kaldırmak veya onlara zararlı olan X-ışınlarını vererek çoğalmasını engellemektedir. Radyoterapi lokal olarak ileri PC hastalarda daha çok tercih edilmektedir [178, 179]. Klinik açıdan 4 türlü radyo tedavi şekli bulunmaktadır;

- ✓ Gama ışınları, X ışınları, elektronlar ve ağır parçacıkların yayılımını yapan harici radyasyon tedavisi. Eğer tümörü çevreleyen dokunun çoğunluğu hasar görmüşse böyle bir durumda tedavi birden fazla kürü gerektirmektedir.
- ✓ Brakiterapi; kanserli bölgeye doğrudan ışın verebilmek için vücudun içerisine küçük radyoaktif kaynakların yerleştirilmesi işlemidir [180].

2.26.5. Cerrahi Yöntem

Pankreas kanserinde tedavi şeklinin en etkin yollarından birisi cerrahi tedavi olarak bilinmektedir. Hastanın yaşama şansı önemli ölçüde uzatılabilir. Cerrahi yöntem, ameliyat edilebilecek, ameliyat edilemeyecek veya yakın ve uzak metastaz olarak ayrılabilir [127].

2.26.6. Neoadjuvan Tedavi

Neoadjuvan tedavi; cerrahi öncesi tümörü cerrahiye uygun hale getirerek küçültme yöntemi olarak bilinmektedir, bu durum cerrahiye kolaylaştırmaktadır [181].

2.26.7. İmmünoterapi

PC tümörlerinin çevresi immünosupresif bir çevre oluşturduğu için PC hastaları için aktif olarak kullanılan bir immüno terapi sistemi bulunmamaktadır. *CTLA-4* veya *PD1* inhibitörlerinin de PC'de etkisinin olduğu düşünülmemektedir [182].

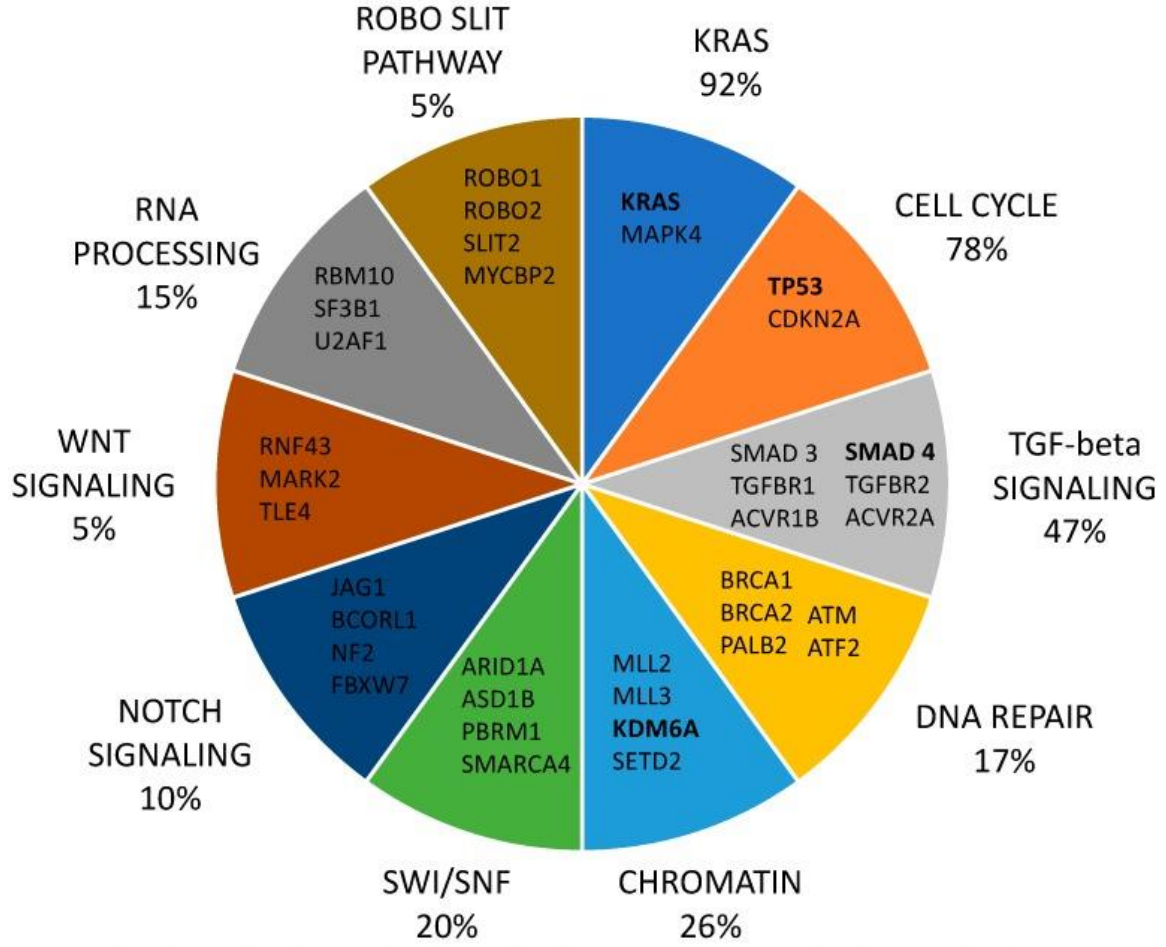
2.27. Pankreas Kanserin Mortalitesi

Pankreas kanserinin mortalitesi ile insidansı neredeyse aynıdır. Çünkü pankreas kanseri en hızlı gelişen ve agresif olan tümörlerden biridir [154, 183]. Her iki cinsiyette de ölüm oranı yaşla birlikte artarak gelişim göstermektedir [143, 145]. 2012 yılında kadınlarda pankreas kanserinden kaynaklı en yüksek ölümün yaşandığı ülkeler Macaristan, Malta, Uruguay, Kuveyt ve Avusturya olarak tespit edilirken, ölüm oranının en düşük olduğu ülkeler ise, Belize ve Amerika Birleşik devletlerine bağlı bir eyalet olan Georgia olarak kaynaklara geçmiştir [143]. Pankreas kanserine bağlı ölümlerde vejeteryan, vegan ya da az et tüketen kişilerin, yüksek miktarlarda kırmızı et ya da işlenmiş et tüketenlere oranla daha az ölüm oranına sahip olduğu bildirilmiştir[184]

Erkeklerde ölüm oranının en yüksek olduğu ülkeler ise; Letonya, Çek Cumhuriyeti ve Macaristan önde gelmektedir. Erkeklerde ölüm oranının en düşük olduğu ülkerin başında ise, Bahreyn, Belize ve Dominik Cumhuriyeti gelmektedir.

2.28. Pankreas Kanseri ile İlişkilendirilmiş Genler

Pankreas kanseri ile ilişkilendirilmiş genler literatürde mevcut olup bunlardan bazıları; *TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A*, *ARID1A*, *ROBO2*, *KDM6A* ve *PREX2* genleridir [185, 186]. Şekil 2.23.'de gösterildiği gibi pankreas kanseri genomlarında *KRAS*'ın %90, *CDKN2A*'nın %90, *TP53*'ün %70 ve *SMAD4* geninin %55 oranında mutasyona uğradığı tespit edilmiştir [187]. *SMAD4* geninin mutasyonu kötü prognoz ve artmış bir metastatik olgu ile ilişkilendirilmiştir [188].



Şekil 2.23. Pankreas kanserinde biyobelirteç olarak rol alan genler ve bunların mutasyon sıklığı [187].

KDM6A ve *PREX2* genleri %10'dan daha fazla tekrar eden yapısal varyantlara sahip olan iki gen olarak tanımlanır [189]. *KDM6A*, *KMT2C* ve *KMT2D* pankreas kanseri de dahil olmak üzere tüm kanserlerde en çok mutasyona uğramış epigenetik düzenleyicilerden biridir [185, 190-193]. Onkojen özelliği olan *KRAS* metastatik kanserin gelişiminde lezyonların histolojik yapısında genetik ve epigenetik değişikliklere sebep olur [194].

2.29. Tezin Amacı

Heterojen bir malignite olan pankreas kanserinde tümör ve kan dokusunun genom boyu gen ifade profilinin çıkarılması ile hastalığın ortaya çıkış ve ilerleme sürecinde rol oynayan moleküler mekanizmalar belirlenebilir. Belirlenen bu moleküler mekanizmaların, bu hastalık için risk analizi yapılmasında, erken evrede teşhis edilmesinde ve prognozunun değerlendirilmesinde kullanılıp kullanılmayacağı bu araştırmanın temel sorusudur. Çalışma sonucunda tespit edilen biyobelirteç adayları genler ile pankreas kanserinin ortaya çıkmasında rol oynayan moleküler mekanizmalar

belirlenebilir. Bu şekilde invazif olmayan moleküler bir analiz ile (gen ifade analizi) bu patolojinin erken evrede teşhis edilebilmesi amaçlanmaktadır.

Pankreas kanserinin genom boyu ifade analizi ile hastalığın seyri sırasında hangi moleküler yolların ve genlerin etkilendiği tespit edilecek ve bu şekilde hastalığın prognozunun değerlendirilmesinde biyobelirteçler kullanılabilir. Bu şekilde yapılan moleküler tiplendirme kullanılarak kişiselleştirilmiş tedavi uygulamaları ve bu patolojinin moleküler alt tipine en uygun terapilerin belirlenmesi konusunda klinik kullanıma geçme potansiyeli çok yüksek olan verilerin üretilmesi önemli bir çıktı olacaktır.

Erken teşhisin sağkalım süresini ve hastanın yaşam kalitesini yüksek oranda arttıracığı açıktır. Bu anlamda insanlara klinik açıdan çok önemli katkıları olacağı aynı zamanda bilimsel literatürdeki eksikleri (biyobelirteç tespiti, hastalığın moleküler mekanizması hakkındaki eksiklikler) doldurmak adına önemli bir katkı sağlayacağı beklenmektedir.

Elde edilecek veriler; gerek laboratuvar ortamında uygulanabilecek donanım gerektiren duyarlılığı yüksek tanı kitleri gerekse altyapı gerektirmeden sahada uygulamaya yönelik, kullanımı ve sonucu yorumlaması kolay, kısa sürede sonuç veren, ortam şartlarına dayanıklı ve maliyeti düşük tanı kitlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir.

3. MATERYAL VE METOD

Yapılan bu tez çalışmasında pankreas kanserinin erken teşhisinde kullanılabilecek biyobelirteç gen adayları belirlenip moleküler düzeyde incelenmiştir. Bu amaçla ana materyal olarak bireylerden alınan periferik kan örnekleri ve FFPE doku örnekleri kullanılmıştır. Çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi FF.21.04 protokol numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışma Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 22.11.2018 tarihli kararı ile etik olarak uygun bulunmuştur.

3.1. Verilerin Toplanması

Pankreas kanserine ait genom boyu gen ifade mikrodizin verileri açık kaynak olarak bulunan NCBI GEO Data Set ve Array Express veritabanlarından alınmıştır. Bu veritabanlarında daha önce yapılmış olan mikrodizin çalışmalarının ham verileri mevcuttur. Bu veriler diğer araştırmacıların kullanımına açıktır. Analizi yapılması planlanan veriler tespit edilmiştir. Bu verilerden bazıları ve bunların özellikleri aşağıdaki Tablo 3.1.'de verilmektedir.

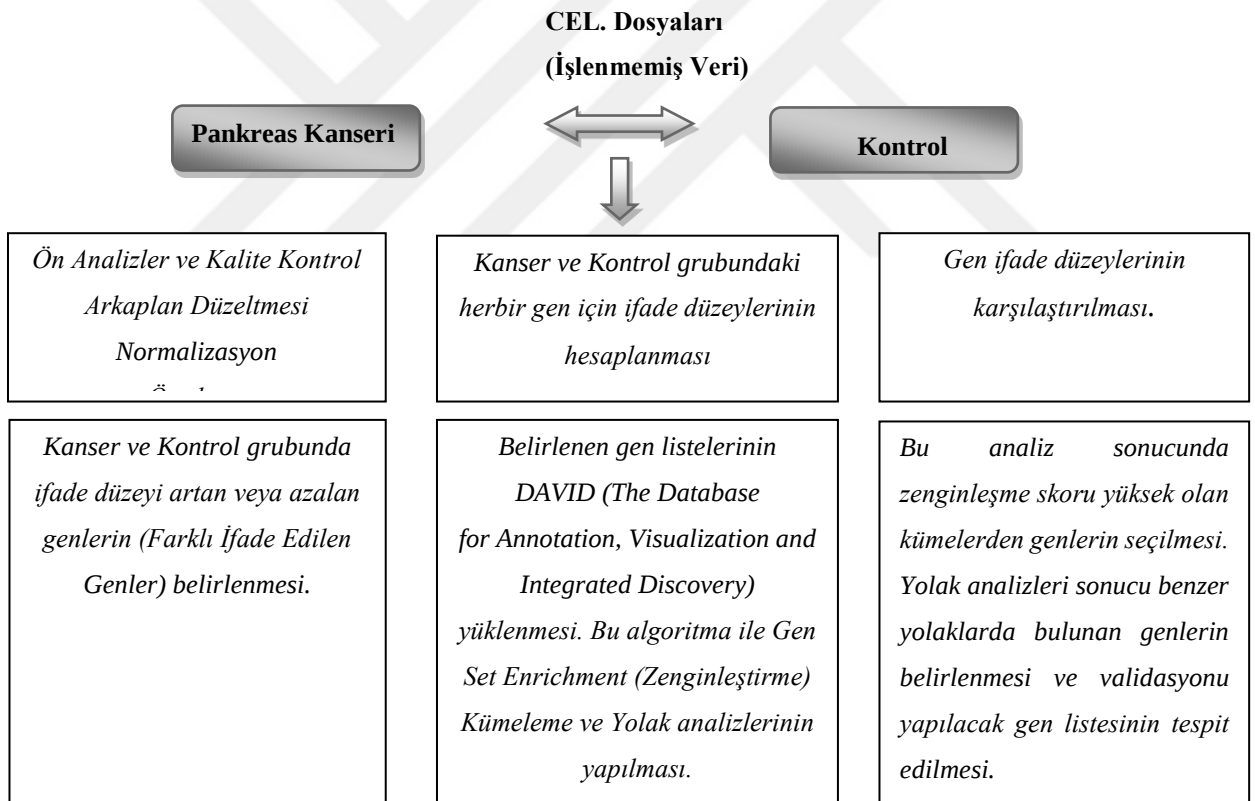
Tablo 3.1. Pankreas kanserinde çalışılan veri setleri ve içeriği

GEO ID	Örnek Tipi	Örnek Sayısı
GSE36076	Kan (PBMC)	10 Adet Kontrol 3 Adet Pankreas Kanseri
GSE28735	Doku	45 Adet Pankreatik tümör dokusu 45 Adet Normal Pankreas Dokusu
GSE15471	Doku	36 Adet Pankreatik tümör dokusu 36 Adet Normal Pankreas Dokusu
GSE16515	Doku	36 Adet Pankreatik tümör dokusu 16 Adet Normal Pankreas Dokusu
GSE62165	Doku	118 Adet Pankreatik tümör dokusu 13 Adet Normal Pankreas Dokusu
GSE85916	FFPE Doku	80 Adet FFPE Pankreatik Kanseri
GSE106189	Doku	35 Adet Pankreatik Kanseri dokusu
GSE78229	Doku	50 Adet Pankreatik Kanseri dokusu
GSE49641	Kan (PBMC)	18 Adet Pankreatik Kanseri 18 Adet Sağlıklı Kontrol

3.2. Biyoinformatik Analizlerin Yapılması

Toplanan ham mikrodizin verileri öncelikle kalite kontrol ve ön işlemlerden geçirilmiştir. Uygun olan veriler robust multi-array average algoritması kullanılarak analiz edilmiştir [195]. Pankreas kanseri ile sağlıklı kontrol grupları arasında karşılaştırma yapılmıştır. Analizler sırasında kan ve doku örnekleri ayrı ayrı gruplandırılmıştır. Buradaki amaç, dokuda tespit edilen gen ve yolakların aynı şekilde kanda da valide edilmesidir. Bu analizler sonucunda pankreas kanseri ve kontrol grubu arasında ifade düzeyi farklılık gösteren gen listeleri elde edilmiştir. Tablo 3.2.'de görüldüğü gibi bu listelerde bulunan genler The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery [189] v6.8 programı ile Gene Set Enrichment, Hierarchical Cluster Analysis ve Pathway analizlerine tabi tutulmuştur [196].

Tablo 3.2. Kanser ve kontrol grubu arasındaki izlenecek yollar



Tüm bu biyoinformatik analizler sonucunda istatistiksel olarak anlamlı olan genler bir liste halinde elde edildi. Biyoinformatik analizler sırasında bu algoritmalar aynı zamanda elde edilen her bir gen için istatistik hesaplama da yapmaktadır. Her bir gen için FDR (False Discovery Rate) ve p değeri hesaplanmaktadır. Bu değerler üzerinden Benjamini-Hochberg düzeltmesi yapılarak

istatistiksel bir değer vermektedir. Bu nedenle yapılan bu analizler için yeniden bir istatistiksel analiz yapma gereği yoktur [197].

3.3. Preprocessing (Önişleme)

Mikrodizin çalışmalarında analiz sonrasında yapılan hesaplamalarda kullanılan çipler arasında farklılıklar ortaya çıkabilir. Bu farklar deneysel prosedur uygulanırken, RNA örneklerinin çoğaltılması ve işaretlenmesi sırasında, örneklerin ilgili iplere hibridize edilmesi esnasında, çiplerin tarayıcıda taranması sırasında veya ipten gelen sinyallerin okunması sırasında ortaya çıkabilir. İşlem sırasında ortaya çıkan bu gibi farklılıkları ortadan kaldırmak ve daha kesin sonuçlar elde etmek amacıyla birtakım işlemler yapılır.

Bu işlemlerin tamamı ön işlemler yani preprocessing olarak adlandırılır. Preprocessing işlemlerinde ilk yapılan analiz arka plan doğrulamasıdır (Background Correction). Çipler üzerindeki her bir probdan gelen sinyal okunurken o probdan gelen gürültü sinyalleri (Background noise) da okunur ve işleme dahil edilir. Ancak arka plan doğrulamasında bu gelen arka plan gürültüsü elde edilen analiz sonucundan çıkarılarak daha kesin ve temiz sinyallerin elde edilmesi sağlanır.

3.4. Varyans Filtreleme, Karşılaştırma ve Farklı İfade Edilen Genlerin Belirlenmesi

Ön işlemlerden sonra herbir probdan gelen sinyaller artık numerik bir ekspresyon değerine dönüştürülmüştür. Bu numerik veriler üzerinden ileri biyoinformatik analizler gerçekleştirilir. Bu işlemlerden ilki Varyans Filtrelemedir. Varyans filtrelemede kullanılan ipe göre değişen sayıda prob analiz edilerek karşılaştırılan gruplar arasında belirlenen eşik değerin altında farklılık yani varyans gösteren problemler elimine edilir. Yani analiz dışı bırakılır. Bu şekilde yapılan karşılaştırmada en fazla varyasyonu gösteren daha anlamlı problemler öne ıkmiş olur. Eğer bir probun ifade düzeyi örnekler arasında anlamlı derecede bir varyans göstermiyorsa bu probun kullanılmasının yapılan analize bir katkısı olmayacaktır. Bundan dolayı Hackstadt ve Hess 2009'a göre varyans filtreleme sonucunda tüm problemlerin yaklaşık olarak % 30-40 kadarının elenmesi idealdir [198].

Varyans filtreleme işleminin sonu grup karşılaştırması yapılır. Yapılan bu analizde karşılaştırılan gruplar arasında ifade düzeyleri anlamlı derecede farklılık gösteren genler belirlenir. Bu analiz sırasında elde edilemek istenen farklılık değerine göre bazı opsiyonlar uygulanabilir. Örneğin istenen kat değişimi değerleri değiştirilebilir. Bu analiz sonucunda iki grup arasında ifade düzeyleri farklılık gösteren genler belirlenmiş olur. Bu şekilde elde edilen gen listesinde genel olarak 200 ile 2000 arasında gen vardır ve bu liste farklı ifade edilen gen listesi olarak adlandırılır.

Bu genleri tek tek değerlendirmek, yapılan çalışma ile ilgisi olabilecek aday genleri belirlemek, bu genlerin yollarını tek tek değerlendirip analiz etmek mümkün değildir. Bundan dolayı tüm bu analizler DAVID adı verilen bir biyoinformatik uygulaması ile yapılabilmektedir.

3.5. Farklı İfade Edilen Genlerin Zenginleştirilmesi (DAVID)

Gen ekspresyon mikrodizinleri gibi yüksek işlem hacimli analizler sonucunda elde edilen aday gen listelerinin analizi ve biyolojik olarak anlamlandırılması, bu tür çalışmaların en önemli ve en zorlu kısmıdır. Bu tür analizlerde genellikle GoMiner, GOstat, Onto-express, Go-tool-box gibi biyoinformatik araçlar kullanılmaktadır [199-202]. Bu biyoinformatik araçların hepsi Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) adı verilen analizi yapmaktadırlar.

Bu yöntemdeki temel mantık, elde edilen farklı ifade edilen gen listesindeki binlerce genin içerisinden, yapılan çalışma açısından istatistiksel olarak anlamlı değişim gösteren genleri seçebilmektir. Bu şekilde listede bulunan binlerce gen tek tek analiz edilmeyip bizim ilgilendiğimiz genlere odaklanabiliriz [203]. DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) bu araçlardan en sık kullanılan araçtır. DAVID 2003 yılında geliştirilmiş açık kaynak bir biyoinformatik analiz yazılımıdır [204, 205]. Bu araç ile yüzlerce veya binlerce gen içeren listeler hızlı ve doğru bir şekilde fonksiyonel olarak analiz edilebilir ve anlamlı bir önem sırasına sokulabilir.

3.6. Çalışmada Kullanılacak Materyaller

Tablo 3.3.'de görüldüğü gibi bu tez çalışmasında; Pankreas kanseri kan örnekleri, Normal Sağlıklı kan örnekleri, Pankreas kanseri doku örnekleri (FFPE), Normal Sağlıklı doku örnekleri olmak üzere 4 grubun profillerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Bu çalışmaya; Pankreas kanseri kesin tanısı almış olan, herhangi bir kemoterapi, radyoterapi görmemiş olan, başka bir kronik hastalığı olmayan ve katılmaya gönüllü olan bireyler dahil edilmiştir. Aşağıda örneklerin gruplara göre dağılımı görülmektedir.

Tablo 3.3. Gruplardaki örnek sayıları

Pankreas kanseri kan örnekleri	Normal Sağlıklı kan örnekleri	Pankreas kanseri doku örnekleri (FFPE)	Normal Sağlıklı doku örnekleri
25	25	25	25

Hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden periferik kan örnekleri Blood RNA tüplerine (PreAnalytiX GmbH, Switzerland, Cat. No: 762165) alınmıştır. Tablo 3.4.'de gösterildiği gibi, çalışmada kullanılan ekipmanlar aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan ekipmanlar

NO	Ekipman	Üreten Şirket	Üretim Yeri
1.	Santrifüj	NUVE NF 800R	Türkiye
2.	Gel görüntüleme sistemi iBright 750	MedSan Tek	Türkiye
3.	Vortex	MVS-1	Amerika Birleşik Devletleri
4.	PCR/Thermal cycle	SimpliAmp/Applied Biosystem	Singapur
5.	Real-time PCR	StepOnePlus/AppliedBiosystem	Singapur
6.	Mikrodalga fırın	SAMSUNG	Kore
7.	Qubit Fluorometer	Invitrogen	Amerika Birleşik Devletleri
8.	Mini Santrifüj Spin	ISOLAB-Laborgeräte GmbH	Türkiye
9.	Buzdolabı	Regal	Türkiye, Rusya
10.	Mikropipet	AXYPET, A.B.T.	Amerika Birleşik Devletleri, Türkiye
11.	Su banyosu	MedSan Tek	Türkiye
12.	Elektroforez	AND HM-200	Japonya
13.	Soğuk plate	VELP ARE Labex	İngiltere
14.	96-Well Reaksiyon Plate	Applied Biosystem	Çin

3.7. Kimyasallar ve Kitler

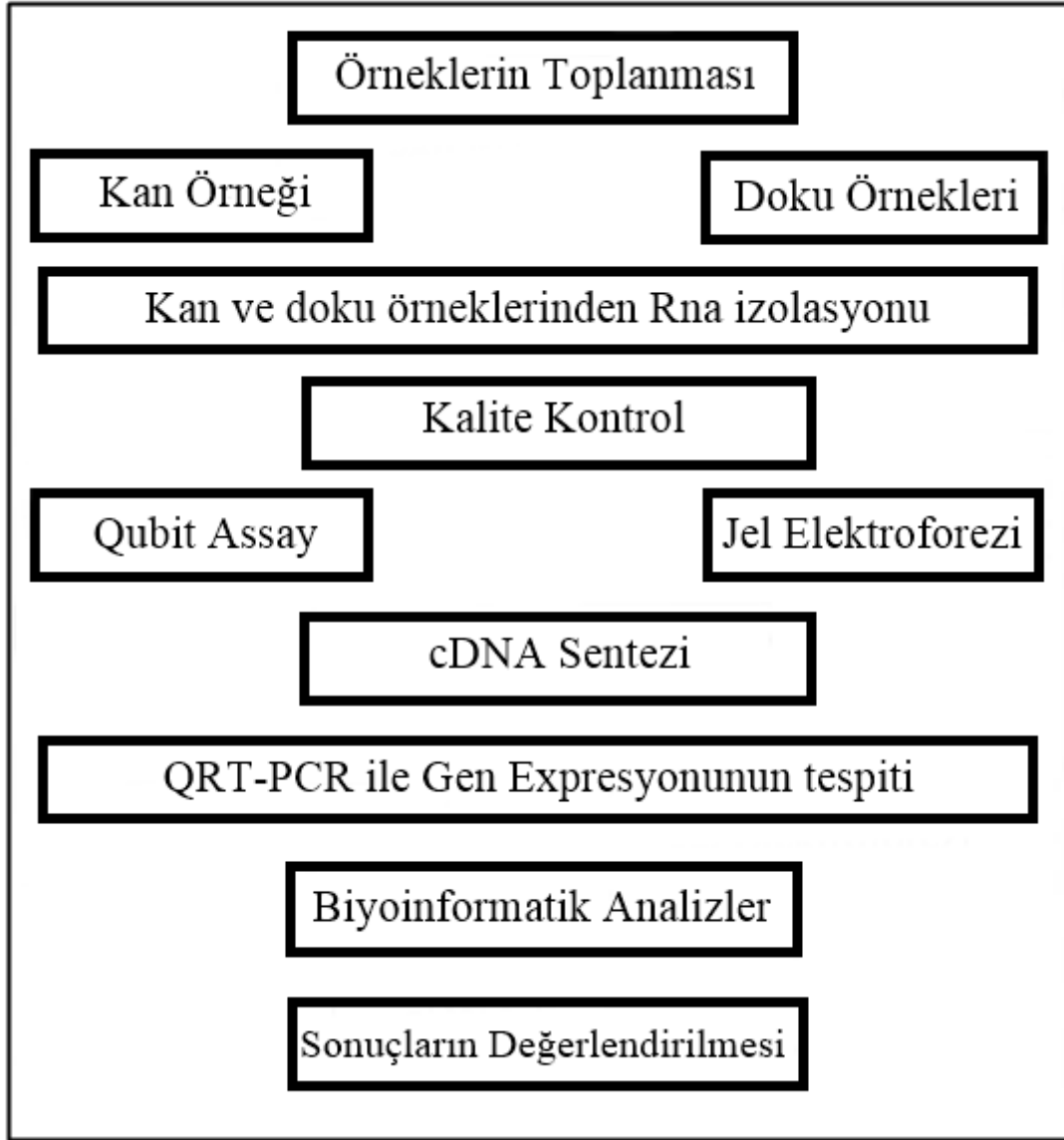
Bu çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler, şirket ve menşei ile aşağıdaki Tablo 3.5.'de listelenmiştir.

Tablo 3.5. Kullanılan kimyasallar ve kitler

No	Chemicals	Company	Origin
1.	Agarose	Sigma-Aldrich	Amerika Birleşik Devletleri
2.	RedSafe™ Nucleic Acid Staining	Intron	Çin
3.	RNA Gel Loading Dye (6X)	Thermofisher scientific	İngiltere
4.	Ladder 1kb	Thermofisher scientific	İngiltere
5.	High-Capacity cDNA Reverse Transkript Kit	Applied biosystems	İngiltere
6.	NucleoSpin® RNA Blood Kit	Macherey-Nagel	Almanya
7.	Qubit™ RNA HS Assay kit,	Invitrogen	İngiltere
8.	TBE Buffer	Sigma Life Science	Almanya
9.	Dithiothreitol	DTT Katalog No: R0861 Thermo Scientific	Amerika Birleşik Devletleri

3.8. Çalışmanın Dizaynı

Çalışmanın tasarımı, kan örneklerinin toplanması ve ardından özel kit ile RNA'nın izole edilmesiyle başlanmıştır. Kalite kontrolü, Qubit ölçümü ile jel elektroforezi yapılmıştır. Toplanan RNA örneklerinden cDNA sentezi yapıldıktan sonra gen ifade analizleri kantitatif RT-PCR ile Şekil 3.1.'de gösterildiği gibi çalışılmıştır.



Şekil 3.1. Araştırmanın deneysel akış şeması

3.9. Total RNA'nın İzolasyonu

Total RNA, moleküler çalışmalar için EDTA antikoagülan tüplerinde toplanan insan kanından izole edilmiş olup, NucleoSpin® RNA Blood kit kullanılarak izolasyon yapılmıştır.

3.10. Kandan RNA İzolasyon Protokolü

Kan örneklerinden Total RNA izolasyonu NucleoSpin RNA Blood kit (LOT 1904/001) ile yapılmıştır. Bu protokole göre;

1. Bir toplama tüpüne 400 µl tam kan konur.
2. 400 µl Lizis tamponu DL tüpe eklenir ve karıştırılır.

3. 10 µl Sıvı Proteinaz K ve opsiyonel olarak belirlenen 8 µl Dithiothreitol (DTT Katalog No: R0861 Thermo Scientific) eklenir.
4. Oda sıcaklığında (18–25 ° C) 15 dakika inkübe edilir ve tüp bir çalkalayıcıda (1.400 rpm) kuvvetli bir şekilde çalkalanır.
5. Kapağı temizlemek için kısa süre santrifüjlenir (~ 2,000 x g'de ~ 1 sn).
6. Tüpe 400 µl % 70 etanol eklenir ve kuvvetlice karıştırılır.
7. 610 µl aktarılır ve lizat bir toplama tüpüne yerleştirilir. Bir NucleoSpin RNA kan sütununa aktarılır.
8. 11.000 x g'de 30 saniye santrifüjlenir. Akış ve toplama tüpü atılır. Sütun yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.
9. Kalan lizat NucleoSpin RNA kan sütununa uygulanır.
10. 11.000 x g'de 30 saniye santrifüjlenir. Akış ve toplama tüpü atılır. Sütun yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.
11. Kolona 350 µl MDB (Membran Tuz Giderme Tamponu) eklenir ve 11.000 x g'de 30 saniye santrifüjlenir.
12. 95µl rDNase sütuna eklenir. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
13. NucleoSpin RNA, kan sütununa 200 µl tampon RB2 eklenir. 11.000 x g'de 30 saniye santrifüjlenir. Akışı ve toplama tüpü atılır ve sütun yeni toplama tüpüne yerleştirilir. 2. yıkama
14. NucleoSpin RNA kan sütununa 600 µl Tampon RB3 eklenir. 11.000 x g'de 30 saniye santrifüjlenir. Akış atılır ve sütunu yeni bir toplama tüpü 3rd yıkamasına yerleştirilir
15. NucleoSpin RNA kan sütununa 250 µl tampon RB3 eklenir. 11.000 x g'de 2 dakika santrifüjlenir. Bu adımda etanol kolondan çıkarılır. Kolon nükleaz içermeyen bir toplama tüpüne (1,5 mL) yerleştirilir ve toplama tüpü atılır.
16. Kolona 60 µl RNaz içermeyen H₂O (sağlanır) eklenir ve 11.000 x g hızda 30 saniye santrifüjlenir. RNA, Toplama Tüpüne aktarılır. Elde edilen RNA'lar -80 C°'de saklanır.

3.10.1. FFPE Dokudan RNA İzolasyonu

Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) dokulardan total RNA izolasyonu ise aşağıda verilen protokole göre yapılmıştır. Bu protokole göre;

İlk olarak dokudan parafin ayırma ve lizis yöntemi uygulanmıştır. Ardından bağlama, yıkama ve elüsyon adımları uygulanarak total RNA elde edilmiştir. Buna göre;

1. Steril, RNaz içermeyen bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpü içine, formalinle fikse edilmiş, parafin içine gömülmüş (FFPE) numunelerin 3-8 parçasını 20 µm'lik olacak şekilde yerleştirilir.
2. Ependorflar 65° C'de ısı bloğunda 1 saat bekletilir.
3. Vorteks yapılır.

4. Üzerlerine daha önce 65° C'de ısı bloğunda ısıtılan ksilol'den 1000 µl konup 65° C'de 5 dk bekletilir.
5. 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj yapılır.
6. Süpernatant kısmı atılır.
7. 3, 4, 5 ve 6 nolu işlemler 3 kez tekrar edilir.
8. Ependorflara 1000 µl %100'lük etanol konur.
9. Vorteks yapılır.
10. Etüvde 37° C'de 15 dakika bekletilir.
11. 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj yapılır.
12. Süpernatant kısım atılır.
13. Ependorflara 1000 µl %70'lik etanol eklenir.
14. Vorteks yapılır.
15. Etüvde 37° C'de 15 dakika bekletilir.
16. 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj yapılır.
17. Süpernatant kısmı atılır.
18. Ependorflara 1000 µl %50'lik etanol konur.
19. Vorteks yapılır.
20. Etüvde 37° C'de 15 dakika bekletilir.
21. 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj yapılır.
22. Süpernatant kısım atılır.
23. Ependorflara; 750 µl Trizol, 60 µl Proteinaz K (20mg/ml) ve 2 µl RNase inhibitör ilave edilir. Her ependorfa 5mg zirkonyum atılıp 30 dk vortekslenir.
24. 60° C'de ısı bloğunda 1 gece bekletilir.
25. Biraz bekleterek örneklerin oda ısısına düşmesi sağlanır.
26. Ependorflara 300 µl kloroform eklenir.
27. 1 dk vorteks yapılır.
28. 14.000 rpm'de 30 dk +4° C'de santrifüj yapılır.
29. Üste kalan faz yeni tüplere aktarılır.
30. Üzerlerine 800 µl izopropil alkol eklenir.
31. Oda sıcaklığında tüpler bir müddet karıştırılır.
32. -20° C'de 1 gece beklemeye alınır.
33. 13.500 rpm'de 10 dk, +4° C'de santrifüj yapılır.
34. Üst faz atılır.
35. 800 µl %75'lik etil alkol ile yıkama yapılır.
36. Tüpler alt üst edilir.
37. 7500 rpm'de 5dk, -4° C'de santrifüj yapılır.
38. 34, 35, 36 ve 37. Basamaklar tekrar edilir.
39. 10 dk etil alkol uçsun diye tüpler kapakları açık şekilde 30 dk bekletilir.
40. Dipte kalan kısmın büyüklüğüne göre 15- 130 µl nükleaz içermeyen su eklenir. RNA ileriki kullanıma kadar -80 °C'de saklanır.

3.10.2. İzole Edilen RNA'ların Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Standartlar için 2 test tüpü ve örnek sayısı kadar tüp hazırlanır (0.5 mL'lik PCR tüpü). Tüpler etiketlenir. Qubit tamponundan her tüp için 200 µl olacak şekilde alınır stok tüpüne eklenir ve bunun üzerine her tüp için 1 µl olacak şekilde Qubit RNA reagent ekleyerek qubit çalışma solüsyonunu hazırlanır ve stok tüpü vortekslenir. Ardından çalışma solüsyonunu standart 1 ve

standart 2 tüplerine 190 µl, örnek tüplerine 198 µl olacak şekilde dağıtılır. Standart 1 tüpüne standart 1 solüsyonundan 10 µl, standart 2 tüpüne standart 2 solüsyonundan 10 µl, örnek tüplerine ise örneklerden 2 µl eklenir (son hacim 200 µl). Tüm tüpleri 2-3 sn vorteksle karıştırılır ve 2 dk oda ısısında inkübe edilir. Ardından standartları sırasıyla Qubit florometre cihazına yerleştirilir, arkasından örnekler ölçülür.

3.10.3. Jel Elektroforez

Genomik RNA izolasyonundan sonra, elde edilen RNA'nın varlığını ve bütünlüğünü doğrulamak için agaroz jel elektroforezi Tablo 3.6.'da gösterildiği gibi uygulanmıştır.

Tablo 3.6. Jel elektroforezin materyalleri

Materyaller	Miktar
Agarose	1.0 gr
Tris/Boric Acid/EDTA (1xTB loading buffer)	100 ml
Red Safe	8 µL
6× loading dye	2 µL
RNA Ladder Marker (1kb)	3 µL

3.10.4. Agaroz Jelin Hazırlanışı

1,0 g agaroz tozu erlene konur, ardından 100ml 1×TBE tamponu eklenir ve agaroz eriyene kadar 2-3 dakika mikro dalgada ısıtılır. Agaroz çözeltisinin soğuması sağlanır ve ardından jel aparatı hazırlanıp agarose jel tankına dökülür. Oda sıcaklığında 30 dakika polimerleşmeye bırakılır jel tepsisi jel tankına yerleştirilip, tank jel yüzeyi üzerinde 1-2 mm'ye ulaşana kadar 1X TBE tamponu ile doldurulur.

3.10.5. RNA Yükleme ve Elektroforez

Parafin kağıdına 2 µl 6x yükleme boyası konulup ve 5 µl RNA pipetle iyice karıştırılarak ilave edilir. 1 kb ladder'dan jele yüklenip, elektroforez 110 V'a ayarlanarak ve 30 dakika çalıştırılır. Daha sonra UV transillüminatör kullanılarak jelin görüntüsü alınır ve analiz edilir.

3.11. cDNA Sentezi

Sağlıklı ve kontrol grubundan elde edilen tüm RNA'ların cDNA sentezi Bir cDNA Ters Transkripsiyon Sentez Kiti (Cat. No.4368814 ile gerçekleştirilmiştir. Hacimler numuneler

arasındaki en düşük RNA Molar konsantrasyonu miktarına göre belirlenmiştir. Hesaplamalar Tablo 3.7 ve Tablo 3.8.'de gösterildiği gibi uygulanmıştır.

Tablo 3.7. cDNA ters transkripsiyonunun bileşeni

Bileşenler	Reaksiyon Hacmi
10X RT Buffer	2.0 µL
25X dNTP Mix (100 mM)	0.8µL
10X RT Random Primers0	2.0 µL
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1.0 µL
Nuclease-free H ₂ O	4.2 µL
Toplam Hacim	10µL

Tablo 3.8. Termal döngü koşullarının programı

Setting	Döngü 1	Döngü 2	Döngü 3	Döngü4
Sıcaklık	25°C	37 °C	85°C	25°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

3.12. Gen Expresyonu

Real Time PCR, belirlenen hedef genlerin ekspresyon seviyelerini belirlemek için SYBR Green karışımı (AM02-020) kullanılarak yapılmıştır. StepOnePlus® Real-Time PCR Sistemi (Applied Biosystems, Singapur), 5 µl 2x Amplifyme SG Universal Mix dahil olmak üzere 10 µl), 0.3 µl ileri primer, 0.3 µl ters primer, 0.2 µl 50X Yüksek ROX Solüsyonu, 2.2 µl PCR su ve 2 µl cDNA örneği 3 dakika boyunca 95°C'de bir döngü, Tablo 3.11'de gösterildiği gibi aşağıdaki protokolün 40 döngüsü için 95°C 5 saniye, 54°C 10 saniye ve 72°C 20 saniye olacak şekilde ayarlanmıştır.

Gen ekspresyonunun normalleştirilmesi için dahili kontrol olarak Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) ve β-Aktin genleri ve harici kontrol olarak 25 kontrol kullanılmıştır. PCR amplifikasyonunun doğruluğunu doğrulamak için agaroz jel elektroforezi ve erime eğrisi analizi kullanılmıştır. Primer dizileri Tablo 3.10'da gösterilmiştir. Gen ekspresyon seviyelerinin sonuçları $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanılarak analiz edildi ve veriler, üç bağımsız amplifikasyon için ortalama kat

değişiklikleri $\pm$ SD olarak ifade edilmiştir. QRT-PCR reaksiyon bileşenleri Tablo 3.9.'da belirtilmiştir.

Tablo 3.9. QRT-PCR reaksiyon bileşenleri

Reaktif	Miktar
2x AMPLIFYME SG Mix	10 μ l
Forward primer (10 μ M)	0.6 μ M (0.3 μ M)
Reverse primer (10 μ M)	0.6 μ M (0.3 μ M)
50x ROX solution	0.4 μ l
DNA or cDNA template	1 – 100 ng
PCR-grade water	fill up to 20 μ l

Tablo 3.10.'da kullanılan primerler ve primer dizileri gösterilmiş olup, Tablo 3.11.'de üç aşamalı termal döngü profili belirtilmiştir.

Tablo 3.10. Kullanılan primerler ve primer dizileri

GEN İSİMLERİ	PRİMER	
	SEKANS	
	Forward 5' 3'	Reverse 5' 3'
EGF	AGCAATTGGTGGTGGATG	ACTCTTTGCAAAAGTTGTC
EGFR	AAATCCTGCATGGCGCCGTG	GGTGGTTCTGGAAGTCCATC
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	GAAGATGGTGATGGGATTTTC
PPIBF	AAACAGCAAATTCCATCGTG	ACCGTAGATGCTCTTTCTC
BCL-2	GAAGGTTTCCTCGTCCCTGG	CTGTGTTGAAACAGGCCACG
BAX	CCCCGATTCATCTACCCTGC	GAGCTAGGGTCAGAGGGTCA
KASPAZ-8	TGCTCTTCCGAATTAATAGACTGG	TTCTGATCTGCTCACTTCTTCTG
P53	GCTGCTCAGATAGCGATGGTCT	CATCCAAATACTCCACACGCAA
HIF1	TTGGCAGCAACGACACAGAACTG	TTGAGTGCAGGGTCAGCACTACTT
KLK2	AGCCTGCCAACATCACAGAT	CCTTCTCAGAGTAAGCTCTAGCACA
DECR1	ACAACCTCTTCTGTCCAGCCT	CATCACACTGAATTGCATGAACCT
CXCR4	GAAATCATCAAGCAAGGGTG	GAAGACTCAGACTCAGTGGA
ROBO1	AAGGAGTCTATGTCTGTGTAGC	TTTGTGCTGAAGTCATCCCGA
IRAK3	CTAGATAAGAAAGTGCCTCC	TGAAGGACTTTAGTGATGTG
MMP8	CTTCCATTTGTGCTCTTACTC	CCATTCTTCCTTGTAAGTAG
HSPD1	TACTGGCTCCTCATCTCACTC	CTGCTCAATAATCACTGTTCTTCC
HSP90B1	AAACACAACAACGATACCCAG	CCAATTCAAGGTAATCAGATGC
IKBKB	CACCATCCACACCTACCCTG	GCCCTCATTTAACTTGCCGTC
KRAS	ACACAGCAGGTCAAGAGGAG	CCATAGGTACATCTTCAGAGTCCC
UBE2W	TGCGAACATGTAACAAGAATCC	GGTCACTTCCAGTCAAAGGT
MMDM4	TGAGCAATCATACACCT	CCATTCTTCCTTGTAAGTAG
CEACAM8	CCCAACATCACTACAAAGAAGAG	TCCTTGTAATAAGCATCAGAGAC
CD84	TACAATCTGGTCATTAGCGA	GTTACAGATGCCATTAACTCAG
B-AKTİN	CCTTCCTTCCTGGGCATG	TCCTGTCGGCAATGCCAG

Tablo 3.11. Üç aşamalı termal döngü profili

Step	Temperature	Time	Cycle
Activation and denaturation	95°C	180 s	
Denaturation	95°C	5 s	

Annealing	60°C	10 s	35 – 45 cycles
Extension/Fluorescence Detection	72°C	5 - s	
Melt curve analysis	according to the RT-qPCR instrument manual		

3.13. İstatiksel analiz

CEL dosyalarında Transkriptome Analiz Konsolu (TAC 4.0) ile; Önileme (Ön analiz), Varyans Filtreleme ve Grup karşılaştırması (Kat değişim eşiği $<-1.3 + 1.3>$ ve $p < 0.05$) yapılmıştır. Karşılaştırma sonucunda kanser ve kontrol grupları arasında farklı ekspresyon düzeylerini gösteren gen listesi elde edilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. GSE49641 Veri Setinin Biyoinformatik Analizleri

Bu çalışmada kullanılan GSE49641 adlı veri setinde; NCBI GEO Veri Setinde kodlanmış GSE49641'in ham transkriptom verileri kullanılmıştır. Bu veri setinde 18 PDAC ve 18 sağlıklı birey Peripheral blood mono nucleer cell 'den elde edilen gen ekspresyon verileri bulunmakta olup, **Tablo 4.1.**'de gösterilmiştir. TAC 4.0 programı ile veriler üzerinde ön işleme ve karşılaştırma analizleri yapılarak, PDAC ve sağlıklı bireyler arasında diferansiyel olarak eksprese edilen gen listesi belirlenmiştir. Daha sonra bu genlerle DAVID Bioinformatics Tool ile yolak analizi, fonksiyonel kümeleme analizi ve zenginleştirme analizi yapılmıştır.

Tablo 4.1. GSE49641 veri setindeki kontrol ve hasta sayıları

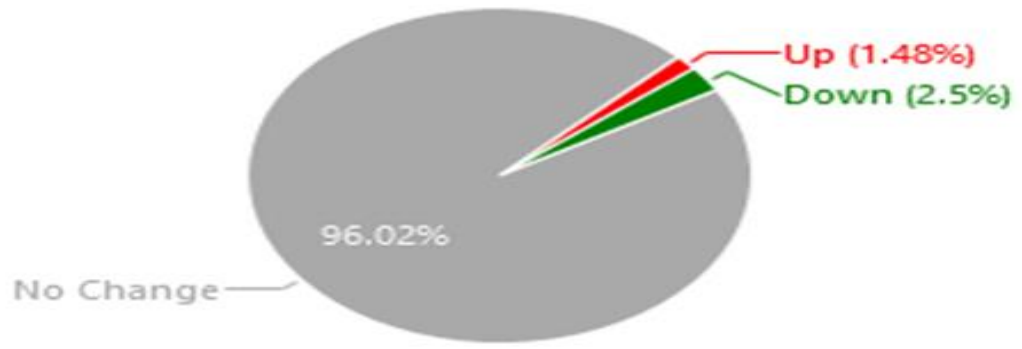
Comparison	Group 1	Group 2	Count 1	Count 2	Up	Down
PDAC vs CONTROL	PDAC	CONTROL	18	18	431	728

Tablo 12. GSE49641 ifadesi artan ve azalan genler

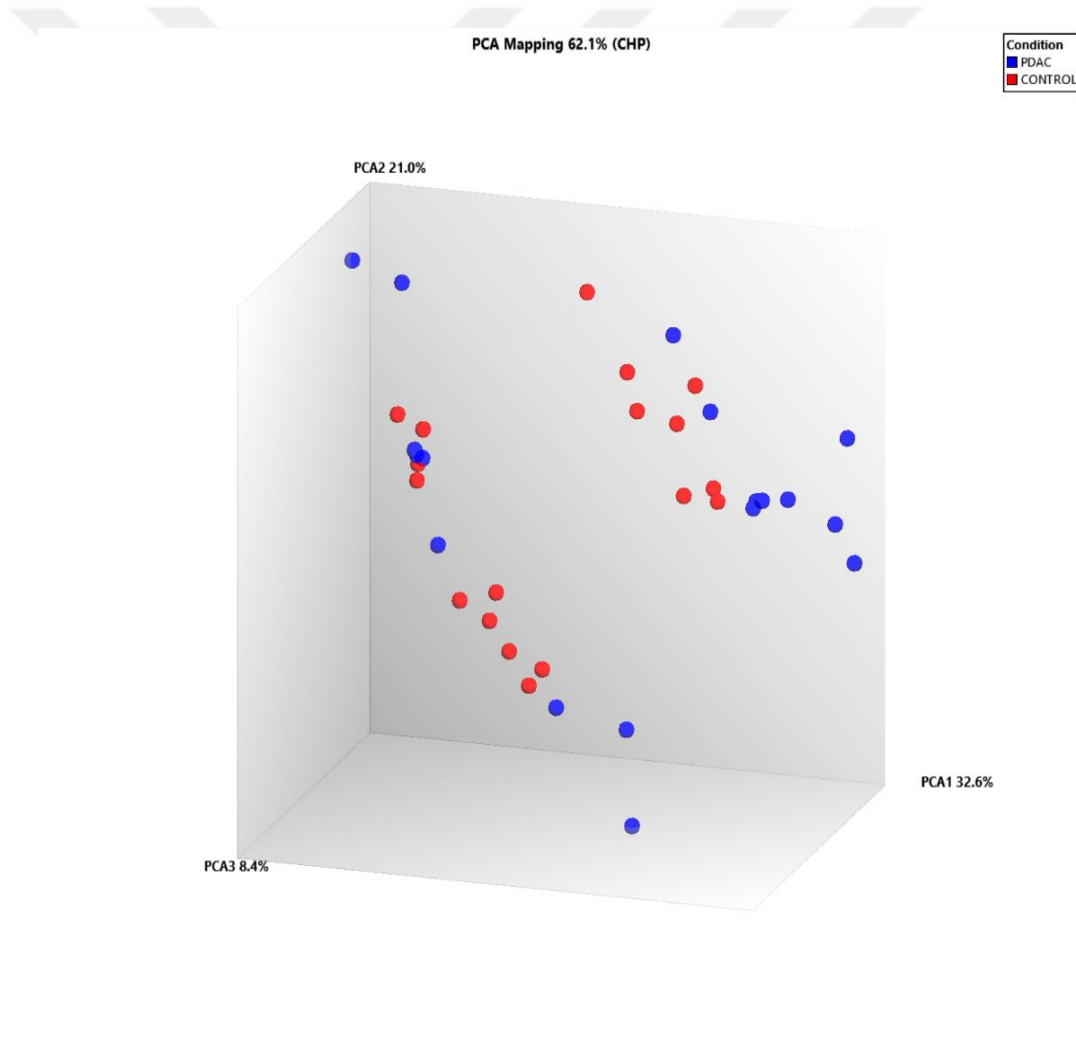
Farklı İfade Edilen Gen Sayısı	İfadesi Artan	İfadesi azalan	Toplam
PDAC vs. Kontrol Karşılaştırması	431	728	1159

Bu veri setinde toplamda 29096 gen tespit edilmiş olup bunlardan da 1159 adet gen valide edilmiştir. 431 tanesinin ifadesinin arttığı, 728 tanesinin de ifadesinin azaldığı Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

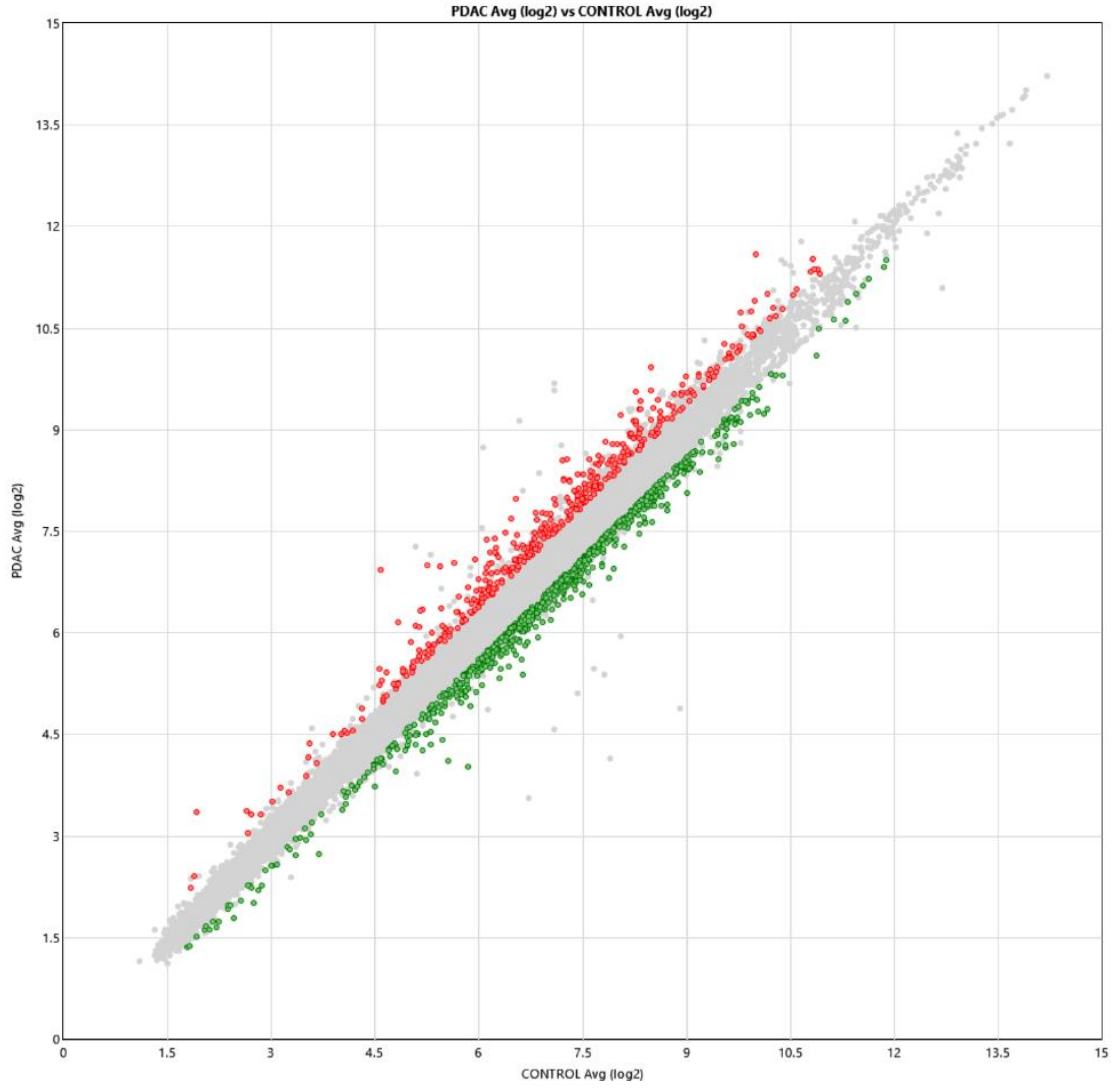
Şekil 4.1.'de GSE49641 veri setinde ifadesi artan, azalan ve ifade düzeyinde hiçbir değişiklik olmayan genlerin yüzdelik dilimleri gösterilmektedir. Şekil 4.2.'de GSE49641 veri setinin PCA ayrımı belirtilmekte olup, kanser ve kontrol grubunun dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 4.1. GSE49641 veri setinde ifadesi artan ve azalan genler



Şekil 4.2. GSE49641 veri setinin PCA ayrımı

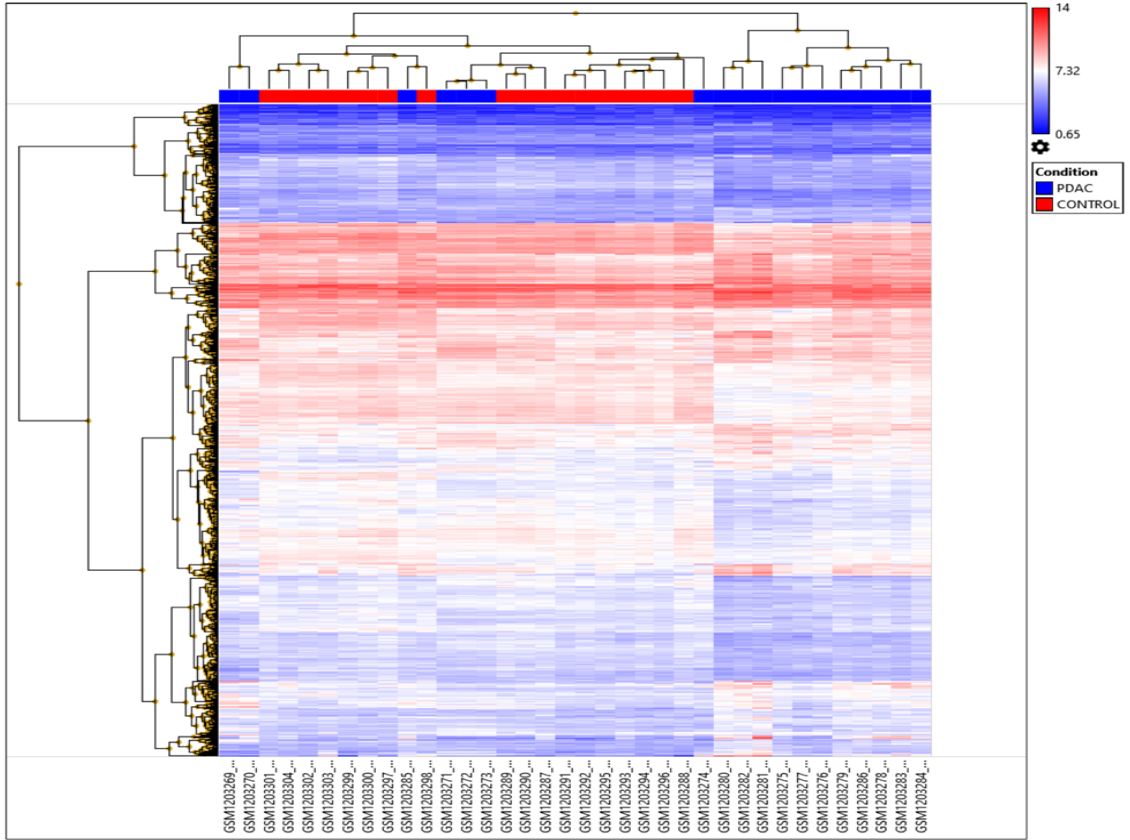


Şekil 4.3. GES49641 Kanser ve kontrol grubunun (scatter plot) dağılım grafiği

Şekil 4.3.'de gösterildiği gibi GES49641 Kanser ve kontrol grubunun (scatter plot) dağılım grafiği average logaritmasına göre belirlenmiştir.

Şekil 4.4.'de belirtildiği gibi, GSE49641 veri setinin differansiyel olarak p değişim ve kat değerine göre volcano plot grafiği kat değişimine göre belirlenmiştir.

Şekil 4.5.'de gösterildiği gibi, GSE49641 tüm örneklerin sinyal seviyeleri $p < 0.05$ olarak rapor edilmiştir.



Şekil 4.6. GSE49641 diferansiyel olarak elde edilen ısı haritası

Şekil 4.6.'da gösterildiği gibi GSE49641 diferansiyel olarak elde edilen ısı haritası kanser ve kontrol grubuna göre ayrılmıştır.



Şekil 4.7. GSE49641 farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımı

Şekil 4.7.'de belirtildiği gibi GSE49641 farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımı belirlenmiştir.

Tablo 4.3. PDAC ve kontrol karşılaştırması sonunda elde edilen en yüksek kat değişim skoruna sahip ifade düzeyi artan ilk 25 gen.

<i>ID</i>	<i>PDAC Avg (log2)</i>	<i>CONTROL Avg (log2)</i>	<i>Fold Change</i>	<i>P-val</i>	<i>FDR P- val</i>	<i>Gene Symbol</i>
7934898	6.99	5.25	3.36	1.73E-08	0.0005	ANKRD22
7920244	11.59	10	3.02	7.63E-06	0.0073	S100A8
7951246	6.98	5.43	2.93	0.0072	0.13	MMP8
8029280	7.99	6.54	2.73	0.0031	0.0863	CD177
7920238	9.93	8.48	2.73	0.0002	0.0257	S100A12
7915612	3.35	1.92	2.69	0.001	0.0544	PTCH2
8126905	7.04	5.65	2.63	0.0001	0.0194	CRISP3
8095986	8.54	7.2	2.53	0.0009	0.0515	ANXA3
8122058	6.16	4.83	2.52	5.24E-05	0.014	ARG1
8063115	9.56	8.27	2.43	0.0073	0.1309	MMP9
7897801	7.38	6.11	2.41	0.0101	0.1533	RNU5E-1
8097056	7.68	6.46	2.33	0.0499	0.3083	SNORA24; SNHG8
7898448	9.22	8.04	2.27	0.0003	0.0301	PADI4
7997188	6.33	5.15	2.26	2.13E-05	0.0091	HP
7953749	7.4	6.23	2.25	2.76E-06	0.004	CLEC4D
7969288	6.35	5.19	2.24	0.0084	0.1404	OLFM4
7928999	7.08	5.95	2.2	0.0026	0.0813	LIPN
7956878	9.43	8.33	2.15	1.31E-06	0.0023	IRAK3
8086607	7.48	6.39	2.13	0.0045	0.1057	LTF
8149137	9.58	8.49	2.13	0.0382	0.2733	DEFA1B; DEFA1
8149126	9.58	8.49	2.13	0.0382	0.2733	DEFA1B; DEFA1
8149116	9.58	8.49	2.13	0.0382	0.2733	DEFA1B; DEFA1
8129618	8.27	7.22	2.08	1.55E-05	0.0086	VNN1
7922174	8.26	7.22	2.05	3.74E-06	0.0045	F5
8166157	6.1	5.08	2.03	0.0011	0.0555	BMX

Bu genlerden ifadesi yükselenler; *ANKRD22*, *S100A8*, *S100A12*, *CRISP3*, *ANXA3*, *ARG1*, *PADI4*, *HP*, *CLEC4D*, *IRA3*, *VNN1* ve *F5* olarak belirlendiği Tablo 4.3.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.4. PDAC ve Kontrol karşılaştırması sonunda elde edilen en yüksek Fold Change skoruna sahip ifade düzeyi azalan ilk 25 gen

<i>ID</i>	<i>PDAC Avg (log2)</i>	<i>CONTROL Avg (log2)</i>	<i>Fold Change</i>	<i>P-val</i>	<i>FDR P-val</i>	<i>Gene Symbol</i>
8135488	5.38	6.63	-2.39	3.10E-05	0.0106	LRRN3
7962455	6.81	7.87	-2.08	0.0009	0.0516	NELL2
8081758	5.61	6.62	-2.02	2.74E-05	0.01	GRAMD1C
7981183	6.95	7.94	-1.99	0.0031	0.0863	TCL1A
7902452	5.33	6.29	-1.94	1.16E-05	0.0086	AK5
8108050	8.07	9.01	-1.92	3.00E-05	0.0105	TCF7
8164343	7.81	8.73	-1.89	0.0015	0.062	FAM102A
7921900	6.57	7.49	-1.89	8.03E-05	0.0163	SH2D1B
8060503	8.8	9.67	-1.84	0.0065	0.1242	SNORD57
8016245	9.24	10.11	-1.84	0.0003	0.0303	LRRC37A2
8078173	7.63	8.5	-1.83	4.01E-05	0.0122	OXNAD1
7961059	6.71	7.58	-1.83	0.004	0.0999	KLRB1
8029136	7.46	8.32	-1.82	0.0055	0.1161	CD79A
8007919	9.31	10.17	-1.81	0.0005	0.0401	LRRC37A2
7906443	5.82	6.67	-1.8	0.0004	0.0334	FCER1A
8112668	5.68	6.53	-1.79	0.0295	0.2462	GCNT4
8142975	3.96	4.81	-1.79	0.0037	0.096	MIR29A
7981943	5.47	6.32	-1.79	0.0263	0.234	SNORD64
8057719	6.19	7.03	-1.79	0.0071	0.1296	HIBCH
7923917	8.73	9.56	-1.77	4.22E-05	0.0124	FCMR
8081710	7.28	8.1	-1.77	1.34E-06	0.0023	SIDT1
8076463	5.22	6.04	-1.76	4.34E-05	0.0124	RRP7BP
7940287	7.9	8.72	-1.76	0.0022	0.0746	MS4A1
7953835	8.38	9.19	-1.75	0.003	0.0863	KLRG1
8128247	6.98	7.78	-1.74	5.00E-07	0.0021	BACH2

Bu genlerden ifadesi azalan genler; *LRRN3*, *NELL2*, *GRAMD1C*, *AKS*, *TCF7*, *SH2D1B*, *LRRC37A2*, *OXNAD1*, *FCER1A*, *FCMR*, *SIDT1*, *RRP7BP*, *BACH2* ve *RASGRF2* olarak Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Fonksiyonel annotation cluster analizi sonucu zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan ilk 5 küme

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 10.1	Count	P_Value	Benjamini
Annotation Cluster 1	UP_KEYWORDS	Immunity	59	3.80E-13	1.70E-10
	UP_KEYWORDS	Innate immunity	37	1.00E-10	1.50E-08
	GOTERM_BP_DIRECT	innate immune response	48	1.30E-08	2.90E-05
Annotation Cluster 2		Enrichment Score: 3.25	Count	P_Value	Benjamini
Annotation Cluster 2	UP_KEYWORDS	Disulfide bond	188	4.10E-06	4.40E-04
	UP_KEYWORDS	Membrane	360	1.30E-05	7.90E-04
	UP_KEYWORDS	Receptor	98	8.30E-05	3.00E-03
	UP_SEQ_FEATURE	disulfide bond	157	1.60E-04	2.00E-02
	UP_KEYWORDS	Glycoprotein	226	2.30E-04	6.60E-03
	UP_KEYWORDS	Transmembrane helix	270	4.40E-04	1.10E-02
	UP_SEQ_FEATURE	topological domain:Extracellular	148	4.70E-04	4.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	topological domain:Cytoplasmic	178	5.10E-04	4.50E-02
	UP_KEYWORDS	Transmembrane glycosylation site:N-linked (GlcNAc...)	270	5.40E-04	1.20E-02
	UP_SEQ_FEATURE	transmembrane region	241	3.20E-03	2.10E-01
	UP_SEQ_FEATURE	signal peptide	160	1.80E-02	8.20E-01
	GOTERM_CC_DIRECT	integral component of membrane	250	1.90E-02	4.60E-01
	UP_KEYWORDS	Signal	189	3.50E-02	3.00E-01
Annotation Cluster 3		Enrichment Score: 2.67	Count	P_Value	Benjamini
Annotation Cluster 3	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 14	20	2.00E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 10	32	2.80E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 5	44	3.60E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 6	41	4.20E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 9	34	5.00E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 12	26	5.10E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 8	36	7.40E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 7	38	7.90E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 4	45	8.10E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 13	22	9.40E-05	1.50E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 11	28	1.10E-04	1.70E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 3	47	1.20E-04	1.80E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 1; degenerate	16	1.40E-04	1.90E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 2	45	2.20E-04	2.60E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 15	16	3.40E-04	3.50E-02
	UP_SEQ_FEATURE	domain:KRAB	29	4.00E-04	3.90E-02
	UP_KEYWORDS	Zinc-finger	100	5.60E-04	1.20E-02
	INTERPRO	Zinc finger C2H2-type/integrase DNA-binding domain	50	6.30E-04	2.70E-01
	INTERPRO	Zinc finger, C2H2	54	9.00E-04	2.80E-01
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 16	13	9.80E-04	8.00E-02
	INTERPRO	Krueppel-associated box	32	1.10E-03	2.80E-01
	UP_KEYWORDS	Metal-binding	181	1.20E-03	2.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 18	10	1.20E-03	9.60E-02
	SMART	KRAB	32	1.50E-03	2.10E-01

Annotation Cluster 4	INTERPRO	Zinc finger, C2H2-like	51	1.60E-03	3.40E-01
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 17	11	1.80E-03	1.30E-01
	UP_KEYWORDS	Zinc	121	3.10E-03	4.70E-02
	SMART	ZnF_C2H2	51	4.10E-03	3.00E-01
	GOTERM_MF_DIRECT	metal ion binding	113	7.80E-03	8.80E-01
	UP_KEYWORDS	DNA-binding	104	9.80E-03	1.20E-01
	GOTERM_MF_DIRECT	DNA binding	93	1.10E-02	8.80E-01
	GOTERM_MF_DIRECT	nucleic acid binding	58	1.70E-02	1.00E+00
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 19	7	2.20E-02	9.20E-01
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 1	32	4.70E-02	1.00E+00
	GOTERM_MF_DIRECT	transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	51	1.10E-01	1.00E+00
	UP_KEYWORDS	Transcription	109	1.10E-01	6.40E-01
	UP_KEYWORDS	Transcription regulation	105	1.40E-01	7.70E-01
	UP_KEYWORDS	Nucleus regulation of transcription, DNA- templated	225	1.50E-01	8.30E-01
	GOTERM_BP_DIRECT	transcription, DNA-templated	76	1.70E-01	1.00E+00
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 20	4	1.80E-01	1.00E+00
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 22	3	2.70E-01	1.00E+00
	UP_SEQ_FEATURE	zinc finger region:C2H2-type 21	3	2.90E-01	1.00E+00
	GOTERM_BP_DIRECT	transcription, DNA-templated	91	3.90E-01	1.00E+00
	GOTERM_CC_DIRECT	Nucleus	236	4.70E-01	1.00E+00
	Enrichment Score: 2.55		Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Antimicrobial	15	1.10E-04	3.30E-03
	UP_KEYWORDS	Antibiotic	13	4.10E-04	1.10E-02
	GOTERM_BP_DIRECT	antibacterial humoral response defense response to Gram- positive bacterium	7	1.30E-02	7.00E-01
	GOTERM_BP_DIRECT	innate immune response in mucosa	10	1.30E-02	7.20E-01
	GOTERM_BP_DIRECT		5	2.40E-02	1.00E+00
Annotation Cluster 5	Enrichment Score: 2.32		Count	P_Value	Benjamini
	GOTERM_BP_DIRECT	T cell activation	11	3.40E-05	1.40E-02
	KEGG_PATHWAY	T cell receptor signaling pathway	15	3.10E-04	2.50E-02
	GOTERM_BP_DIRECT	T cell receptor signaling pathway Lck and Fyn tyrosine kinases in initiation of TCR Activation	16	2.60E-03	3.80E-01
	BIOCARTA	T Cell Receptor Signaling Pathway	5	6.80E-03	7.10E-01
	BIOCARTA		9	1.50E-02	7.80E-01
	GOTERM_MF_DIRECT	T cell receptor binding Fc-gamma receptor signaling	3	2.50E-02	1.00E+00
	GOTERM_BP_DIRECT	pathway involved in phagocytosis	5	8.20E-01	1.00E+00

Tablo 4.5.'de fonksiyonel annotation cluster analizi sonucu zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan ilk 5 kümeleme analizi yapılmıştır.

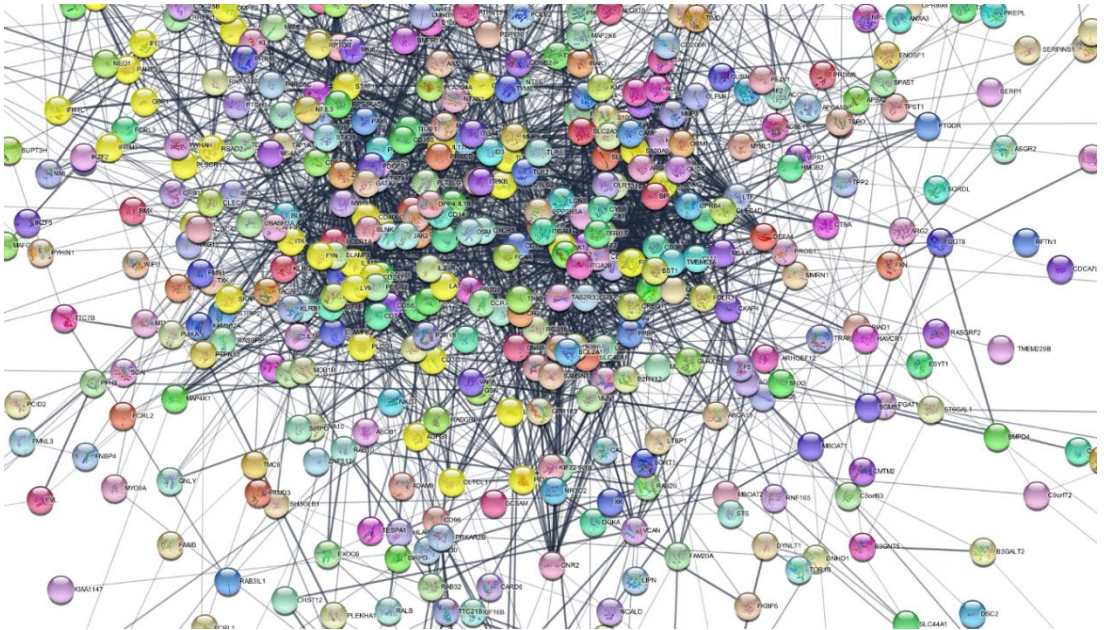
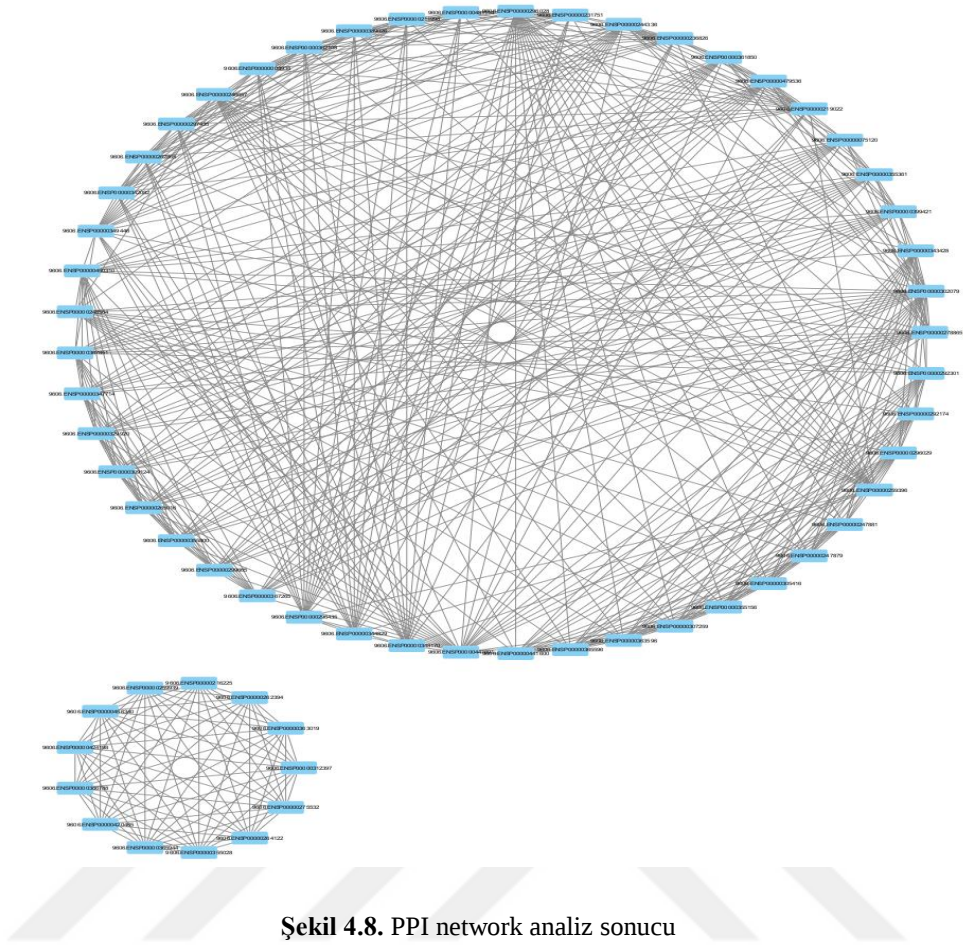
Tablo 4.6. DAVID Bioinformatics Tools ile yapılan yolak analizleri sonucunda gruplar arasında farklı ifade edilen genlerin bulunduğu moleküler yolların listesi

<i>Category</i>	<i>Biological Term</i>	<i>Count</i>	<i>%</i>	<i>P-Value</i>	<i>Benjamini</i>
KEGG_PATHWAY	Hematopoietic cell lineage	19	2,2	1,3E-7	3,3E-5
KEGG_PATHWAY	Inflammatory bowel disease (IBD)	13	1,5	4,7E-5	6,1E-3
KEGG_PATHWAY	T cell receptor signaling pathway	15	1,7	3,1E-4	2,5E-2
KEGG_PATHWAY	Transcriptional misregulation in cancer	20	2,3	4,4E-4	2,5E-2
KEGG_PATHWAY	Malaria	10	1,1	4,9E-4	2,5E-2
KEGG_PATHWAY	Legionellosis	10	1,1	1,0E-3	4,4E-2
KEGG_PATHWAY	Measles	16	1,8	1,9E-3	6,9E-2
KEGG_PATHWAY	Fc epsilon RI signaling pathway	10	1,1	5,3E-3	1,5E-1
KEGG_PATHWAY	Primary immunodeficiency	7	0,8	5,3E-3	1,5E-1
KEGG_PATHWAY	Leishmaniasis	10	1,1	7,0E-3	1,7E-1
KEGG_PATHWAY	Cytokine-cytokine receptor interaction	22	2,5	7,1E-3	1,7E-1
KEGG_PATHWAY	Cell adhesion molecules (CAMs)	15	1,7	8,8E-3	1,8E-1
KEGG_PATHWAY	NF-kappa B signaling pathway	11	1,3	9,1E-3	1,8E-1
KEGG_PATHWAY	Osteoclast differentiation	14	1,6	1,1E-2	2,0E-1
KEGG_PATHWAY	Tuberculosis	17	1,9	1,2E-2	2,0E-1
KEGG_PATHWAY	Fructose and mannose metabolism	6	0,7	1,8E-2	2,7E-1
KEGG_PATHWAY	B cell receptor signaling pathway	9	1,0	1,8E-2	2,7E-1
KEGG_PATHWAY	Influenza A	16	1,8	2,2E-2	3,1E-1
KEGG_PATHWAY	Amoebiasis	11	1,3	3,2E-2	4,4E-1
KEGG_PATHWAY	Toxoplasmosis	11	1,3	4,0E-2	5,2E-1
KEGG_PATHWAY	Salmonella infection	9	1,0	4,7E-2	5,7E-1
KEGG_PATHWAY	Jak-STAT signaling pathway	13	1,5	4,9E-2	5,7E-1
KEGG_PATHWAY	Leukocyte transendothelial migration	11	1,3	5,2E-2	5,8E-1
KEGG_PATHWAY	Systemic lupus erythematosus	12	1,4	6,0E-2	6,3E-1
KEGG_PATHWAY	Circadian rhythm	5	0,6	6,1E-2	6,3E-1
KEGG_PATHWAY	Toll-like receptor signaling pathway	10	1,1	7,1E-2	6,8E-1
KEGG_PATHWAY	Natural killer cell mediated cytotoxicity	11	1,3	7,2E-2	6,8E-1
KEGG_PATHWAY	PI3K-Akt signaling pathway	24	2,7	7,4E-2	6,8E-1
KEGG_PATHWAY	HIF-1 signaling pathway	9	1,0	9,4E-2	8,3E-1

Tablo 4.6.'da DAVID Bioinformatics Tools ile yapılan yolak analizleri sonucunda gruplar arasında farklı ifade edilen genlerin bulunduğu moleküler yolların listesi rapor edilmiştir.

Şekil 4.8.'de PPI network analiz sonucuna göre; birbiri ile en yakın ilişkide bulunan proteinler gösterilmektedir.

Şekil 4.9.'de gösterildiği gibi PPI network analiz sonucu birbirleriyle bağlantılı olan proteinler belirtilmektedir.



4.2. GSE62452 veri setinin biyoinformatik analizleri

Diğer bir veri seti olan GSE62452 adlı veri setinde; NCBI GEO Veri Setinde kodlanmış GSE49641'in ham transkriptom verileri kullanılmıştır. Bu veri setinde 45 PDAC ve 45 sağlıklı birey dokularından elde edilen gen ekspresyon verileri bulunmaktadır. TAC 4.0 programı ile veriler üzerinde ön işleme ve karşılaştırma analizleri yapılarak, PDAC ve sağlıklı bireyler arasında diferansiyel olarak eksprese edilen gen listesi (DEG'ler) belirlenmiştir.

Daha sonra bu genlerle DAVID Bioinformatics Tool ile yol analizi, fonksiyonel kümeleme analizi ve zenginleştirme analizi yapılmıştır. CEL dosyalarında Transkriptome Analiz Konsolu (TAC 4.0) ile; Ön işleme (Ön analiz), Varyans Filtreleme ve Grup karşılaştırması (Kat değişim eşiği $<-1.5 +1.5>$ ve $p < 0.05$) yapıldı. Karşılaştırma sonucunda kanser ve kontrol grupları arasında farklı ekspresyon düzeylerini gösteren gen listesi elde edilmiştir.

Tablo 4.7. GSE62452 veri setindeki kontrol ve hasta sayıları

Farklı İfade Edilen Gen Sayısı	İfadesi Artan	İfadesi azalan	Toplam
PDAC vs. Kontrol Karşılaştırması	896	607	1503
GSE62452	PDAC	Kontrol	Toplam
Kontrol ve Hasta Sayıları	45	45	90

Bu grupta toplam 1503 gen valide edilmiş olup, bunlardan 896 tanesinin ifadesinin arttığı, 607 tanesinin ifadesinin azaldığı **Tablo 4.7.**'de belirtilmiştir.

Tablo 4.8.'de GSE62452 normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 gen listesi belirtilmiştir. Tablo 4.9.'da ise GSE62452 normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 ifadesi azalan gen listesi gösterilmiştir.

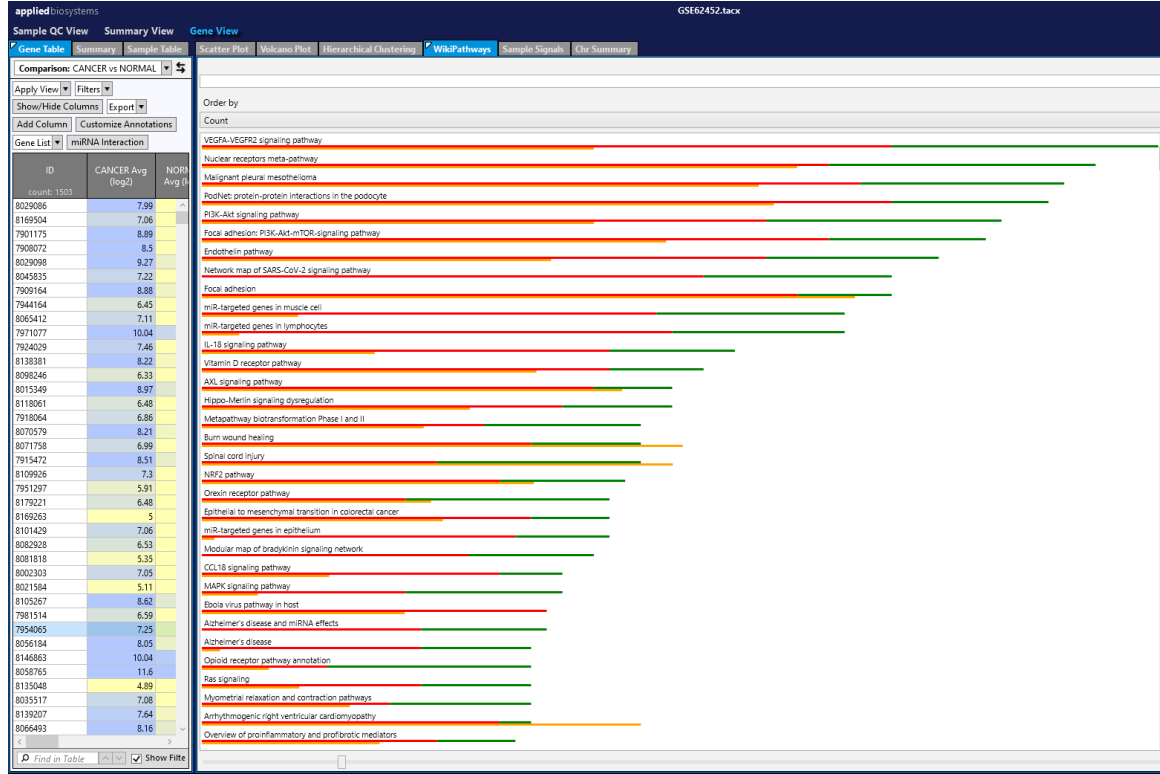
Tablo 4.8. GSE62452 Normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 gen listesi

ID	CANCER Avg (log2)	NORMAL Avg (log2)	Fold Change	P-val	FDR P-val	Gene Symbol
8029086	7.99	3.63	20.5	1.63E-13	1.13E-10	CEACAM5
8169504	7.06	3.06	15.99	1.17E-15	3.20E-12	SLC6A14
7901175	8.89	5.1	13.78	1.72E-17	1.25E-13	TSPAN1
7908072	8.5	4.98	11.51	1.02E-18	1.86E-14	LAMC2
8029098	9.27	5.8	11.08	1.66E-12	6.18E-10	CEACAM6
8045835	7.22	3.85	10.3	3.13E-16	1.52E-12	GALNT5
7909164	8.88	5.6	9.7	1.18E-14	1.76E-11	CTSE
7944164	6.45	3.43	8.1	1.28E-16	7.45E-13	TMPRSS4
8065412	7.11	4.17	7.68	4.57E-10	4.60E-08	CST1
7971077	10.04	7.17	7.31	1.48E-12	5.83E-10	POSTN
7924029	7.46	4.63	7.12	1.28E-18	1.86E-14	LAMB3
8138381	8.22	5.39	7.11	3.67E-13	2.12E-10	AGR2
8098246	6.33	3.5	7.09	6.05E-11	9.52E-09	ANXA10
8015349	8.97	6.27	6.52	9.13E-14	7.59E-11	KRT19
8118061	6.48	3.78	6.52	4.84E-10	4.77E-08	DPCR1
7918064	6.86	4.16	6.47	1.85E-13	1.23E-10	COL11A1
8070579	8.21	5.57	6.23	3.80E-09	2.46E-07	TFF1
8071758	6.99	4.4	6.01	5.24E-12	1.57E-09	MMP11
7915472	8.51	5.93	5.97	5.18E-15	9.41E-12	SLC2A1
8109926	7.3	4.76	5.82	1.15E-07	3.55E-06	GABRP
7951297	5.91	3.38	5.78	8.93E-09	4.75E-07	MMP12
8179221	6.48	3.95	5.75	6.95E-10	6.46E-08	DPCR1
8169263	5	2.49	5.69	5.32E-10	5.20E-08	VSIG1
8101429	7.06	4.56	5.67	8.22E-10	7.40E-08	PLAC8
8082928	6.53	4.03	5.66	7.57E-10	6.94E-08	CLDN18

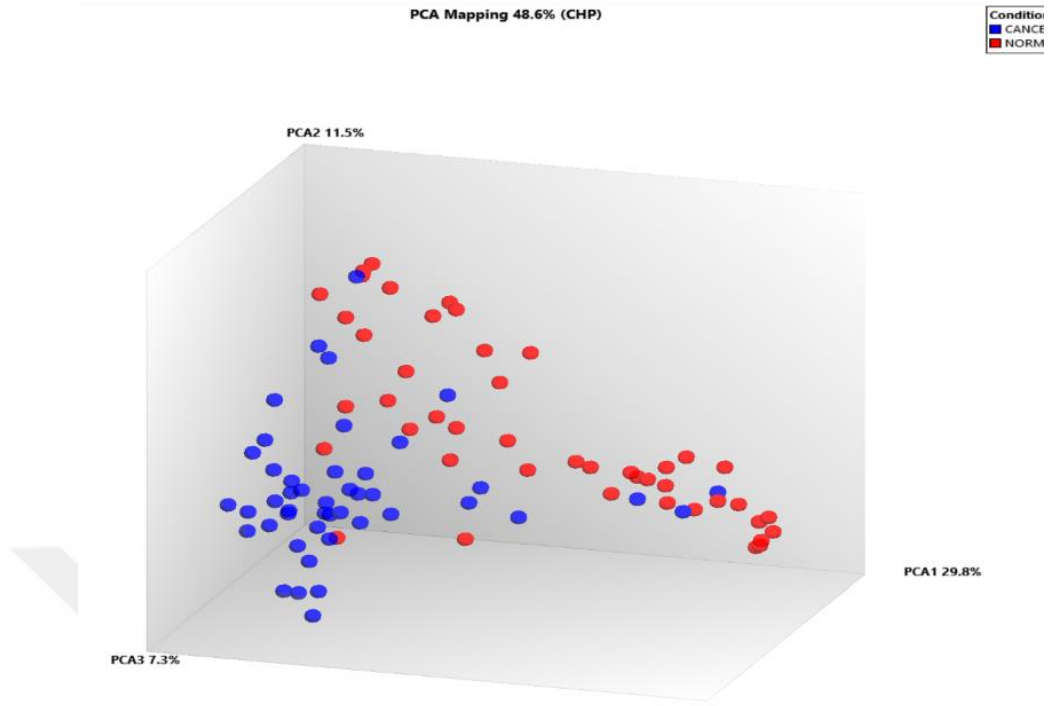
Tablo 4.9. GSE62452 Normal ve tümör dokusu karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesinde kat değişim skoru en yüksek olan ilk 25 ifadesi azalan gen listesi

ID	CANCER Avg (log2)	NORMAL Avg (log2)	Fold Change	P-val	FDR P-val	Gene Symbol
7930790	4.62	11	-83.07	2.13E-06	3.65E-05	PNLIPRP1
7999920	5.9	11.55	-50.26	1.53E-05	0.0002	GP2
7936798	5.29	10.74	-43.87	2.12E-05	0.0002	CUZD1
8158976	6.04	11.1	-33.22	1.60E-05	0.0002	CEL
7898167	4.69	9.61	-30.28	3.79E-06	5.85E-05	CTRC
8125936	6.78	11.43	-25.05	1.21E-05	0.0001	CLPS
7898184	4.86	9.47	-24.43	1.30E-05	0.0002	CELA2B
7898176	4.97	9.48	-22.82	2.52E-05	0.0003	CELA2A; CELA2B
7967034	7.33	11.83	-22.54	2.28E-05	0.0002	PLA2G1B
7898732	3.08	7.57	-22.4	1.11E-06	2.18E-05	
8136187	7.99	12.4	-21.26	5.06E-05	0.0005	CPA2
7930804	5.99	10.32	-20.05	8.06E-06	0.0001	PNLIPRP2
8002845	7.8	12.02	-18.66	4.84E-05	0.0005	CTRB2; CTRB1
8095628	3.62	7.76	-17.66	1.38E-07	4.13E-06	ALB
8091910	2.69	6.81	-17.35	8.02E-07	1.68E-05	SERPINI2
8136235	8.27	12.34	-16.71	0.0002	0.0013	CPA1
7898713	7.97	11.98	-16.05	6.34E-05	0.0006	CELA3B
7997264	8.04	12.01	-15.66	4.28E-05	0.0004	CTRB1
7898725	8.4	12.35	-15.46	6.00E-05	0.0005	CELA3A; CELA3B
7954377	3.58	7.46	-14.68	2.69E-09	1.89E-07	IAPP
8038633	5.58	9.29	-13.12	6.02E-06	8.50E-05	KLK1
7961524	4.56	8.26	-12.95	1.21E-06	2.34E-05	ERP27
7930777	8.17	11.8	-12.42	0.0001	0.0009	PNLIP
8002121	4.62	8.2	-11.94	2.52E-06	4.17E-05	CTRL
8036699	5.19	8.67	-11.21	6.30E-06	8.82E-05	SYCN

Şekil 4.10.'da GSE62452 yolak analizleri sonucu tespit edilen en önemli moleküler yolakların listesi belirlenmiştir. Şekil 4.11.'de ise GSE62452 Principle component analizi sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımlarını gösteren harita tespit edilmiştir. Şekil 4.12.'de belirtildiği gibi GSE 62452 Kanser ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim skor dağılımını gösterilmiştir.



Şekil 4.10. GSE62452 yolak analizleri sonucu tespit edilen en önemli moleküler yolakların listesi



Şekil 4.11. GSE62452 Principle component analizi sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımlarını gösteren harita

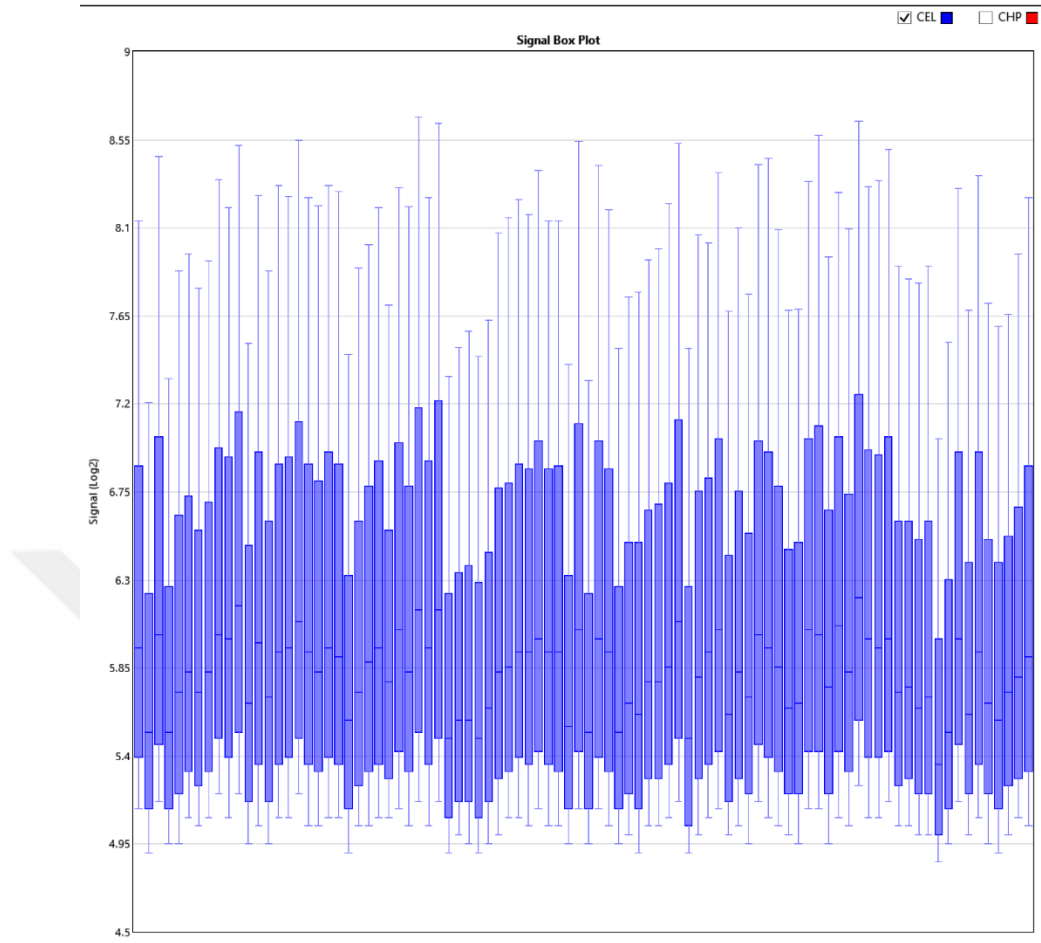


Şekil 4.12. GSE 62452 Kanseri ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim skor dağılımını gösteren grafik



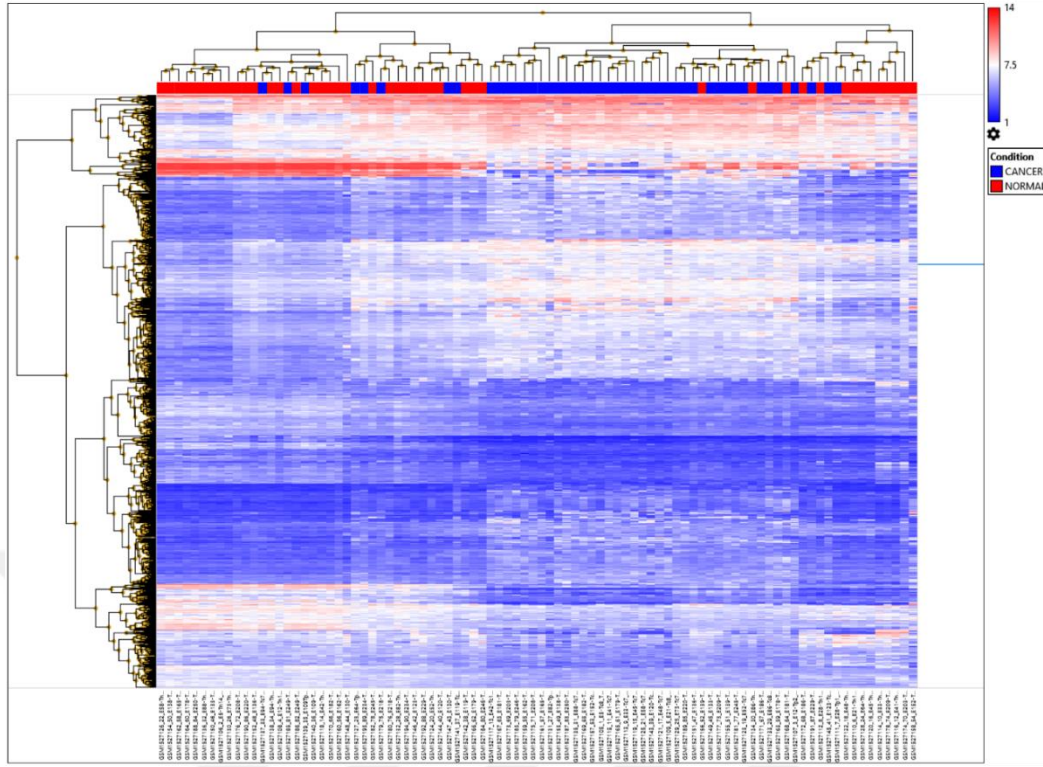
Şekil 4.13. Tümör ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim ve p değerinin dağılımını gösteren volcano grafiği

Şekil 4.13.'de tümör ve normal doku karşılaştırmasında her bir gen için hesaplanan kat değişim ve p değerinin dağılımını gösteren volcano grafiği rapor edilmiştir. Şekil 4.14.'de ise, GSE62452 analiz sırasında kullanılan herbir örnekten gelen sinyallerin log2 değerini gösteren grafik tespit edilmiştir.

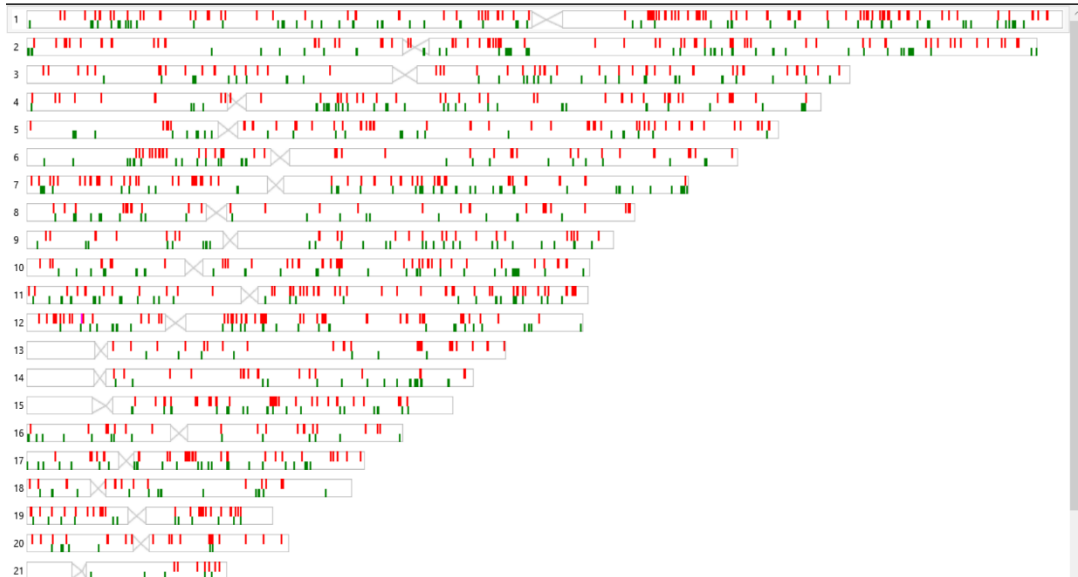


Şekil 4.14. GSE62452 Analiz sırasında kullanılan herbir örnekten gelen sinyallerin log2 değerini gösteren grafik

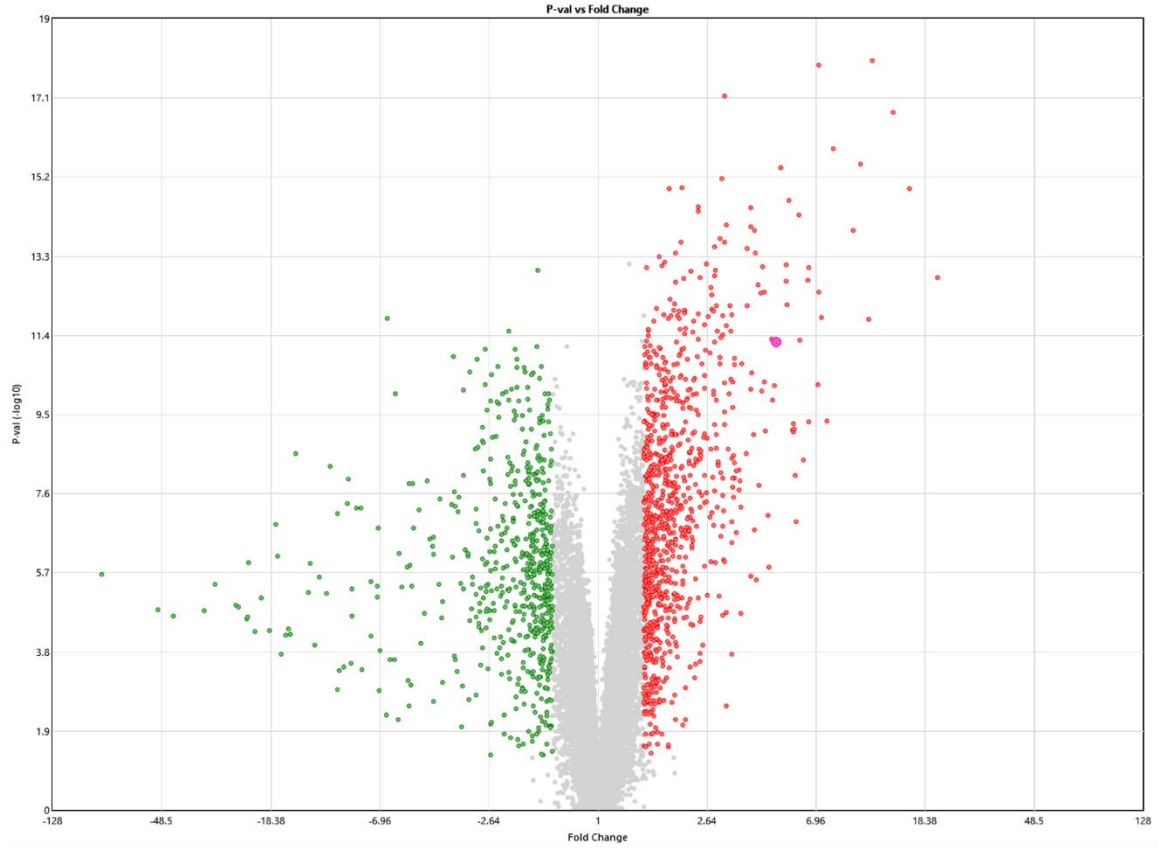
Şekil 4.15.'de GSE62452 tümör ve normal doku karşılaştırması sonucunda farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan Unsupervised Hierarchical Cluster Analysis sonucunda elde edilen HeatMap grafiği belirlenmiş olup, üstteki dendogram örnekleri sol yan taraftaki dendogram ise farklı ifade edilen genleri temsil etmektedir. Şekil 4.16.'da GSE62452 grup karşılaştırması yapılmış olup, farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösteren grafik belirlenmiştir.



Şekil 4.15. GSE62452 Tümör ve normal doku karşılaştırması sonucunda farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan Unsupervised Hierarchical Cluster Analysis sonucunda elde edilen HeatMap grafiği.



Şekil 4.16. GSE62452 Grup karşılaştırması sonucunda farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösteren grafik



Şekil 4.17. GSE62452 Farklı ifade edilen genlerin kat değişimi

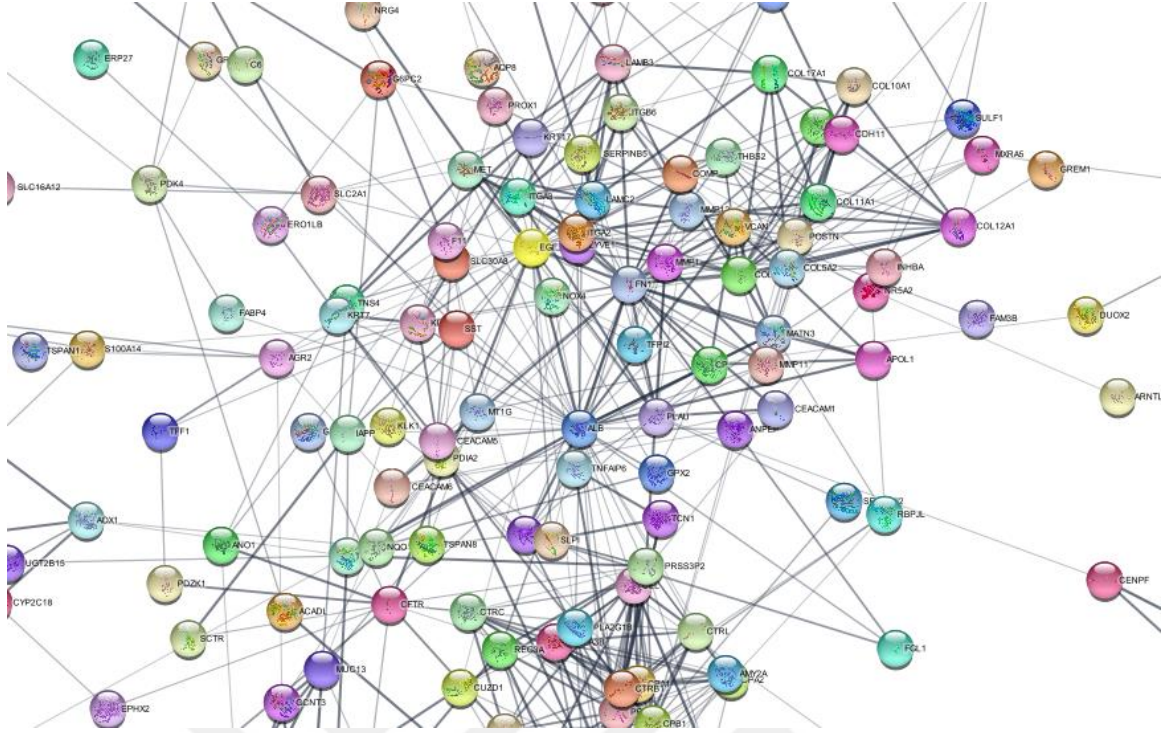
Şekil 4.17.'de GSE62452 Farklı ifade edilen genlerin kat değişimi belirlenmiş olup, ifadesi artan ve azalan genler tespit edilmiştir. Tablo 4.10.'da GSE62452 DAVID bioinformatics tool ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizi sonucunda elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan en önemli ilk 5 kümeyi ve istatistiksel analizi yapılmıştır. Tablo 4.11.'de ise farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan KEGG yolak analizi sonucunda elde edilen ve istatistiksel olarak en anlamlı olan moleküler yollar bulunmuştur.

Tablo 4.10. GSE62452 DAVID bioinformatics tool ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizi sonucunda elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan en önemli ilk 5 kümeyi ve istatistiksel analizi

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 6.78	Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Transmembrane helix	454	5.00E-09	2.00E-07
	UP_KEYWORDS	Transmembrane	455	5.30E-09	2.00E-07
	UP_SEQ_FEATURE	transmembrane region	409	9.90E-08	4.40E-05
	GOTERM_CC_DIRECT	integral component of membrane	417	3.00E-04	6.90E-03
Annotation Cluster 2		Enrichment Score: 4.63	Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Serine protease	27	9.20E-07	2.10E-05
	UP_SEQ_FEATURE	domain:Peptidase S1	22	5.70E-06	2.10E-03
	INTERPRO	Peptidase S1, trypsin family, active site	21	1.70E-05	6.20E-03
	INTERPRO	Trypsin-like cysteine/serine peptidase domain	23	5.50E-05	1.30E-02
	INTERPRO	Peptidase S1	22	6.20E-05	1.30E-02
	INTERPRO	Peptidase S1A, chymotrypsin-type	21	7.80E-05	1.40E-02
	SMART	Tryp_SPc	22	1.50E-04	1.40E-02
Annotation Cluster 3		Enrichment Score: 3.86	Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Cadmium	7	4.80E-06	8.30E-05
	GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of growth	9	2.50E-05	5.50E-03
	INTERPRO	Metallothionein, vertebrate, metal binding site	7	3.50E-05	9.30E-03
	UP_SEQ_FEATURE	region of interest:Alpha	7	8.40E-05	1.40E-02
	UP_SEQ_FEATURE	region of interest:Beta	7	8.40E-05	1.40E-02
	UP_KEYWORDS	Metal-thiolate cluster	7	1.30E-04	1.70E-03
	UP_SEQ_FEATURE	metal ion-binding site:Divalent metal cation; cluster A	7	1.40E-04	2.20E-02
	UP_SEQ_FEATURE	metal ion-binding site:Divalent metal cation; cluster B	7	1.40E-04	2.20E-02
	INTERPRO	Metallothionein superfamily, eukaryotic	7	1.90E-04	1.70E-02
	INTERPRO	Metallothionein domain	7	1.90E-04	1.70E-02
	INTERPRO	Metallothionein domain, vertebrate	7	1.90E-04	1.70E-02
	INTERPRO	Metallothionein, vertebrate	7	1.90E-04	1.70E-02
	GOTERM_BP_DIRECT	cellular response to zinc ion	7	1.60E-03	1.20E-01
	GOTERM_BP_DIRECT	cellular response to cadmium ion	6	5.60E-03	2.60E-01
Annotation Cluster 4		Enrichment Score: 3.69	Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Annexin	7	1.30E-04	1.70E-03
	INTERPRO	Annexin repeat, conserved site	7	1.90E-04	1.70E-02
	INTERPRO	Annexin repeat	7	1.90E-04	1.70E-02
	INTERPRO	Annexin	7	1.90E-04	1.70E-02
	UP_SEQ_FEATURE	repeat:Annexin 1	7	2.20E-04	2.80E-02
	UP_SEQ_FEATURE	repeat:Annexin 2	7	2.20E-04	2.80E-02
	UP_SEQ_FEATURE	repeat:Annexin 3	7	2.20E-04	2.80E-02
	UP_SEQ_FEATURE	repeat:Annexin 4	7	2.20E-04	2.80E-02
	SMART	ANX	7	3.00E-04	1.80E-02
Annotation Cluster 5		Enrichment Score: 3.54	Count	P_Value	Benjamini
	UP_SEQ_FEATURE	propeptide:C-terminal propeptide	6	5.30E-05	1.10E-02
	UP_SEQ_FEATURE	domain:Fibrillar collagen NC1	6	3.70E-04	4.40E-02
	INTERPRO	Fibrillar collagen, C-terminal	6	4.90E-04	3.40E-02
	SMART	COLFI	6	7.20E-04	3.70E-02

Tablo 4.11. Farklı ifade edilen gen listesi kullanılarak yapılan KEGG yolak analizi sonucunda elde edilen ve istatistiksel olarak en anlamlı olan moleküler yollar

<i>Category</i>	<i>Term</i>	<i>Count</i>	<i>%</i>	<i>P-Value</i>	<i>Benjamini</i>
KEGG_PATHWAY	ECM-receptor interaction	35	2,6	9,2E-16	2,5E-13
KEGG_PATHWAY	Pancreatic secretion	31	2,3	1,6E-11	2,1E-9
KEGG_PATHWAY	Protein digestion and absorption	29	2,2	1,1E-10	9,8E-9
KEGG_PATHWAY	Focal adhesion	46	3,4	4,2E-10	2,8E-8
KEGG_PATHWAY	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	20	1,5	8,5E-7	4,6E-5
KEGG_PATHWAY	Amoebiasis	25	1,9	2,9E-6	1,2E-4
KEGG_PATHWAY	PI3K-Akt signaling pathway	54	4,0	3,2E-6	1,2E-4
KEGG_PATHWAY	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	20	1,5	1,0E-5	3,4E-4
KEGG_PATHWAY	Malaria	15	1,1	2,2E-5	6,5E-4
KEGG_PATHWAY	Dilated cardiomyopathy	20	1,5	3,1E-5	8,5E-4
KEGG_PATHWAY	Proteoglycans in cancer	34	2,5	6,0E-5	1,5E-3
KEGG_PATHWAY	Glycolysis / Gluconeogenesis	17	1,3	6,6E-5	1,5E-3
KEGG_PATHWAY	Pathways in cancer	54	4,0	1,3E-4	2,7E-3
KEGG_PATHWAY	Mineral absorption	13	1,0	1,4E-4	2,7E-3
KEGG_PATHWAY	Transcriptional misregulation in cancer	28	2,1	3,9E-4	7,0E-3
KEGG_PATHWAY	Biosynthesis of amino acids	16	1,2	5,5E-4	9,2E-3
KEGG_PATHWAY	Regulation of actin cytoskeleton	32	2,4	7,6E-4	1,2E-2
KEGG_PATHWAY	Central carbon metabolism in cancer	14	1,0	1,6E-3	2,3E-2
KEGG_PATHWAY	Retinol metabolism	14	1,0	1,6E-3	2,3E-2
KEGG_PATHWAY	Drug metabolism - cytochrome P450	14	1,0	2,9E-3	3,8E-2
KEGG_PATHWAY	Complement and coagulation cascades	14	1,0	3,3E-3	4,2E-2
KEGG_PATHWAY	Maturity onset diabetes of the young	8	0,6	3,8E-3	4,6E-2
KEGG_PATHWAY	African trypanosomiasis	9	0,7	4,1E-3	4,8E-2
KEGG_PATHWAY	Rheumatoid arthritis	16	1,2	4,5E-3	5,0E-2
KEGG_PATHWAY	Chemical carcinogenesis	15	1,1	4,7E-3	5,0E-2
KEGG_PATHWAY	Systemic lupus erythematosus	21	1,6	5,5E-3	5,7E-2
KEGG_PATHWAY	Axon guidance	20	1,5	6,6E-3	6,6E-2
KEGG_PATHWAY	Small cell lung cancer	15	1,1	8,1E-3	7,8E-2
KEGG_PATHWAY	Hematopoietic cell lineage	15	1,1	9,9E-3	9,2E-2
KEGG_PATHWAY	Fat digestion and absorption	9	0,7	1,2E-2	1,1E-1
KEGG_PATHWAY	Starch and sucrose metabolism	8	0,6	1,5E-2	1,3E-1
KEGG_PATHWAY	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	13	1,0	1,5E-2	1,3E-1
KEGG_PATHWAY	p53 signaling pathway	12	0,9	1,8E-2	1,5E-1
KEGG_PATHWAY	HIF-1 signaling pathway	15	1,1	2,2E-2	1,8E-1
KEGG_PATHWAY	Galactose metabolism	7	0,5	3,1E-2	2,4E-1
KEGG_PATHWAY	Mucin type O-Glycan biosynthesis	7	0,5	3,6E-2	2,7E-1
KEGG_PATHWAY	Cell adhesion molecules (CAMs)	19	1,4	3,8E-2	2,8E-1
KEGG_PATHWAY	Carbon metabolism	16	1,2	3,9E-2	2,8E-1
KEGG_PATHWAY	Fructose and mannose metabolism	7	0,5	4,1E-2	2,8E-1
KEGG_PATHWAY	PPAR signaling pathway	11	0,8	4,3E-2	2,8E-1
KEGG_PATHWAY	Glycerolipid metabolism	10	0,7	4,3E-2	2,8E-1
KEGG_PATHWAY	Leukocyte transendothelial migration	16	1,2	4,5E-2	2,9E-1
KEGG_PATHWAY	Fatty acid degradation	8	0,6	5,0E-2	3,2E-1
KEGG_PATHWAY	Rap1 signaling pathway	25	1,9	5,4E-2	3,3E-1
KEGG_PATHWAY	Butirosin and neomycin biosynthesis	3	0,2	5,6E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Biosynthesis of antibiotics	25	1,9	6,0E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Phagosome	19	1,4	6,0E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Platelet activation	17	1,3	6,1E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Ascorbate and aldarate metabolism	6	0,4	6,3E-2	3,5E-1
KEGG_PATHWAY	Ras signaling pathway	26	1,9	6,9E-2	3,7E-1
KEGG_PATHWAY	Cytokine-cytokine receptor interaction	27	2,0	8,8E-2	4,7E-1
KEGG_PATHWAY	Glycine, serine and threonine metabolism	7	0,5	9,3E-2	4,8E-1
KEGG_PATHWAY	Bacterial invasion of epithelial cells	11	0,8	9,9E-2	5,0E-1



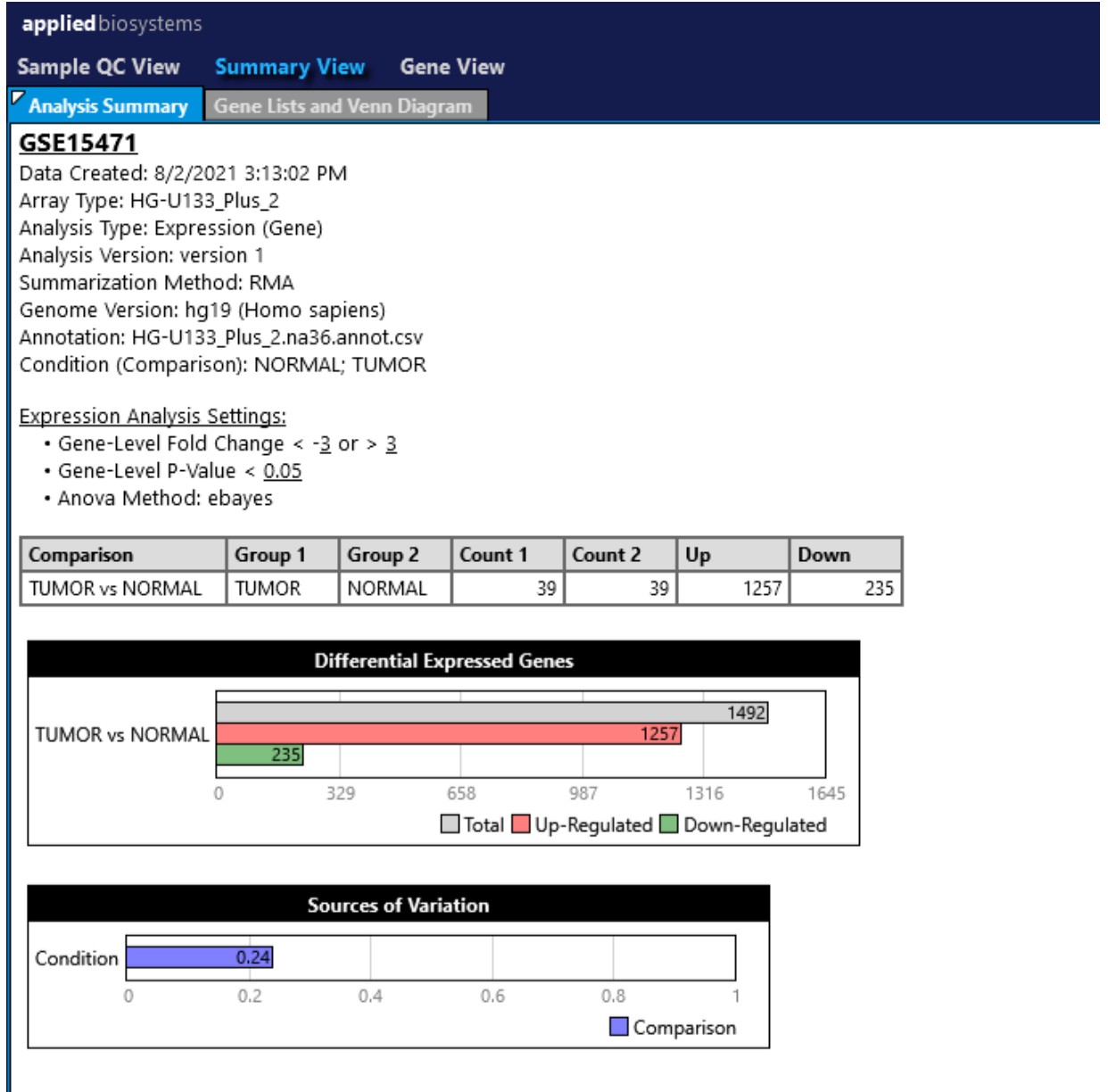
Şekil 4.18. GSE62452 PPI Network analiz sonucu

Şekil 4.18.'de gösterildiği gibi GSE62452 PPI Network analiz sonucunda protein- protein inter aktivasyonu belirlenmiştir.

4.3. GSE15471 Veri Setinin Biyoinformatik Analizleri

Bu çalışmada kullanılan GSE15471 adlı veri setinde; NCBI GEO Veri Setinde kodlanmış GSE49641'in ham transkriptom verileri kullanılmıştır. Şekil 4.19.'da gösterildiği gibi bu veri setinde 39 PDAC ve 39 sağlıklı birey doku örneklerinden elde edilen gen ekspresyon verileri bulunmaktadır. TAC 4.0 programı ile veriler üzerinde ön işleme ve karşılaştırma analizleri yapılarak, PDAC ve sağlıklı bireyler arasında diferansiyel olarak eksprese edilen gen listesi (DEG'ler) belirlenmiştir. Daha sonra bu genlerle DAVID Bioinformatics Tool ile yol analizi, fonksiyonel kümeleme analizi ve zenginleştirme analizi yapılmıştır.

CEL dosyalarında Transkriptome Analiz Konsolu (TAC 4.0) ile; Ön işleme (Ön analiz), Varyans Filtreleme ve Grup karşılaştırması (Kat değişim eşiği $<-3 +3>$ ve $p < 0.05$) yapılmış olup, karşılaştırma sonucunda kanser ve kontrol grupları arasında farklı ekspresyon düzeylerini gösteren gen listesi elde edilmiştir.



Şekil 4.19. GSE15471 Tümör ve normal dokularda farklı ifade edilen genlerin sayıları

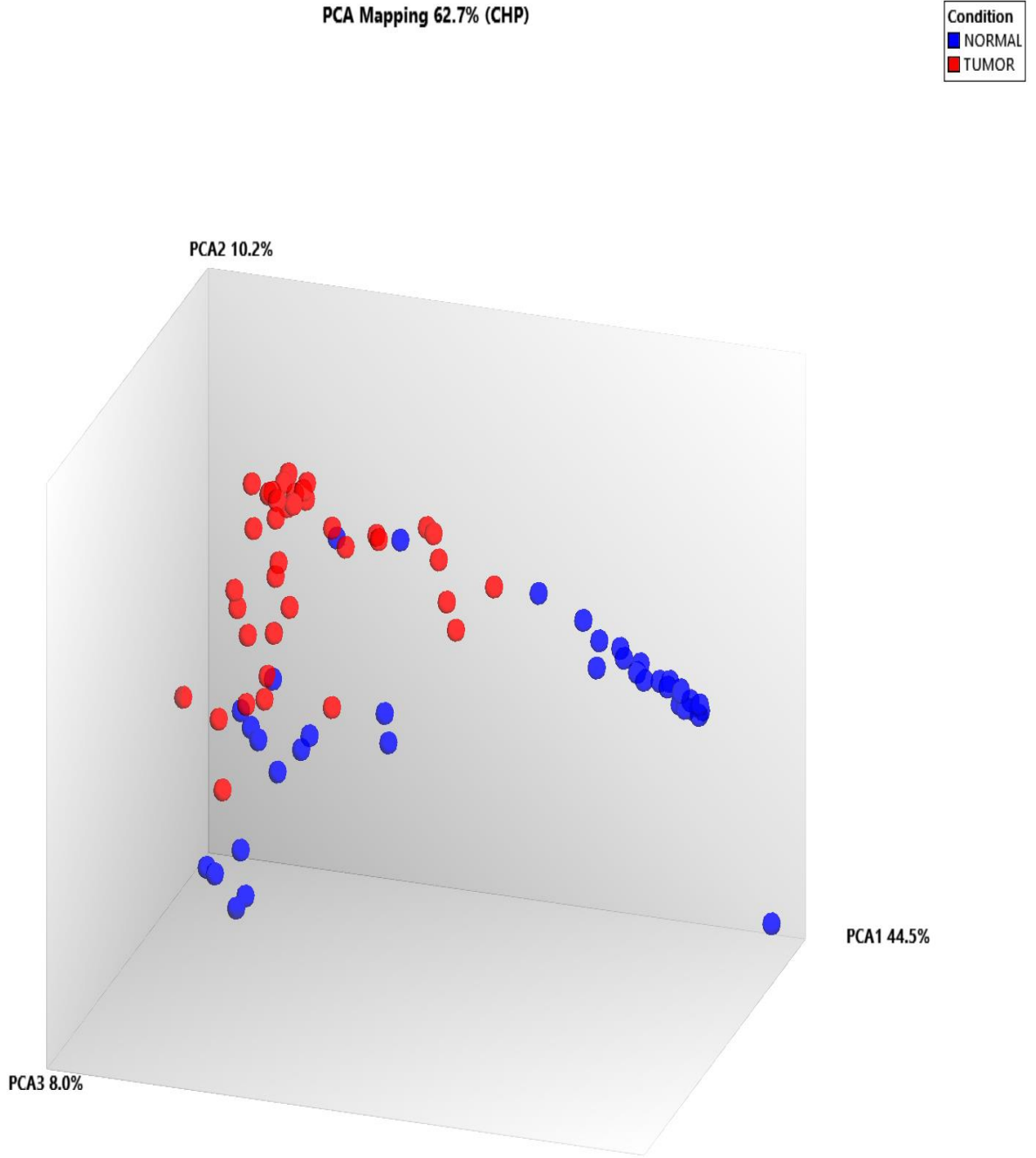
Tablo 4.12.’de GSE15471 veri setindeki tümör ve normal doku karşılaştırmasında elde edilen farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi artan genler belirlenmiştir. Tablo 4.13.’de ise GSE15471 tümör ve normal doku karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi azalan genler tespit edilmiştir.

Tablo 4.12. GSE15471 Tümör ve normal doku karşılaştırmasında elde edilen farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi artan genler

ID	TUMOR Avg (log2)	NORMAL Avg (log2)	Fold Change	P-val	FDR P-val	Gene Symbol
227140_at	10.68	4.16	91.98	7.06E-23	9.64E-19	INHBA
1555778_a_at	10.86	4.47	83.71	3.59E-18	3.44E-15	POSTN
217428_s_at	10.1	3.86	75.54	1.21E-22	1.33E-18	COL10A1
210809_s_at	12.12	5.97	70.91	1.05E-17	8.20E-15	POSTN
226237_at	10.03	4.25	54.96	4.54E-22	3.54E-18	COL8A1
212353_at	10.67	5.2	44.22	9.09E-24	1.66E-19	SULF1
202311_s_at	9.56	4.22	40.64	2.70E-18	2.89E-15	COL1A1
202310_s_at	13.21	7.87	40.44	1.46E-19	2.68E-16	COL1A1
37892_at	9.22	3.89	40.12	4.53E-18	4.13E-15	COL11A1
202404_s_at	13.02	7.74	38.96	1.29E-19	2.52E-16	COL1A2
212354_at	10.92	5.67	38.01	4.80E-24	1.31E-19	SULF1
225681_at	11.62	6.48	35.22	2.49E-20	6.71E-17	CTHRC1
229802_at	8.33	3.3	32.49	1.47E-19	2.68E-16	WISP1
215646_s_at	11.04	6.06	31.57	4.52E-20	1.12E-16	VCAN
214974_x_at	8.9	3.95	30.93	2.72E-13	3.52E-11	CXCL5
227566_at	9.48	4.59	29.61	7.11E-22	4.78E-18	NTM
205941_s_at	10.42	5.55	29.21	9.61E-22	4.78E-18	COL10A1
211571_s_at	10.82	6.04	27.51	2.31E-20	6.63E-17	VCAN
210511_s_at	9.76	4.99	27.22	3.71E-22	3.37E-18	INHBA
203083_at	11.42	6.66	27.01	3.68E-21	1.26E-17	THBS2
204619_s_at	9.74	5.03	26.29	2.94E-21	1.15E-17	VCAN
218468_s_at	9.24	4.55	25.86	7.20E-11	3.26E-09	GREM1
223278_at	8.15	3.6	23.5	1.06E-15	3.54E-13	GJB2
221872_at	9.74	5.2	23.25	5.09E-15	1.35E-12	RARRES1
201650_at	10.5	5.97	23	2.41E-13	3.15E-11	KRT19

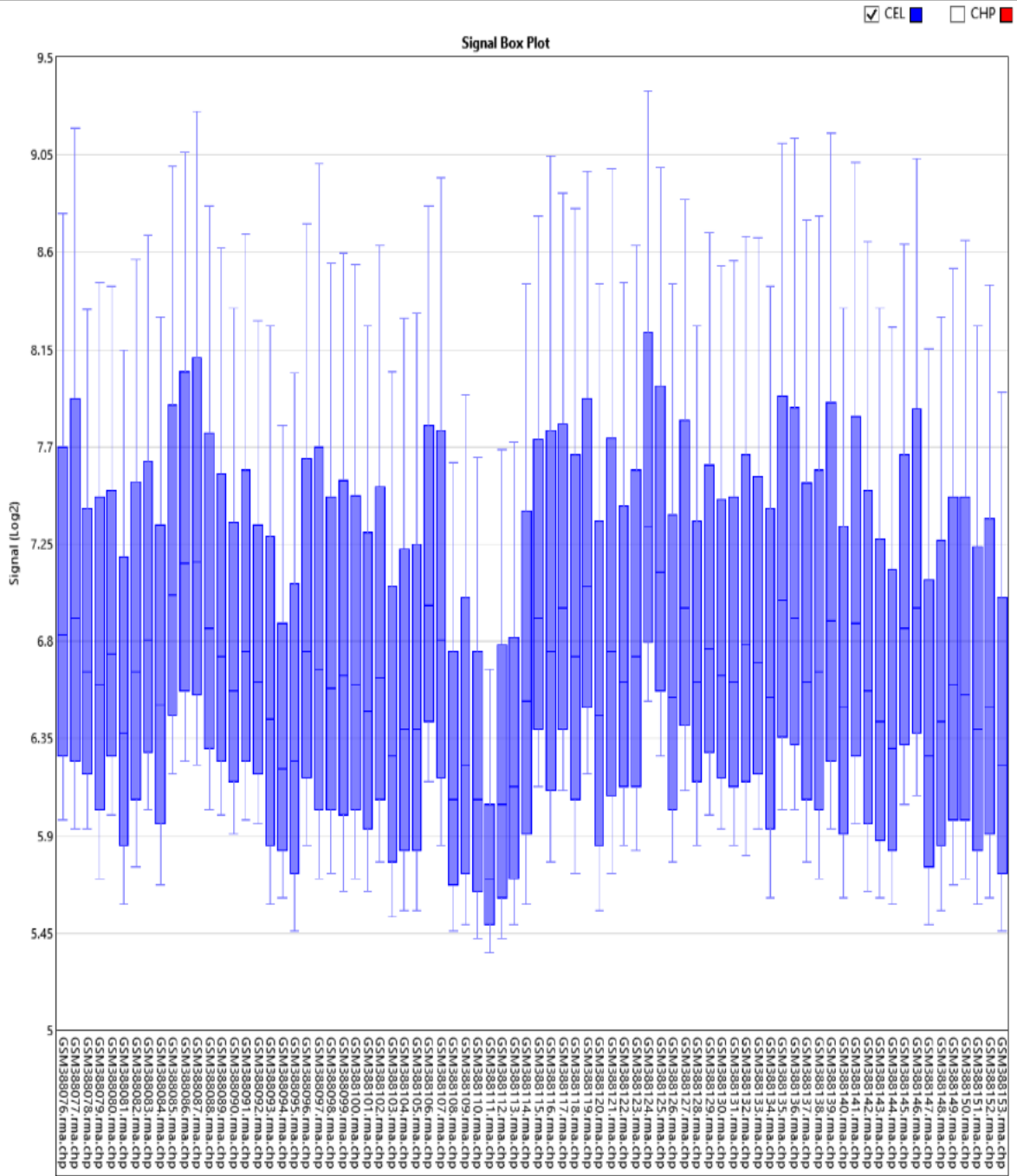
Tablo 4.13. GSE15471 Tümör ve normal doku karşılaştırmasında farklı ifade edilen gen listesindeki ilk 25 ifadesi azalan genler

ID	TUMOR Avg (log2)	NORMAL Avg (log2)	Fold Change	P-val	FDR P-val	Gene Symbol
1565228_s_at	3.25	11.37	-277.34	5.75E-05	0.0001	ALB
207636_at	5	12.86	-232.36	0.0009	0.0016	SERPINI2
211298_s_at	5.47	12.68	-147.84	0.0003	0.0006	ALB
210722_at	4.62	11.82	-146.37	0.002	0.0035	PNLIPRP1
214377_s_at	6.55	13.46	-120.31	0.0004	0.0008	CTRL
229995_at	7.49	14.01	-91.8	0.0039	0.0064	SYCN
206784_at	5.56	12.01	-87.46	2.60E-05	7.06E-05	AQP8
207077_at	7.26	13.53	-77.5	0.0045	0.0074	CELA2B
233514_x_at	5.14	11.32	-72.79	6.30E-06	2.06E-05	TEX11
234296_s_at	3.26	9.12	-58.12	4.63E-06	1.58E-05	TEX11
206447_at	8.34	13.96	-49.13	0.0314	0.0439	CELA2A; CELA2B
227450_at	7.87	13.48	-49.08	0.0011	0.002	ERP27
206694_at	8.27	13.75	-44.64	0.0232	0.0332	PNLIPRP1
207412_x_at	8.46	13.88	-42.71	0.0096	0.0148	CELP
229778_at	3.23	8.53	-39.4	4.23E-08	3.66E-07	SPX
206681_x_at	8.87	14.15	-38.92	0.0052	0.0085	GP2
214325_at	4.59	9.84	-38.04	4.51E-07	2.29E-06	GP2
220275_at	8.11	13.27	-35.91	0.0255	0.0363	CUZD1
214324_at	8.49	13.52	-32.71	0.0089	0.0137	GP2
216699_s_at	7.01	11.99	-31.59	0.0002	0.0005	KLK1
210328_at	4.5	9.48	-31.37	2.76E-07	1.55E-06	GNMT
206691_s_at	6.4	11.36	-31.13	1.38E-05	4.07E-05	PDIA2
1559575_a_at	4.3	9.16	-28.98	6.04E-07	2.90E-06	AQP12A; AQP12B
208473_s_at	9.16	14	-28.69	0.0223	0.0321	GP2
236430_at	5.9	10.71	-28.06	3.81E-05	9.89E-05	TMED6



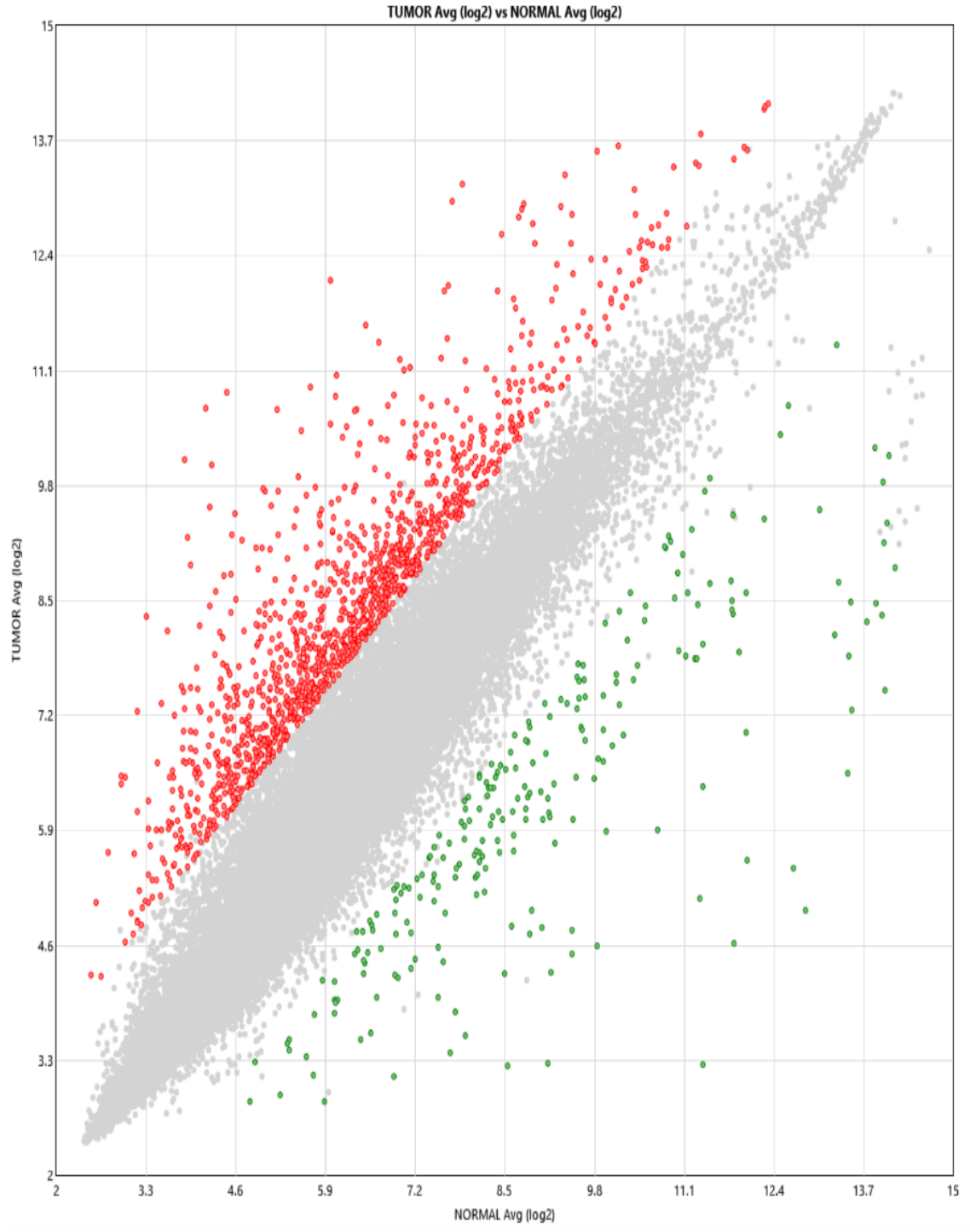
Şekil 4.20. Principle component analysis (PCA) sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımını gösteren harita

Şekil 4.20.'de Principle component analysis (PCA) sonucunda tümör ve normal doku örneklerinin dağılımını gösteren harita çıkarılmıştır.

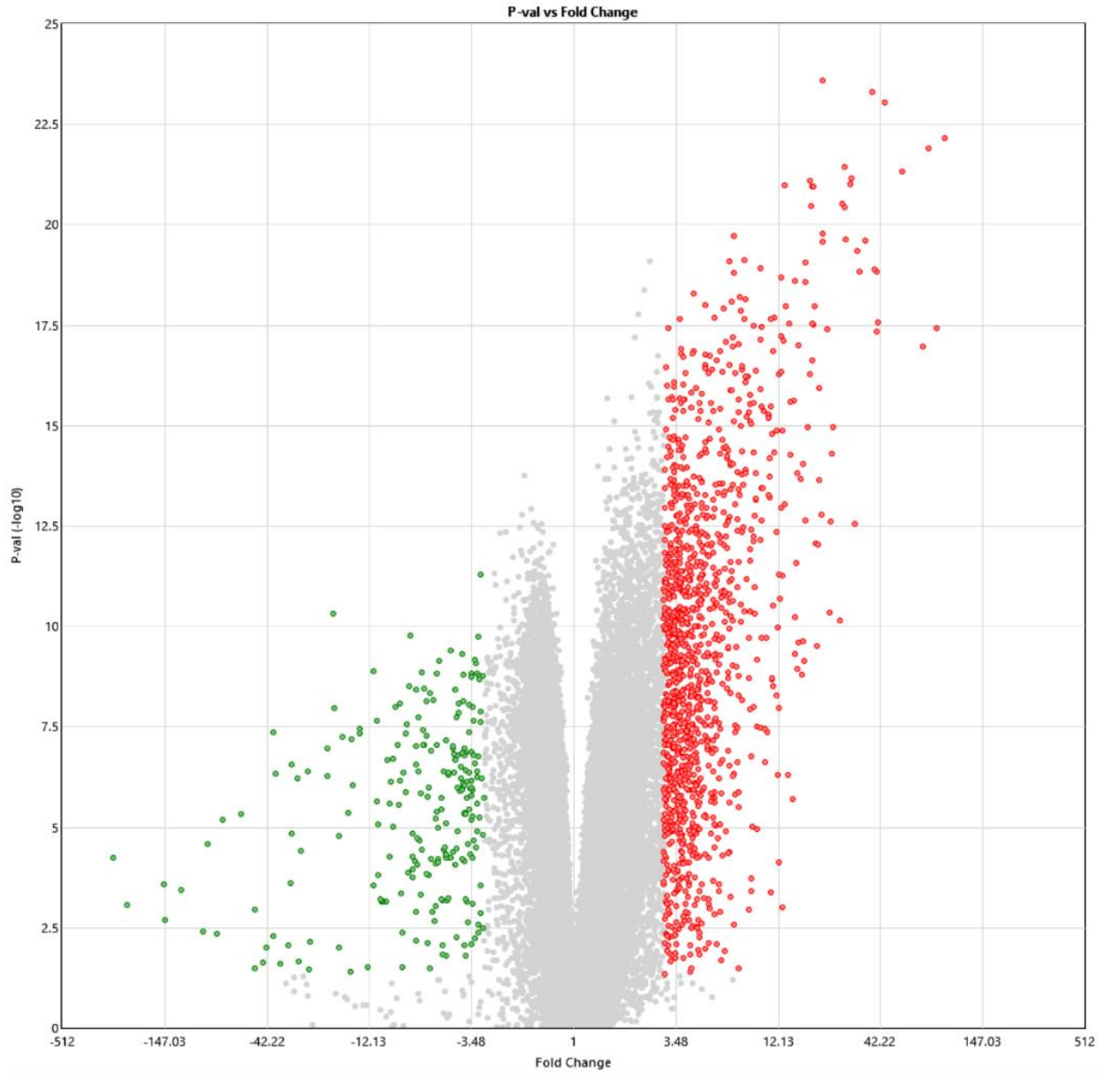


Şekil 4.21. GSE15471 Her bir örnekten alınan sinyali gösteren box plot

Şekil 4.21.'de GSE15471 her bir örnekten alınan sinyali gösteren box plot sinyal seviyelerine göre belirlenmiş olup, $p < 0.005$ olarak tanımlanmıştır. Şekil 4.22.'de GSE15471 veri setindeki Scatter plot grafiğinde ifadesi artan ve azalan genler average logaritmasına göre belirlenmiştir.

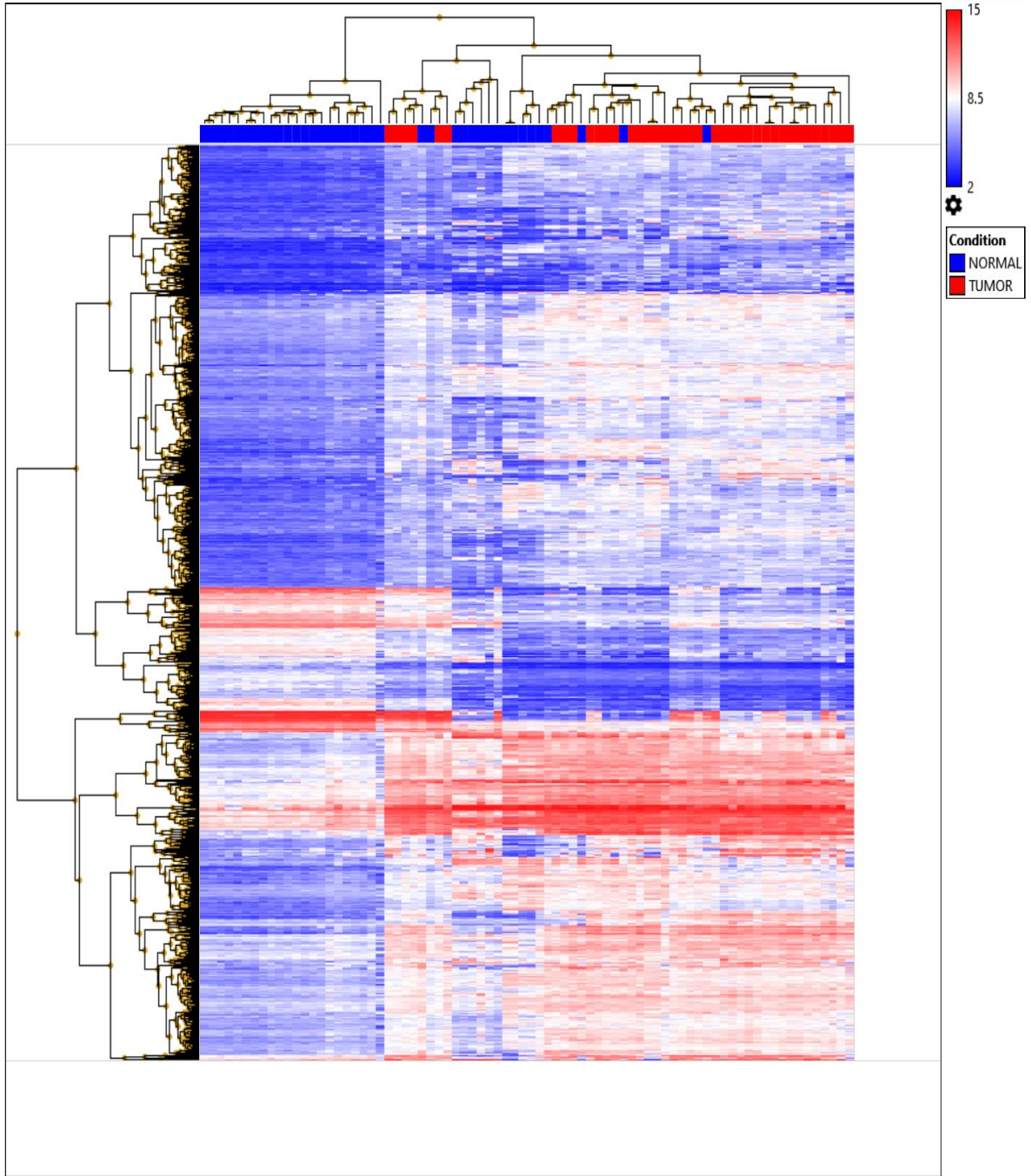


Şekil 4.22. GSE15471 Scatter plot



Şekil 4.23. GSE15471 Volcano plot

Şekil 4.23.'de GSE15471 veri setinde volcano plot grafiği kat değişimine göre hesaplanmış olup, ifadesi artan ve azalan genler belirlenmiştir.



Şekil 4.24. GSE15471 Heat Map

Şekil 4.24.'de GSE15471 veri setindeki Heat Map şekline göre pankreas kanseri ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.25. Farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösteren harita

Şekil 4.25.'de farklı ifade edilen genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarını gösterilerek haritası çıkarılmıştır. Tablo 4.14.'de ise DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler oluşturulmuştur.

Tablo 4.14. DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler

<i>Annotation Cluster 1</i>		<i>Enrichment Score: 8.19</i>	<i>Count</i>	<i>P_Value</i>	<i>Benjamini</i>
<i>Annotation Cluster 2</i>	INTERPRO	Epidermal growth factor-like domain	39	1.10E-10	7.90E-08
	INTERPRO	EGF-like, conserved site	32	2.10E-08	9.90E-06
	UP_KEYWORDS	EGF-like domain	33	1.10E-07	2.40E-06
		Enrichment Score: 7.22	Count	P_Value	Benjamini
<i>Annotation Cluster 3</i>	UP_SEQ_FEATURE	transmembrane region	324	3.50E-09	1.20E-06
	UP_KEYWORDS	Transmembrane	351	3.90E-09	1.10E-07
	UP_KEYWORDS	Transmembrane helix	350	4.10E-09	1.10E-07
	GOTERM_CC_DIRECT	integral component of membrane	319	2.50E-04	6.20E-03
<i>Annotation Cluster 4</i>		Enrichment Score: 6	Count	P_Value	Benjamini
	INTERPRO	Thyroglobulin type-1	9	6.60E-07	1.40E-04
	UP_SEQ_FEATURE	domain:Thyroglobulin type-1	8	7.90E-07	2.10E-04
	SMART	TY	9	1.90E-06	2.80E-04
<i>Annotation Cluster 5</i>		Enrichment Score: 5.63	Count	P_Value	Benjamini
	INTERPRO	Netrin domain	10	8.80E-07	1.60E-04
	INTERPRO	Tissue inhibitor of metalloproteinases-like, OB-fold	10	2.90E-06	3.50E-04
	UP_SEQ_FEATURE	domain:NTR	9	5.00E-06	8.90E-04
<i>Annotation Cluster 6</i>		Enrichment Score: 5.28	Count	P_Value	Benjamini
	UP_KEYWORDS	Serine protease	23	8.70E-07	1.60E-05
	UP_SEQ_FEATURE	domain:Peptidase S1	20	1.10E-06	2.30E-04
	INTERPRO	Trypsin-like cysteine/serine peptidase domain	22	1.70E-06	2.40E-04
<i>Annotation Cluster 6</i>	INTERPRO	Peptidase S1	21	2.30E-06	3.00E-04
	INTERPRO	Peptidase S1A, chymotrypsin-type	19	1.40E-05	1.30E-03
	SMART	Tryp_SPc	20	4.50E-05	2.70E-03
	INTERPRO	Peptidase S1, trypsin family, active site	17	5.00E-05	3.30E-03
		Enrichment Score: 4.92	Count	P_Value	Benjamini
	INTERPRO	EGF-like calcium-binding	22	1.50E-06	2.40E-04
	INTERPRO	EGF-like calcium-binding, conserved site	19	3.20E-06	3.50E-04
	SMART	EGF_CA	22	1.20E-05	9.50E-04
	UP_SEQ_FEATURE	domain:EGF-like 1	18	6.30E-05	7.60E-03
	INTERPRO	EGF-type aspartate/asparagine hydroxylation site	17	7.20E-05	4.00E-03

Tablolar hesaplanan p değerlerine göre sıralanmıştır. Hesaplanan p değerleri üzerine Benjamini-Hoechberg düzeltmesi yapılmıştır. Tablo 4.15.'de GSE15471 KEGG veritabanı üzerinden yapılan yolak analizleri sonucunda farklı ifade edilen gen listesinde bulunan genlerin bulunduğu moleküler yolların listesi tespit edilmiştir.

Tablo 4.15. GSE15471 KEGG veritabanı üzerinden yapılan yolak analizleri sonucunda farklı ifade edilen gen listesinde bulunan genlerin bulunduğu moleküler yolakların listesi

Category	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
KEGG_PATHWAY	Staphylococcus aureus infection	25	2,5	1,6E-15	4,2E-13
KEGG_PATHWAY	ECM-receptor interaction	30	3,0	1,7E-14	2,1E-12
KEGG_PATHWAY	Phagosome	38	3,8	1,7E-13	1,4E-11
KEGG_PATHWAY	Complement and coagulation cascades	24	2,4	9,4E-12	6,0E-10
KEGG_PATHWAY	Focal adhesion	42	4,2	1,5E-11	7,9E-10
KEGG_PATHWAY	Amoebiasis	28	2,8	1,6E-10	6,9E-9
KEGG_PATHWAY	Leishmaniasis	20	2,0	3,7E-8	1,4E-6
KEGG_PATHWAY	Protein digestion and absorption	22	2,2	6,4E-8	2,0E-6
KEGG_PATHWAY	PI3K-Akt signaling pathway	48	4,7	2,2E-7	6,3E-6
KEGG_PATHWAY	Rheumatoid arthritis	20	2,0	1,4E-6	3,6E-5
KEGG_PATHWAY	Cell adhesion molecules (CAMs)	26	2,6	1,9E-6	4,3E-5
KEGG_PATHWAY	Pertussis	18	1,8	2,5E-6	5,3E-5
KEGG_PATHWAY	Leukocyte transendothelial migration	22	2,2	7,0E-6	1,3E-4
KEGG_PATHWAY	Viral myocarditis	15	1,5	7,2E-6	1,3E-4
KEGG_PATHWAY	Pathways in cancer	47	4,6	2,1E-5	3,5E-4
KEGG_PATHWAY	Toxoplasmosis	20	2,0	4,3E-5	6,8E-4
KEGG_PATHWAY	Small cell lung cancer	17	1,7	5,9E-5	8,8E-4
KEGG_PATHWAY	Hematopoietic cell lineage	17	1,7	7,9E-5	1,1E-3
KEGG_PATHWAY	Tuberculosis	26	2,6	9,5E-5	1,3E-3
KEGG_PATHWAY	Cytokine-cytokine receptor interaction	32	3,2	1,0E-4	1,3E-3
KEGG_PATHWAY	Graft-versus-host disease	10	1,0	1,3E-4	1,6E-3
KEGG_PATHWAY	Osteoclast differentiation	21	2,1	1,6E-4	1,8E-3
KEGG_PATHWAY	Malaria	12	1,2	1,7E-4	1,8E-3
KEGG_PATHWAY	Antigen processing and presentation	15	1,5	2,2E-4	2,3E-3
KEGG_PATHWAY	Proteoglycans in cancer	27	2,7	2,7E-4	2,8E-3
KEGG_PATHWAY	Allograft rejection	10	1,0	3,5E-4	3,4E-3
KEGG_PATHWAY	Intestinal immune network for IgA production	11	1,1	5,2E-4	4,9E-3
KEGG_PATHWAY	Type I diabetes mellitus	10	1,0	9,4E-4	8,5E-3
KEGG_PATHWAY	Dilated cardiomyopathy	14	1,4	2,0E-3	1,7E-2
KEGG_PATHWAY	Asthma	8	0,8	2,1E-3	1,7E-2
KEGG_PATHWAY	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	12	1,2	2,7E-3	2,2E-2
KEGG_PATHWAY	Regulation of actin cytoskeleton	25	2,5	2,8E-3	2,3E-2
KEGG_PATHWAY	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	13	1,3	3,1E-3	2,3E-2
KEGG_PATHWAY	Systemic lupus erythematosus	18	1,8	3,9E-3	2,9E-2
KEGG_PATHWAY	Autoimmune thyroid disease	10	1,0	4,4E-3	3,2E-2
KEGG_PATHWAY	Legionellosis	10	1,0	5,8E-3	3,9E-2
KEGG_PATHWAY	Influenza A	21	2,1	5,8E-3	3,9E-2
KEGG_PATHWAY	Rap1 signaling pathway	24	2,4	5,8E-3	3,9E-2
KEGG_PATHWAY	Inflammatory bowel disease (IBD)	11	1,1	5,9E-3	3,9E-2
KEGG_PATHWAY	Platelet activation	17	1,7	6,8E-3	4,3E-2
KEGG_PATHWAY	Bladder cancer	8	0,8	1,3E-2	7,6E-2
KEGG_PATHWAY	Pancreatic secretion	13	1,3	1,3E-2	7,6E-2
KEGG_PATHWAY	TGF-beta signaling pathway	12	1,2	1,5E-2	8,8E-2
KEGG_PATHWAY	Mineral absorption	8	0,8	1,8E-2	1,1E-1
KEGG_PATHWAY	NF-kappa B signaling pathway	12	1,2	1,9E-2	1,1E-1
KEGG_PATHWAY	Axon guidance	15	1,5	2,7E-2	1,5E-1
KEGG_PATHWAY	Chagas disease (American trypanosomiasis)	13	1,3	2,8E-2	1,5E-1
KEGG_PATHWAY	Glycine, serine and threonine metabolism	7	0,7	3,2E-2	1,7E-1
KEGG_PATHWAY	Tryptophan metabolism	7	0,7	3,6E-2	1,9E-1
KEGG_PATHWAY	Herpes simplex infection	19	1,9	3,7E-2	1,9E-1
KEGG_PATHWAY	Pathogenic Escherichia coli infection	8	0,8	3,8E-2	1,9E-1
KEGG_PATHWAY	HTLV-I infection	24	2,4	4,5E-2	2,2E-1
KEGG_PATHWAY	p53 signaling pathway	9	0,9	5,6E-2	2,7E-1
KEGG_PATHWAY	Transcriptional misregulation in cancer	17	1,7	5,7E-2	2,7E-1
KEGG_PATHWAY	Toll-like receptor signaling pathway	12	1,2	6,6E-2	3,1E-1
KEGG_PATHWAY	Chemokine signaling pathway	18	1,8	7,3E-2	3,3E-1
KEGG_PATHWAY	Fatty acid metabolism	7	0,7	7,7E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Fc gamma R-mediated phagocytosis	10	1,0	7,8E-2	3,4E-1
KEGG_PATHWAY	Biosynthesis of amino acids	9	0,9	7,9E-2	3,4E-1

4.4. Kandan İzolasyonu Yapılan RNA'ların Kalite Kontrolü

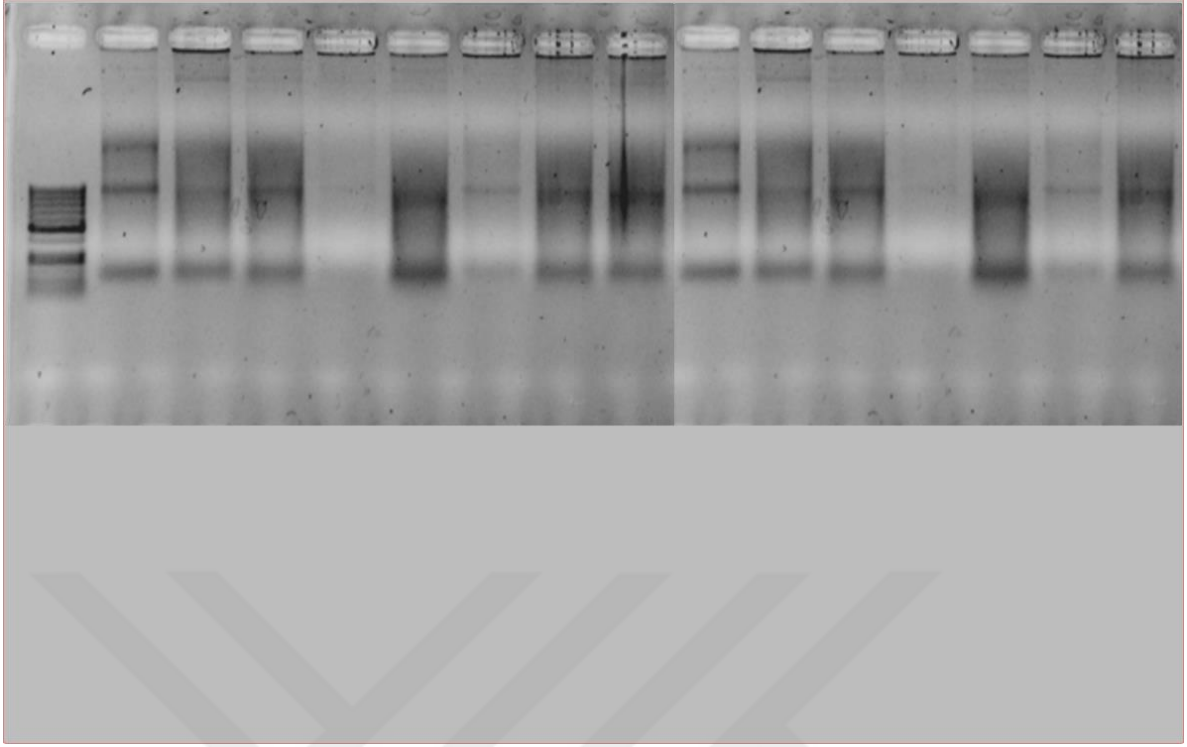
Elde edilen RNA'ların kalite kontrolü qubit fluometre ile ölçülüp, değerlendirildikten sonra gen ekspresyonu için Tablo 4.16'daki gibi kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Tablo 4.16. Pankreas kanseri olan hastaların kanlarından izole edilen RNA'ların konsantrasyonları ve örneklerin cinsiyet dağılımları

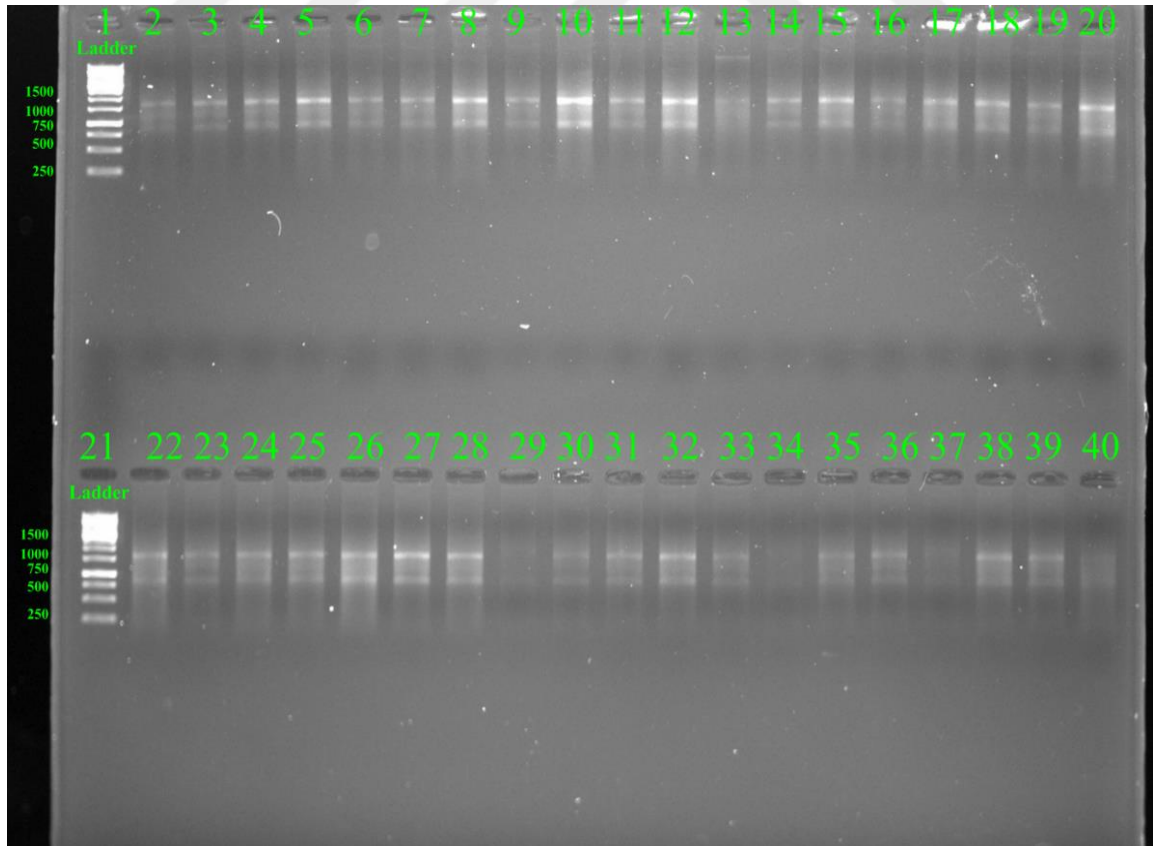
NUMARA	CİNSİYET	QUBİT RESULT (ng/μl)	
		Kontrol Kan RNA'ları	Pankreas Kan RNA'ları
1	E	23.60	38.36
2	K	21.90	25.16
3	E	23.20	7.80
4	E	22.60	33.91
5	K	10.70	13.24
6	K	17.50	82.20
7	K	28.80	97.75
8	K	13.40	52.82
9	E	35.80	45.92
10	K	22.50	99.24
11	E	33.30	39.26
12	E	20.70	17.28
13	E	21.70	52.39
14	E	25.20	63.05
15	E	19.10	77.74
16	E	23.00	89.97
17	K	21.40	43.25
18	E	21.10	33.76
19	K	28.20	26.18
20	E	25.60	25.06
21	K	11.50	63.62
22	E	15.40	92.63
23	E	17.20	42.94
24	K	22.00	22.55

4.5. RNA İzolasyonu Yapılan Hasta Ve Kontrol Grubu Kanlarının Görüntü Ve Kalitesinin Değerlendirilmesi

Hasta ve kontrol grubu kanlarının RNA izolasyonu yapıldıktan sonra ifade analizi için uygun olup olmadığına hem elektroforez jel görüntüsüne göre hem de RNA'nın kalitesine göre bakılıp değerlendirilmiştir. Şekil 4.27.'de pankreas hastalarının kanından izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü elde edilmiştir.



Şekil 4.27. Pankreas hastalarının kanından izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü

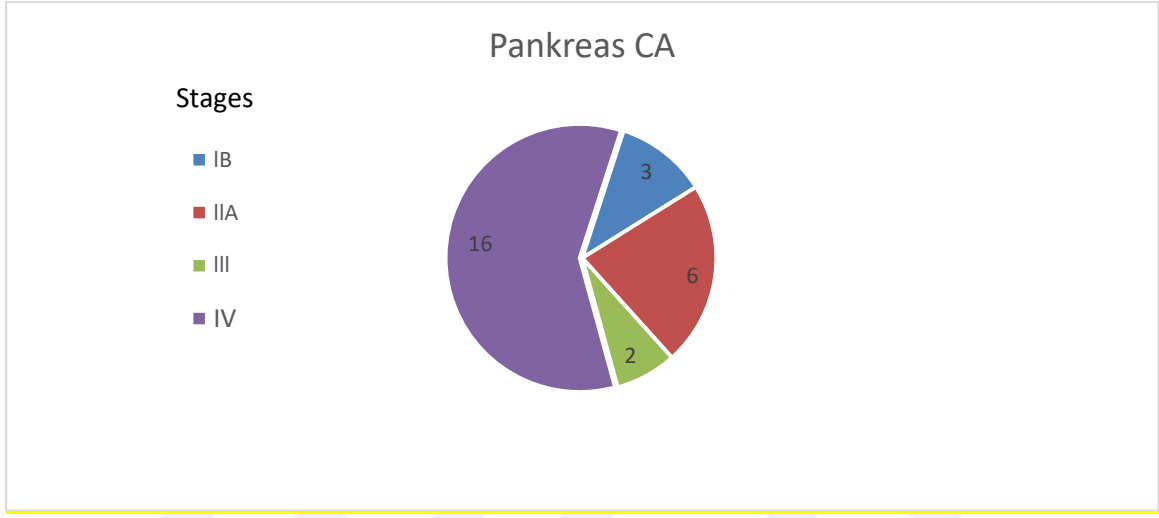


Şekil 4.28. Kontrol kanlarında izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü

Şekil 4.28.'de ise kontrol kanlarında izole edilen RNA örneklerinin agaroz jel görüntüsü tespit edilmiştir.

4.6. Pankreas Kanseri Hastalarının Evrelere Göre Hasta Sayıları

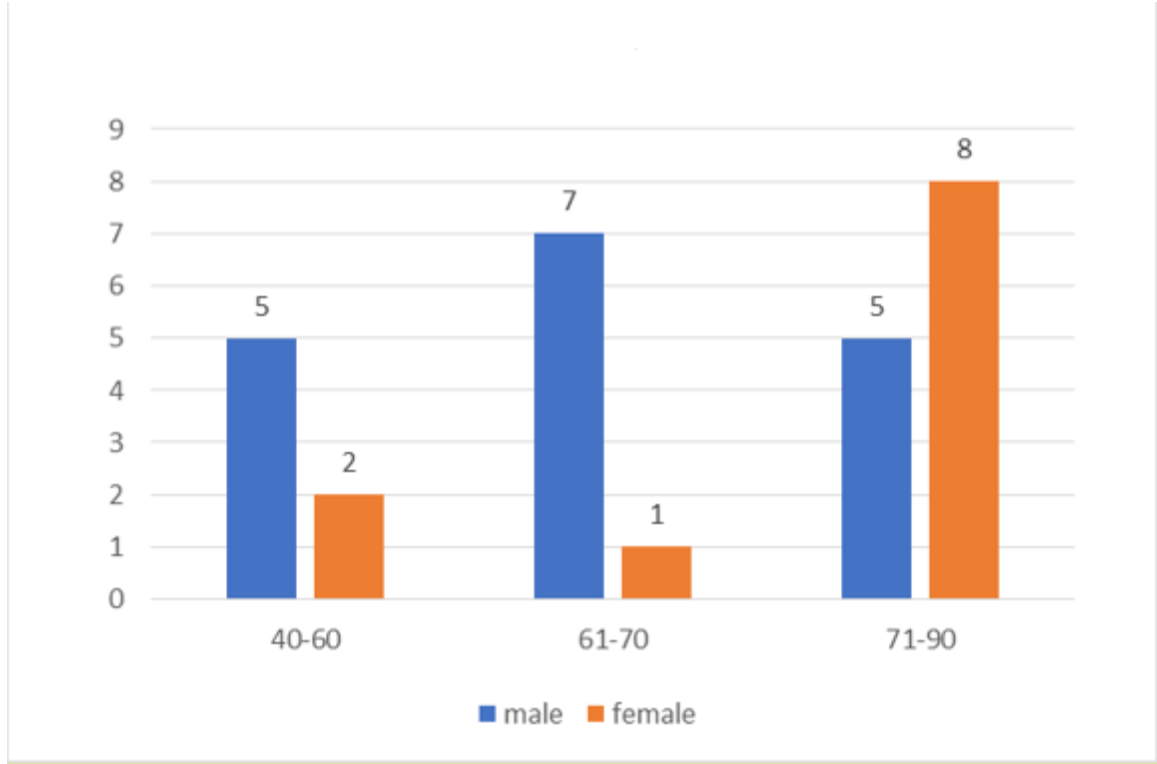
Fırat Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinden toplanan kan örnekleri evrelere göre değerlendirilerek Şekil 4.29'daki gibi çalışmaya uygun hale getirilmiştir.



Şekil 4.29. Pankreas kanserinin evrelere göre hasta sayıları

4.7. Örnekleri Toplanan Pankreas Kanseri Hastalarının Yaşlara Göre Dağılımı

Şekil 4.30.'da toplanan örneklerden pankreas kanseri hasta sayılarının yaşlara göre dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 4.30. Pankreas kanseri hasta sayılarının yaşlara göre dağılımı

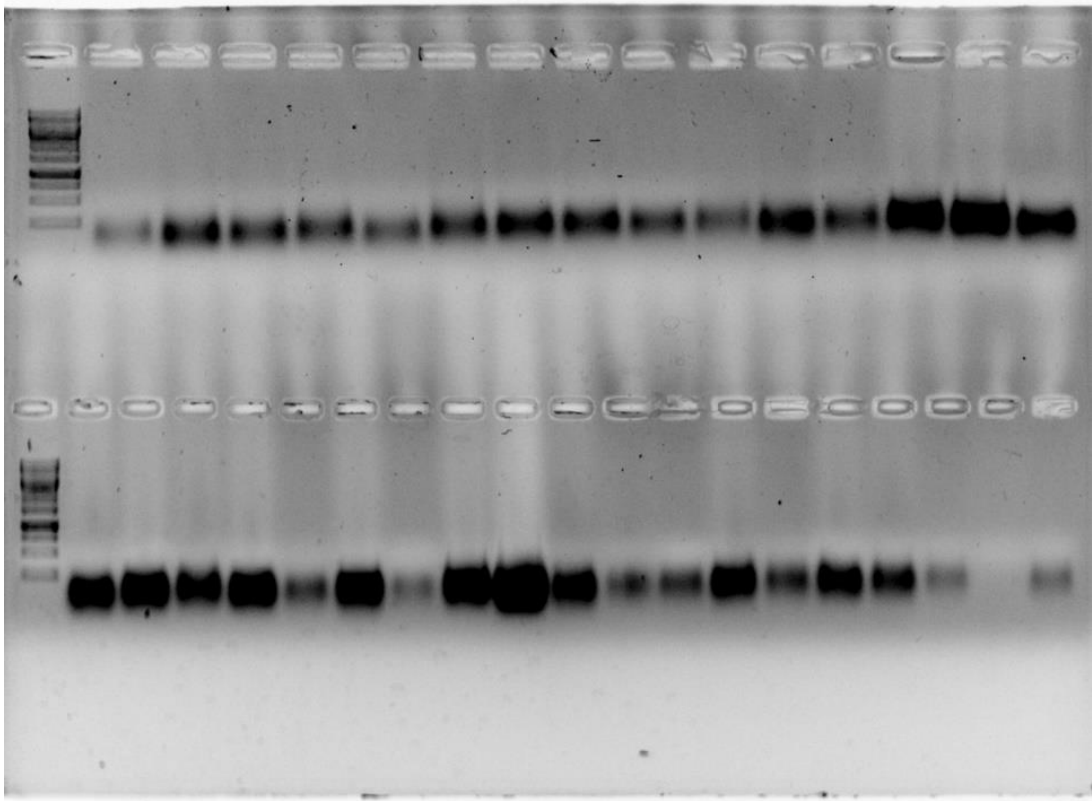
4.8. RNA İzolasyonu Yapılan Hasta ve Kontrol Grubu FFPE Dokularının Görüntü Ve Kalitesinin Değerlendirilmesi

Tablo 4.17.'de FFPE dokudan RNA izolasyonu yapılan kontrol ve hasta grubunun öncelikle elektroforezde jel görüntüsü incelenmiş daha sonra Qubit florometre ile kalitesinin uygun olup olmadığı belirlenmiştir.

Tablo 4.17. Dokudan izolasyonu yapılan hasta ve kontrol grubu RNA'ların konsantrasyonlarının belirlenmesi

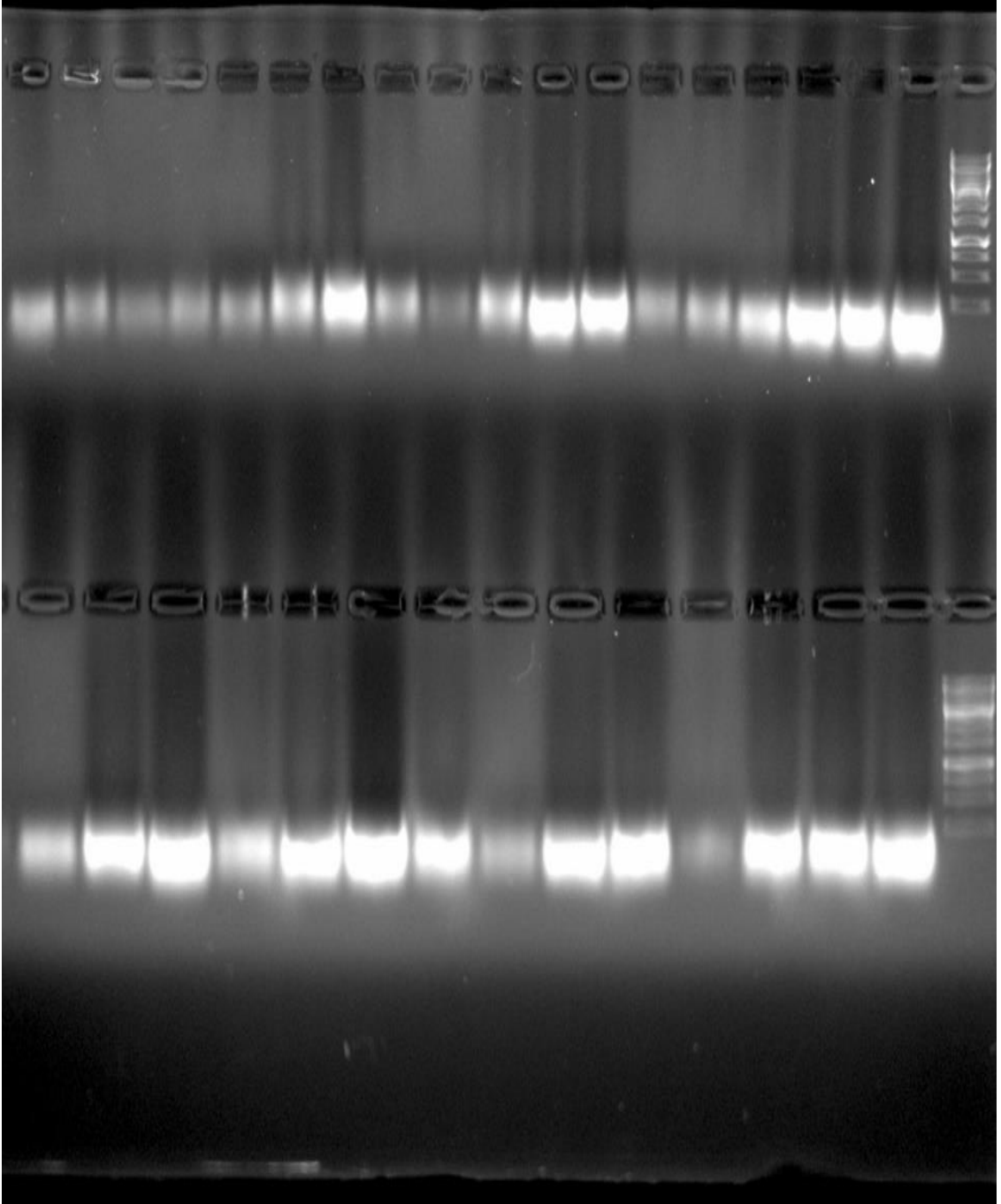
NUMARA	CİNSİYET	Qubit Sonuçları (ng/ml)	
		Doku Kontrol	Kanser Doku
1	E	48.10	18.90
2	K	40.30	36.40
3	E	62.00	41.30
4	E	75.00	29.30
5	K	237.00	25.90
6	K	79.00	48.90
7	K	74.00	66.00
8	K	48.10	47.00
9	E	25.50	46.70
10	K	70.00	51.00
11	E	75.00	69.00
12	E	76.00	48.40

13	E	71.00	61.00
14	E	75.00	84.00
15	E	97.00	35.40
16	E	83.00	53.00
17	K	90.00	86.00
18	E	89.00	50.00
19	K	99.00	76.00
20	E	86.00	72.00
21	K	82.00	37.50
22	E	19.60	22.60
23	E	54.00	51.00
24	K	84.00	66.00
25		65.00	38.20
26		54.00	30.50
27		90.00	32.40
28		98.00	44.40
29		64.00	34.30
30		69.00	39.70
31		63.00	37.70
32		*	35.10
33		*	24.00



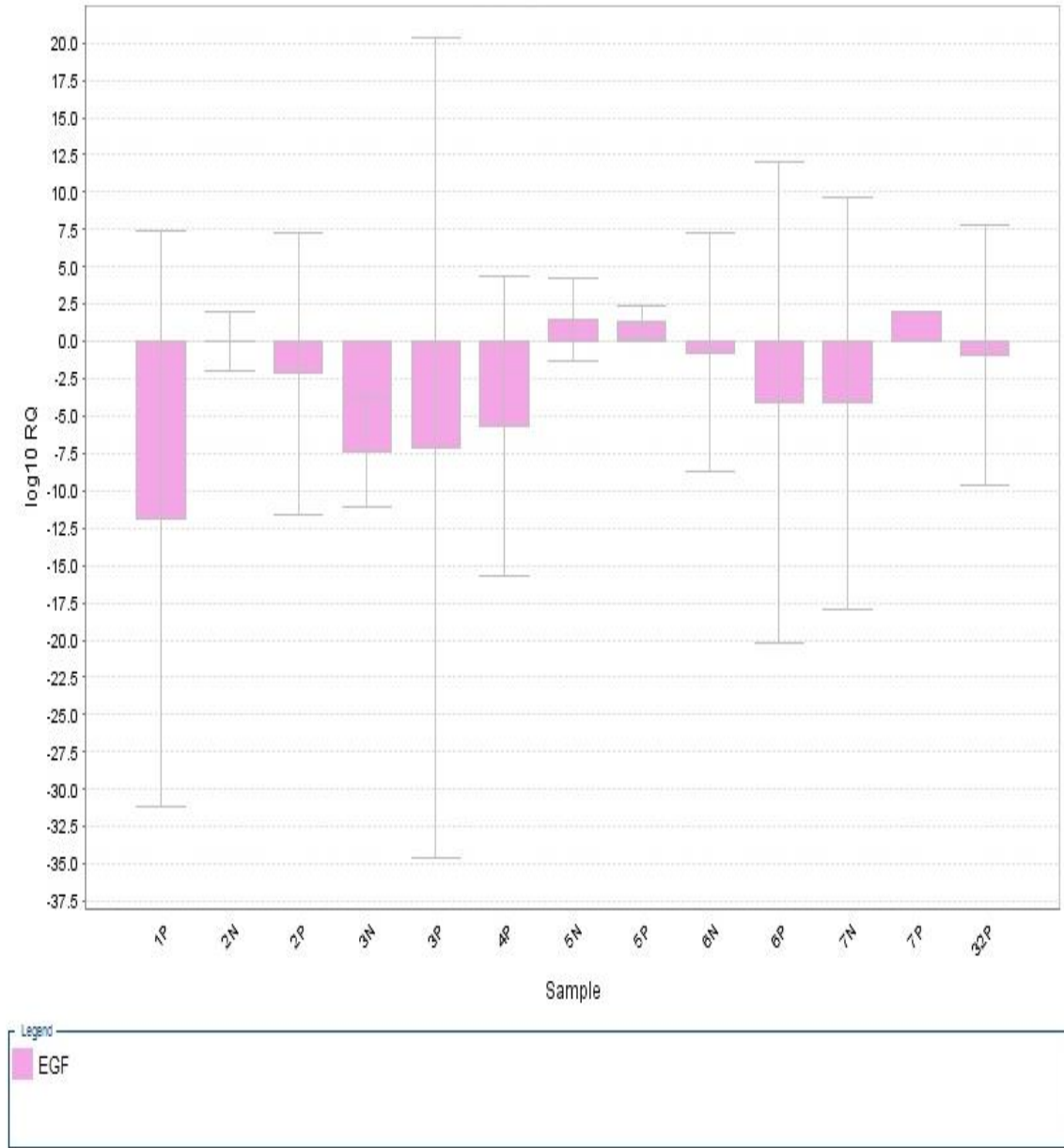
Şekil 4.31. Dokudan RNA izolasyonu yapılan hasta grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri

Şekil 4.31.'de dokudan RNA izolasyonu yapılan hasta grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri belirlenmiştir. Şekil 4.32.'de ise dokudan RNA izolasyonu yapılan kontrol grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri tespit edilmiştir.



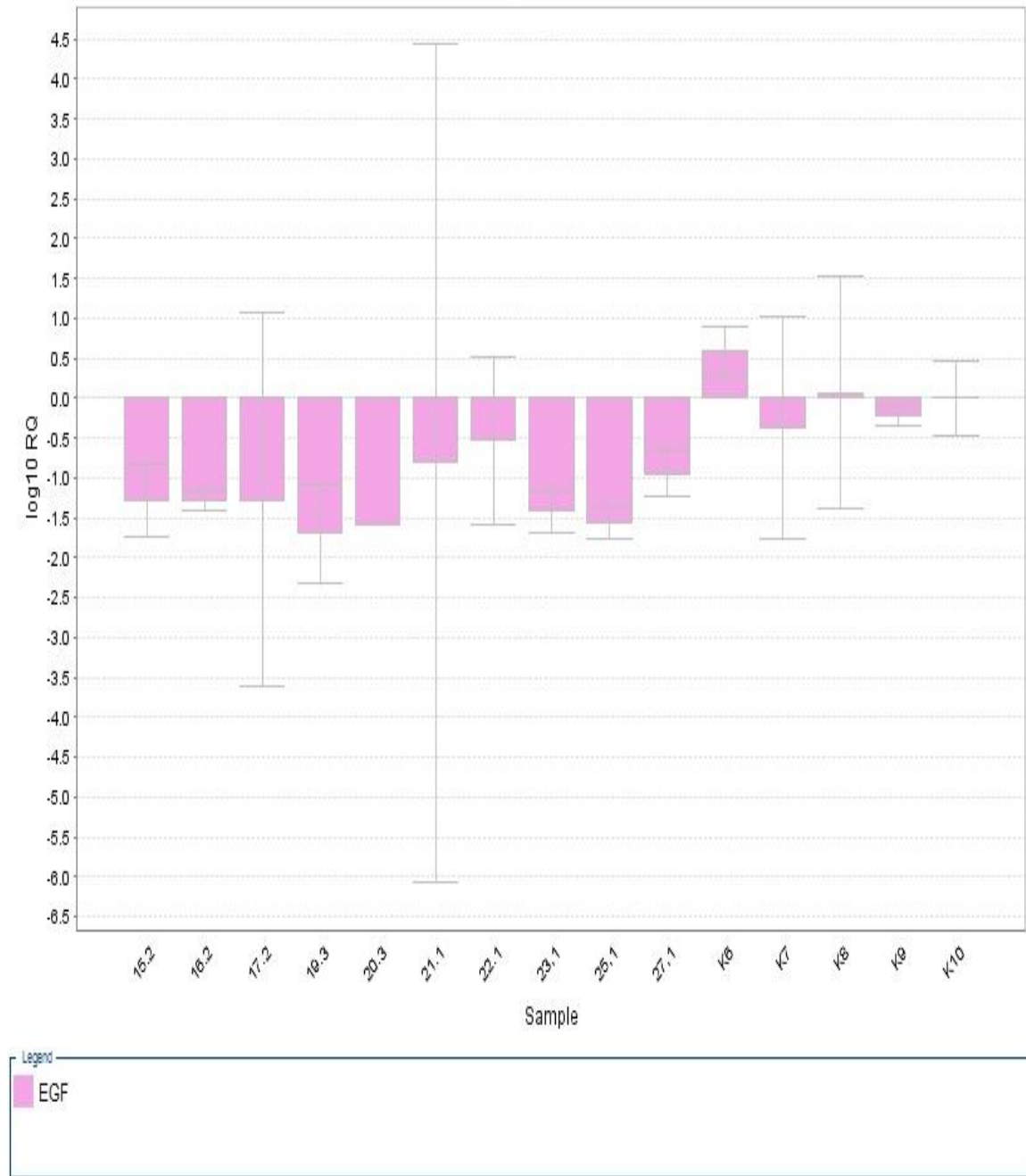
Şekil 4.32. Dokudan RNA izolasyonu yapılan kontrol grubunun elektroforez ile görüntü kontrolleri

4.9. Farklı İfade Edilen Genlerin QRT-PCR İle Tespit Edilen Ekspresyon Düzeyleri



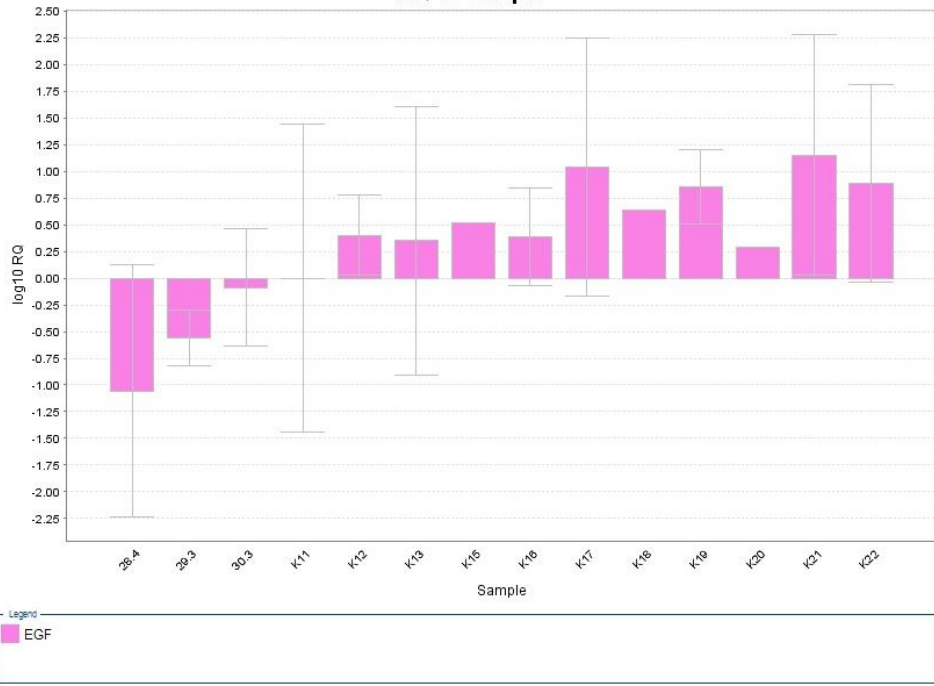
Şekil 4.33. EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.33.'de EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki mesenger RNA rölatif ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.

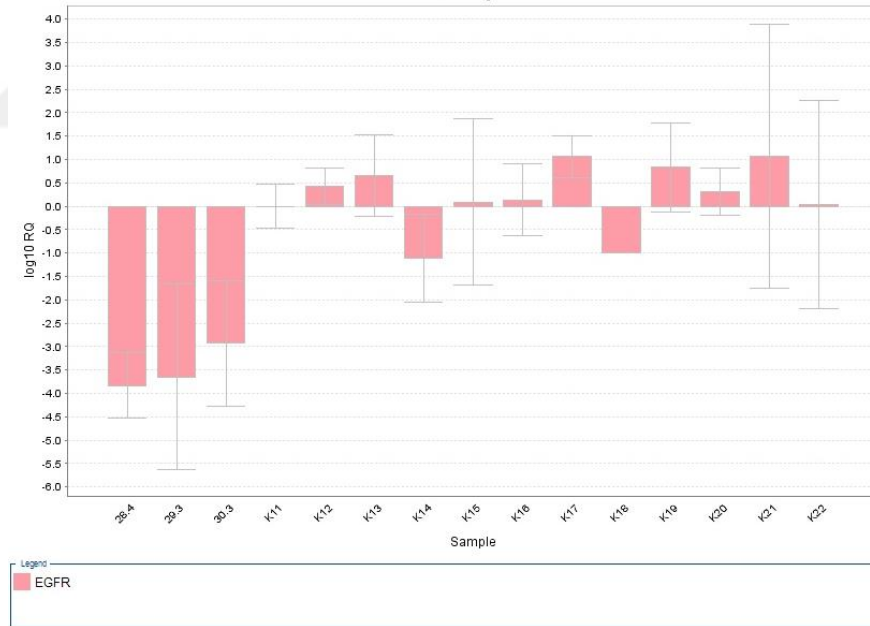


Şekil 4.34. EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.34.'de EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative ekspresyon düzeyleri rapor edilmiştir. Şekil 4.35.'de ise EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki mRNA rölative ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.

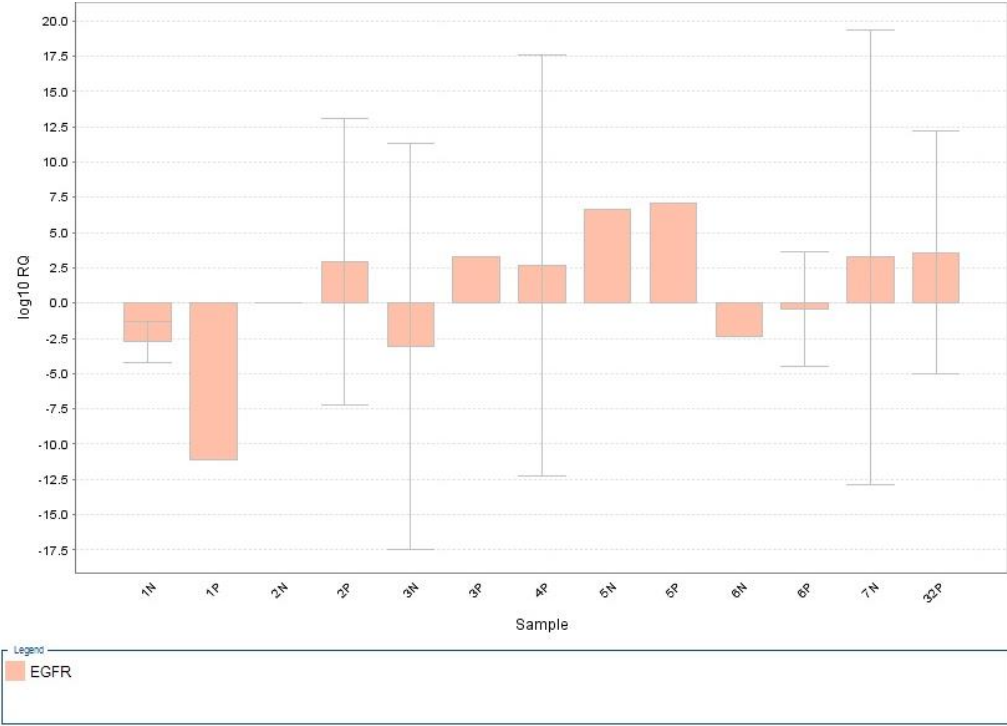


Şekil 4.35. EGF geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative ekspresyon düzeyleri

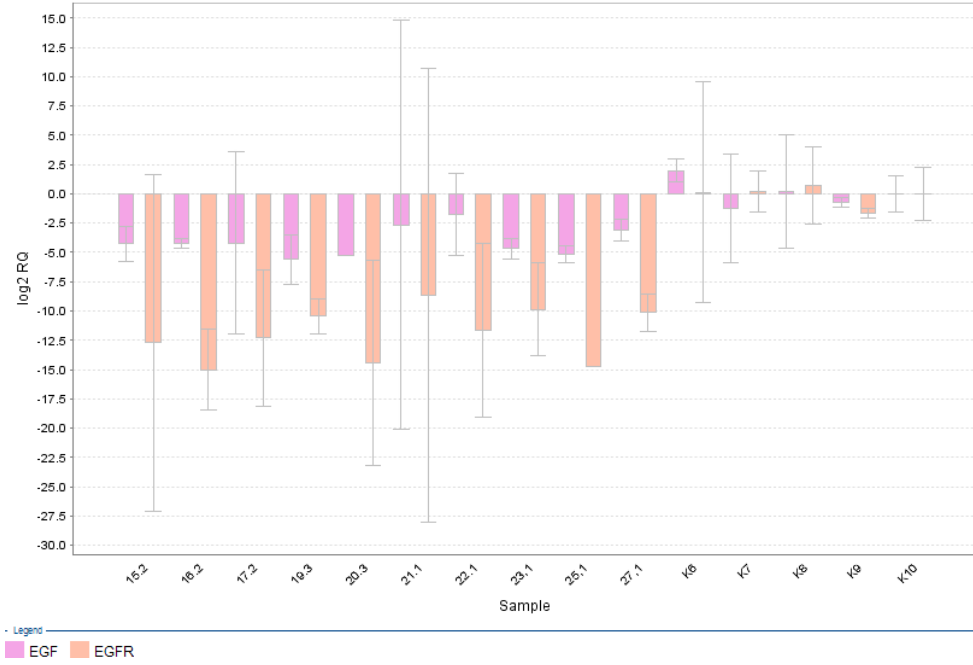


Şekil 4.36. EGFR geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative ekspresyon düzeyleri

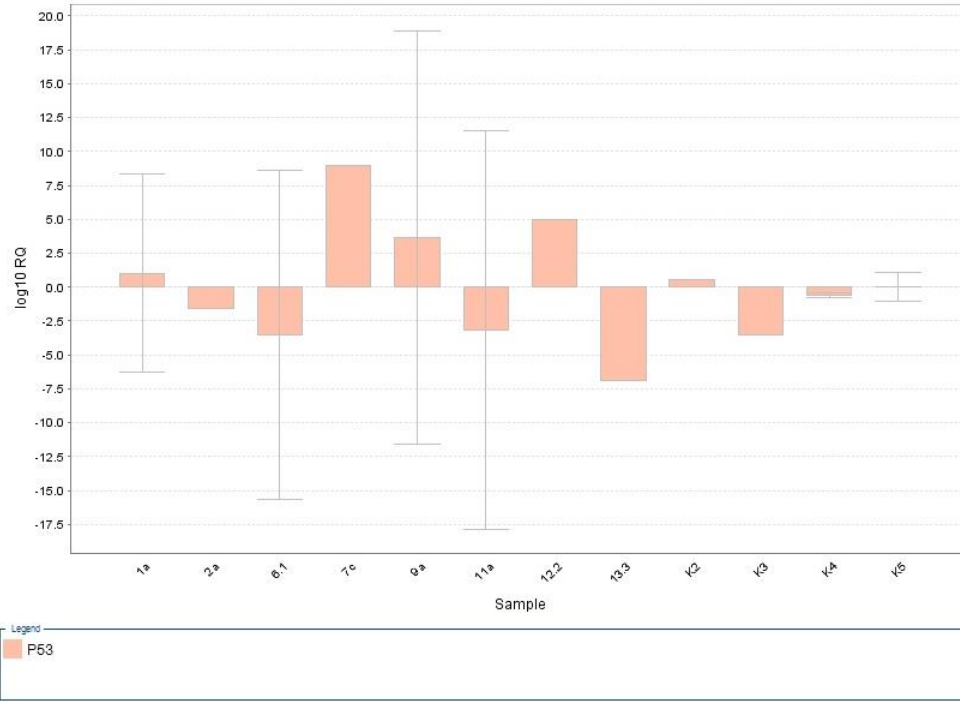
Şekil 4.36.'da EGFR geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir. Şekil 4.37.'de ise EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki rölative mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Şekil 4.38.'de EGF ve EGFR genlerinin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölative mRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır.



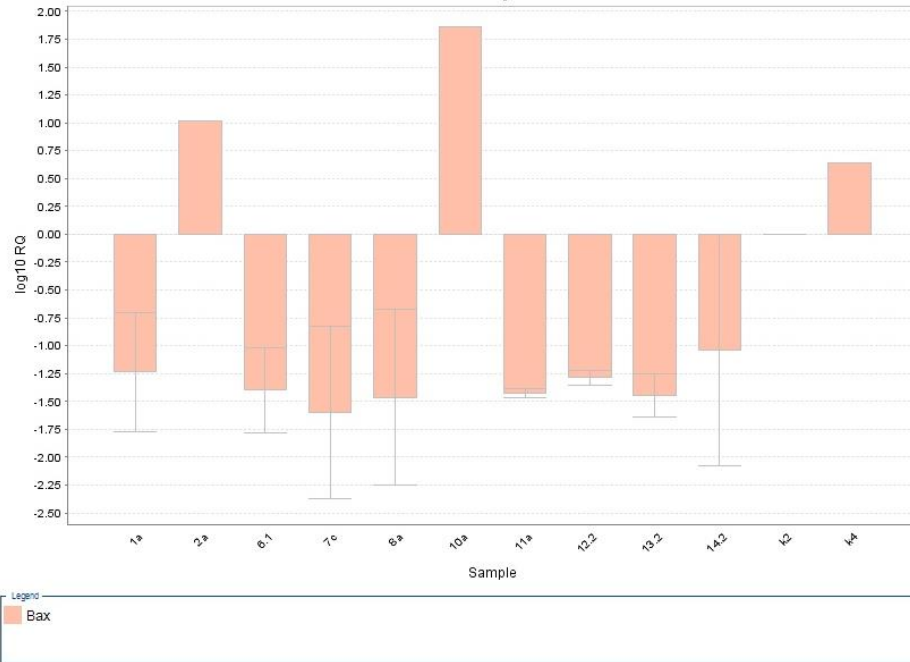
Şekil 4.37. EGF geninin tümör ve sağlıklı pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri



Şekil 4.38. EGF ve EGFR genlerinin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri

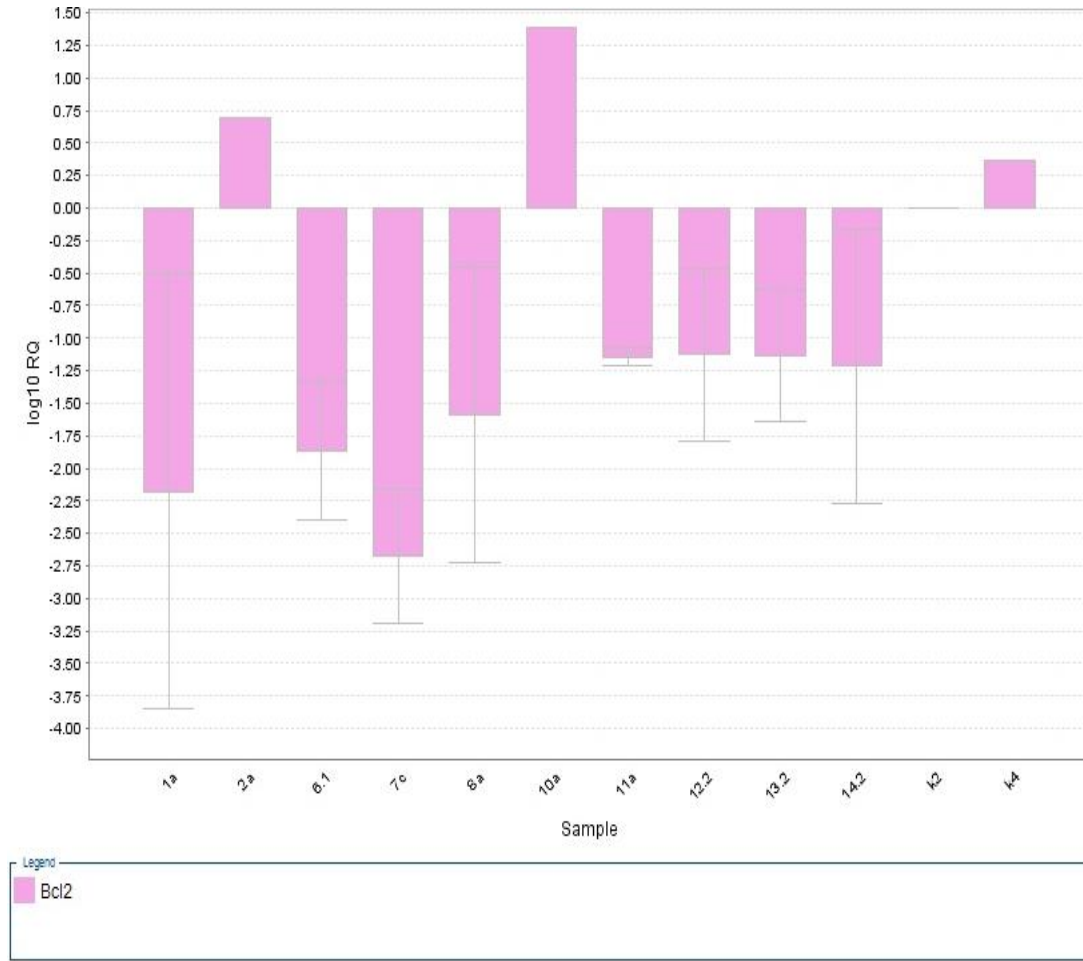


Şekil 4.39. P53 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif ekspresyon düzeyleri



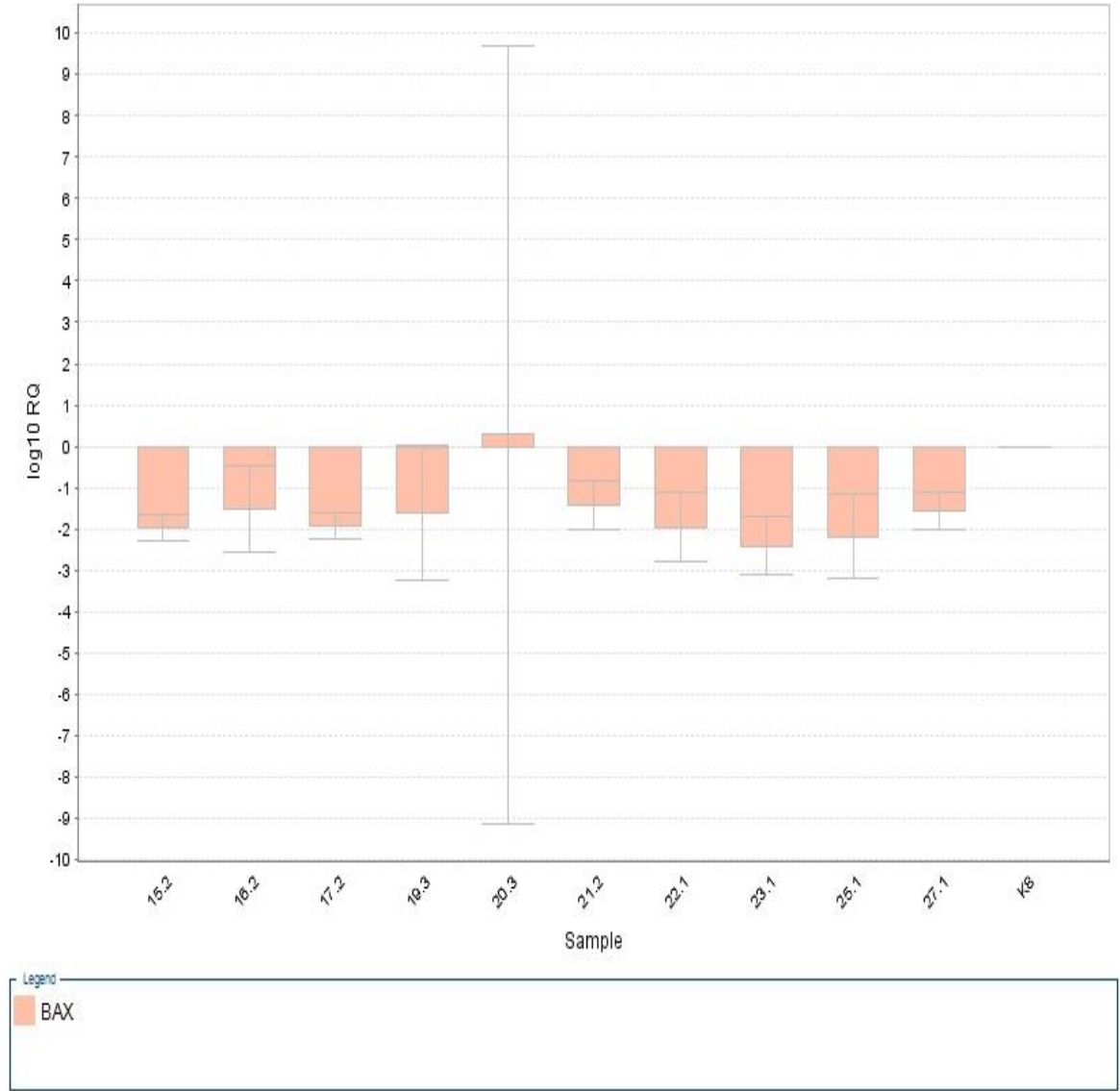
Şekil 4.40. Bax geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.39.'da P53 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiş olup, Şekil 4.40.'da ise Bax geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



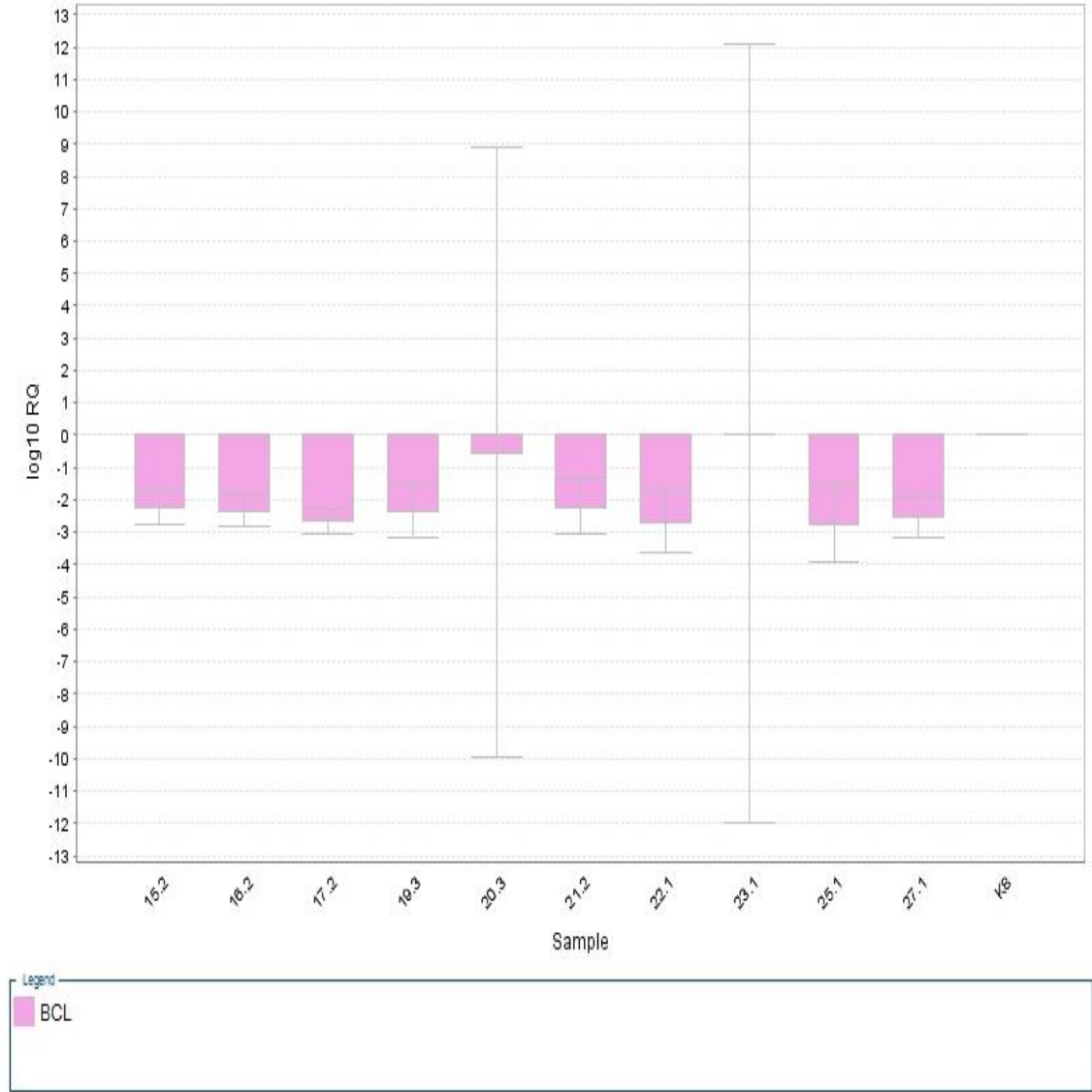
Şekil 4.41. Bcl2 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.41.'de *Bcl2* geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif mRNA ekspresyon düzeyleri rapor edilmiştir.



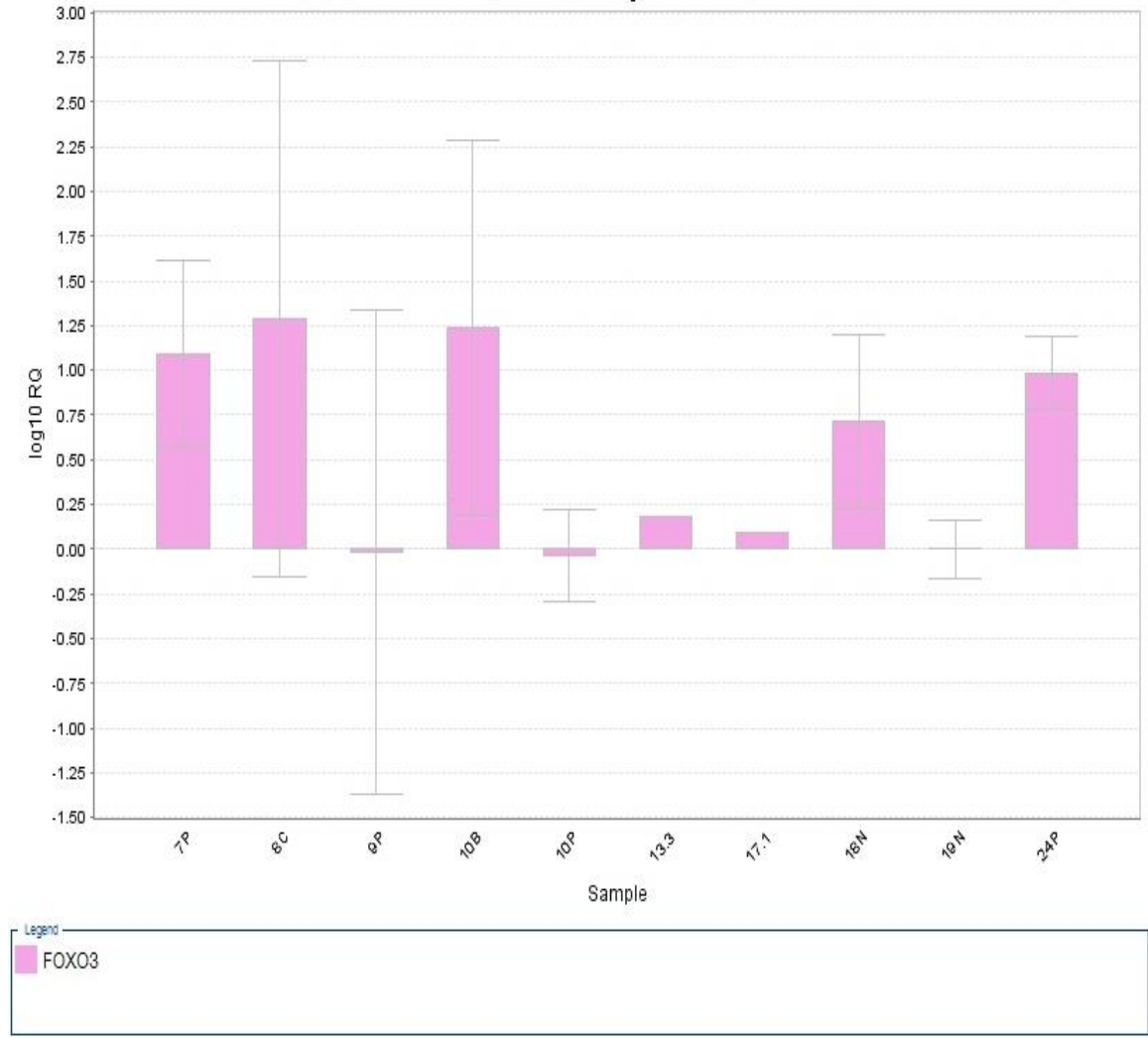
Şekil 4.42. Bax geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.42.'de *Bax* geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölâtif mRNA ekspresyon düzeyleri ifade düzeylerine bakılarak tespit edilmiştir.



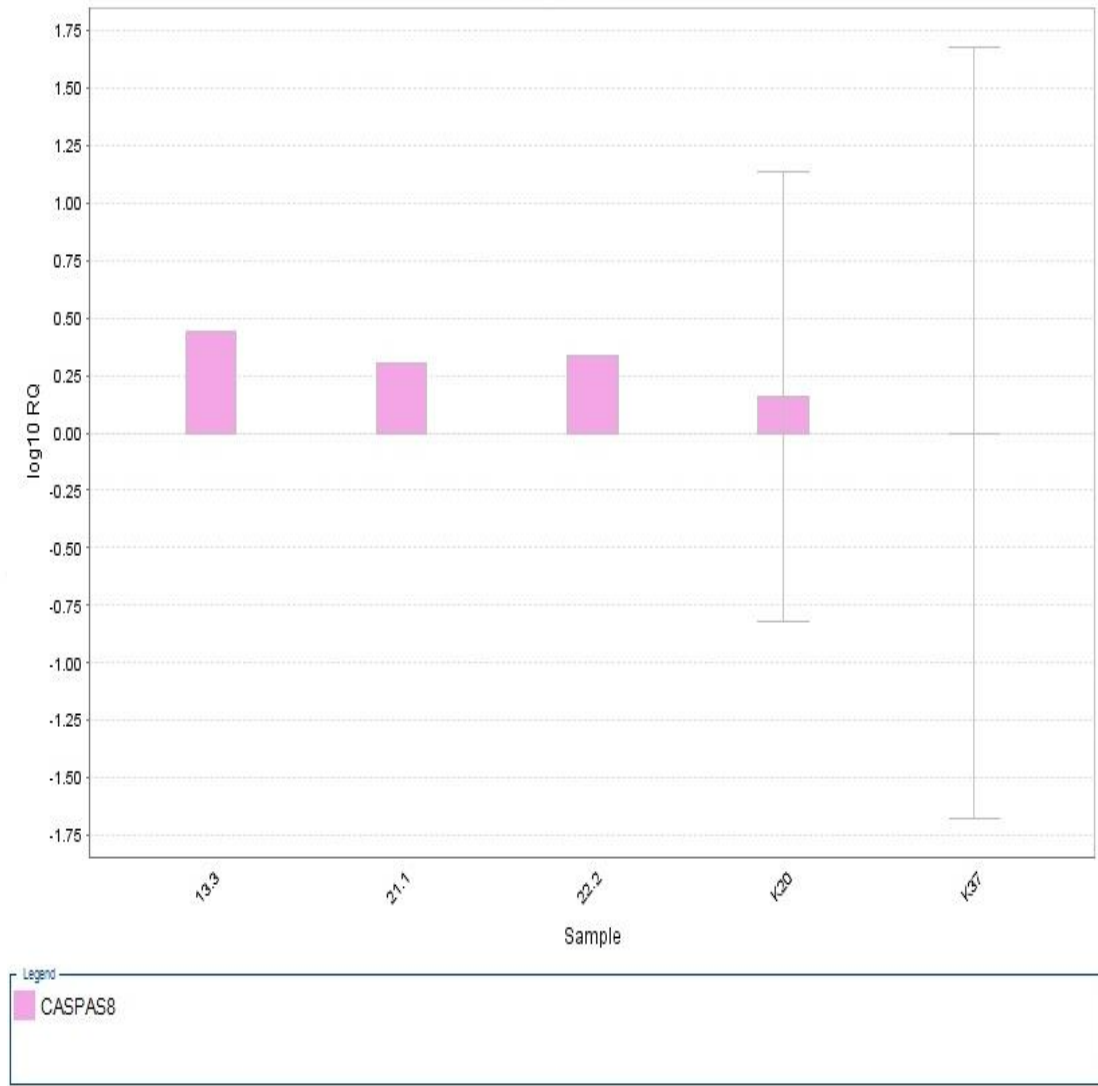
Şekil 4.43. Bcl2 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.43.'de *Bcl2* geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri rapor edilmiştir.



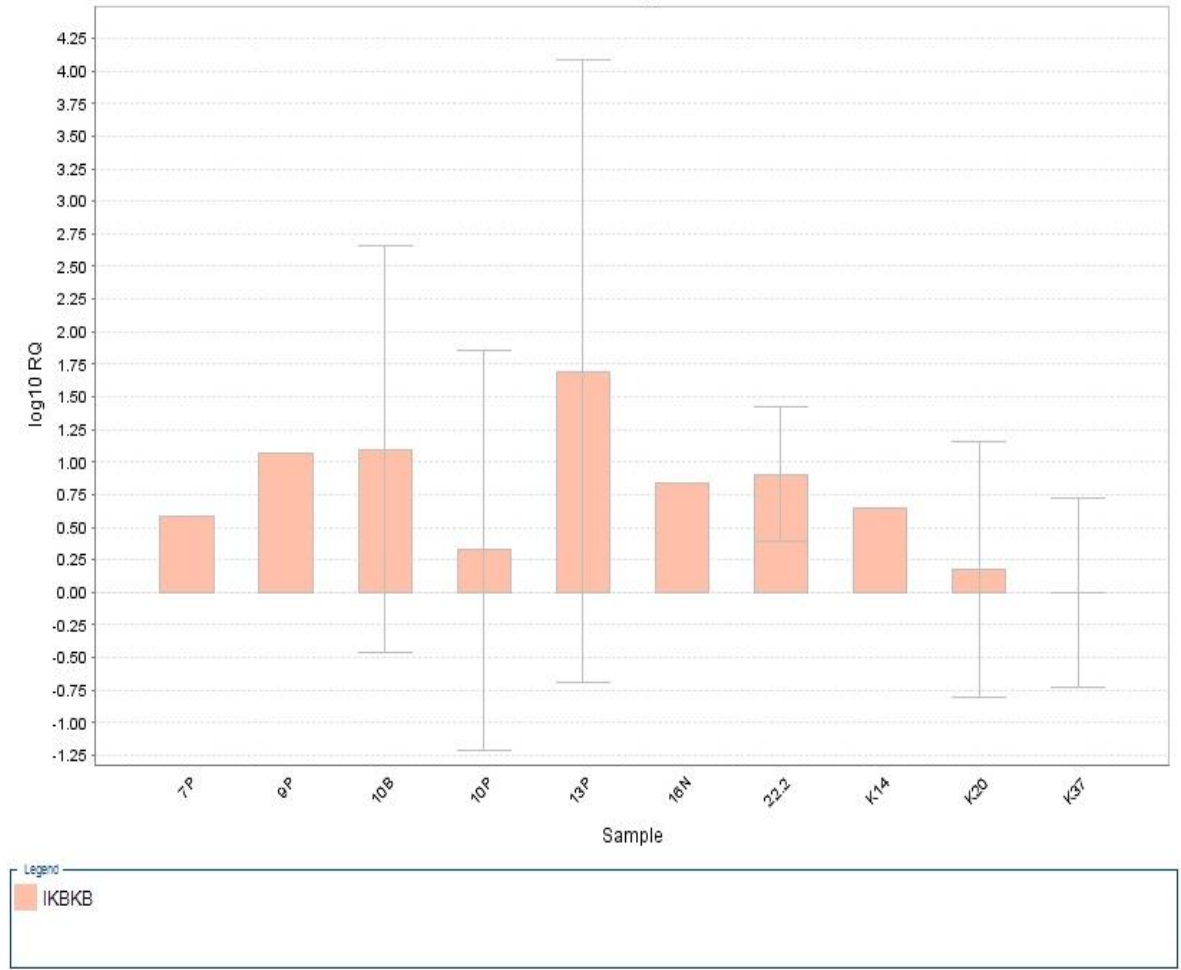
Şekil 4.44. FOXO3 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.44.'de FOXO3 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.45. Kaspaz8 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.45.'de kaspaz8 geninin hasta ve kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri ifade seviyelerine bakılarak belirlenmiştir.



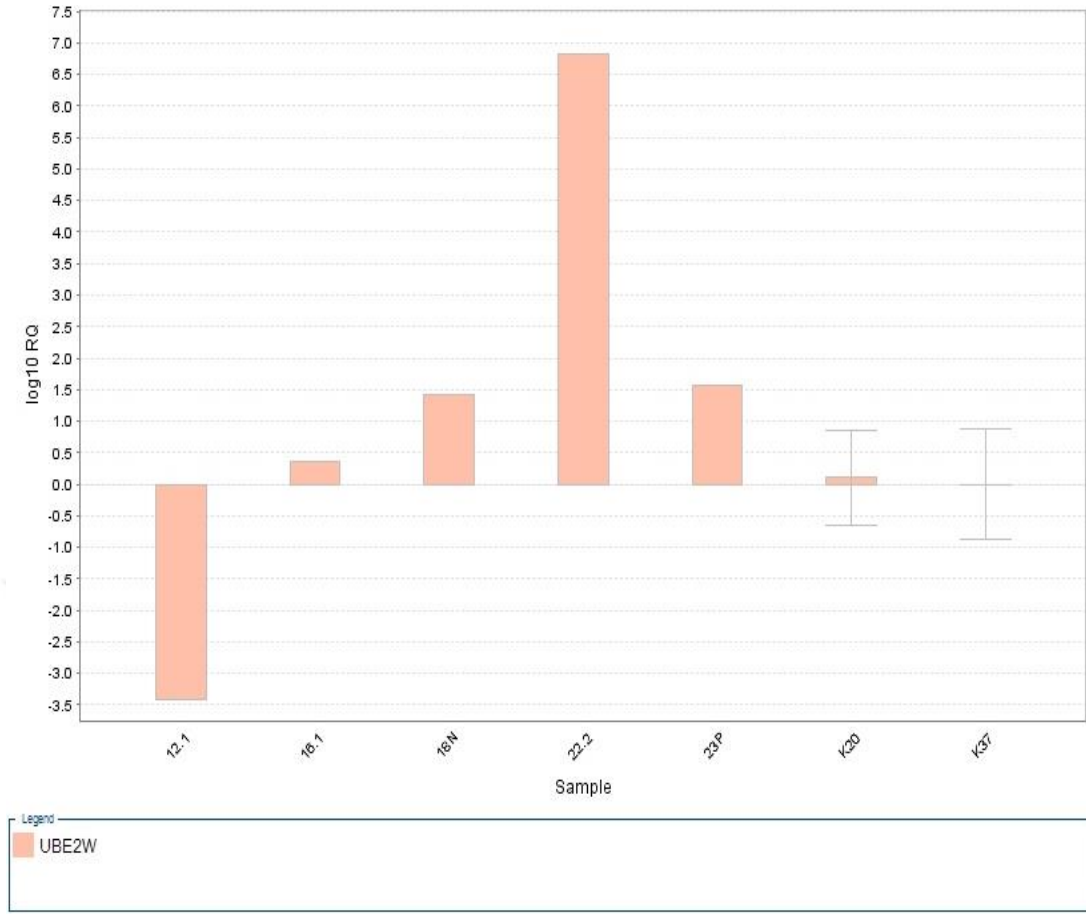
Şekil 4.46. IKBKB geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.46.'da *IKBKB* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



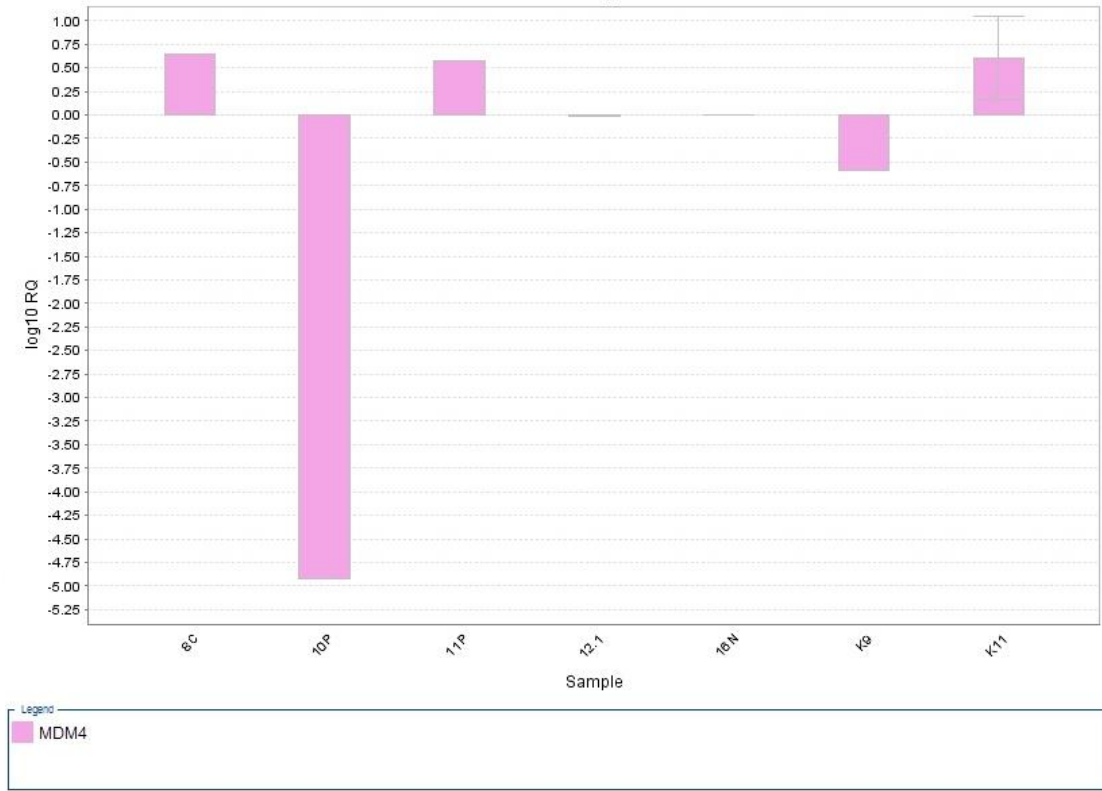
Şekil 4.47. KRAS geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.47.'de *KRAS* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.



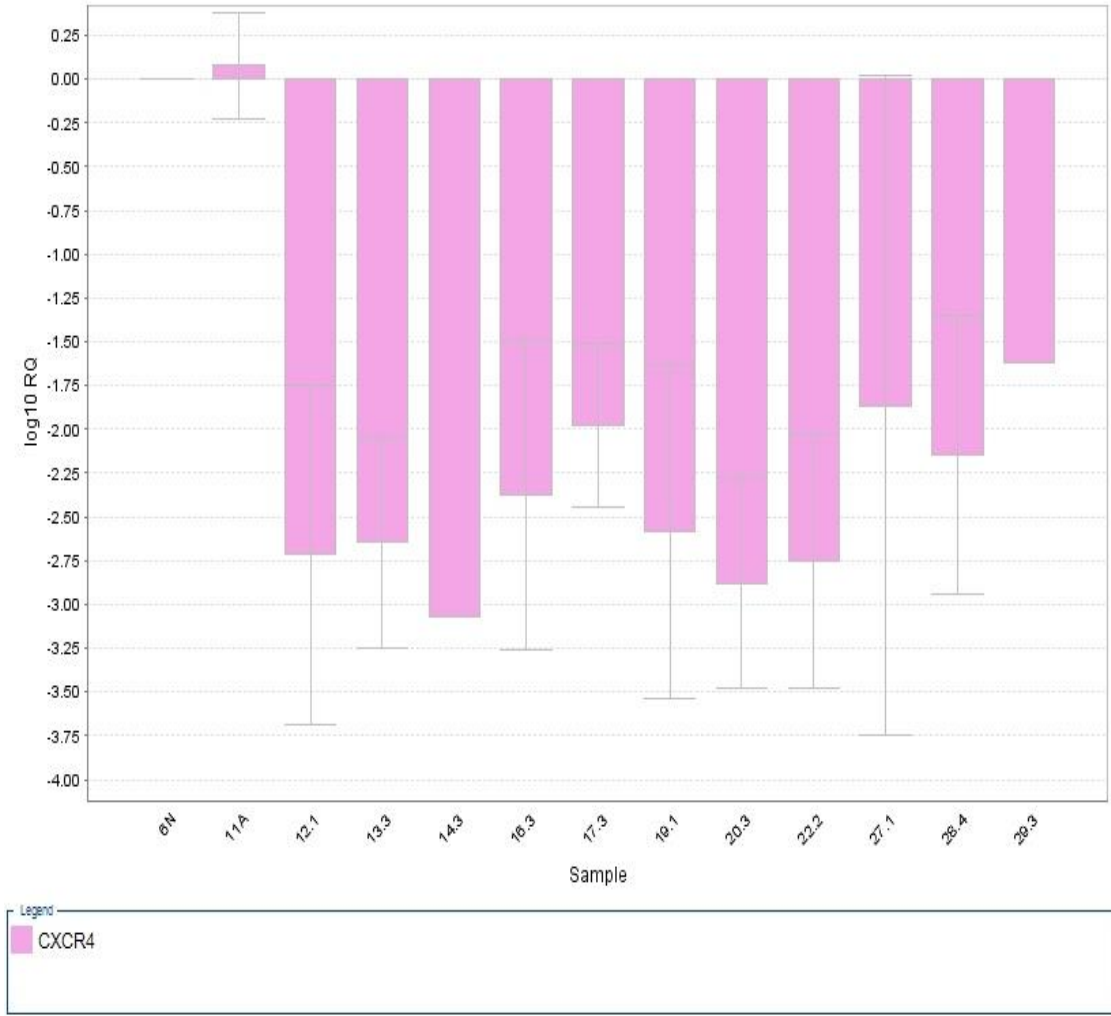
Şekil 4.48. UBE2W geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölâtif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.48.'de *UBE2W* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölâtif mRNA ekspresyon düzeyleri ifade düzeylerine göre belirlenmiştir.



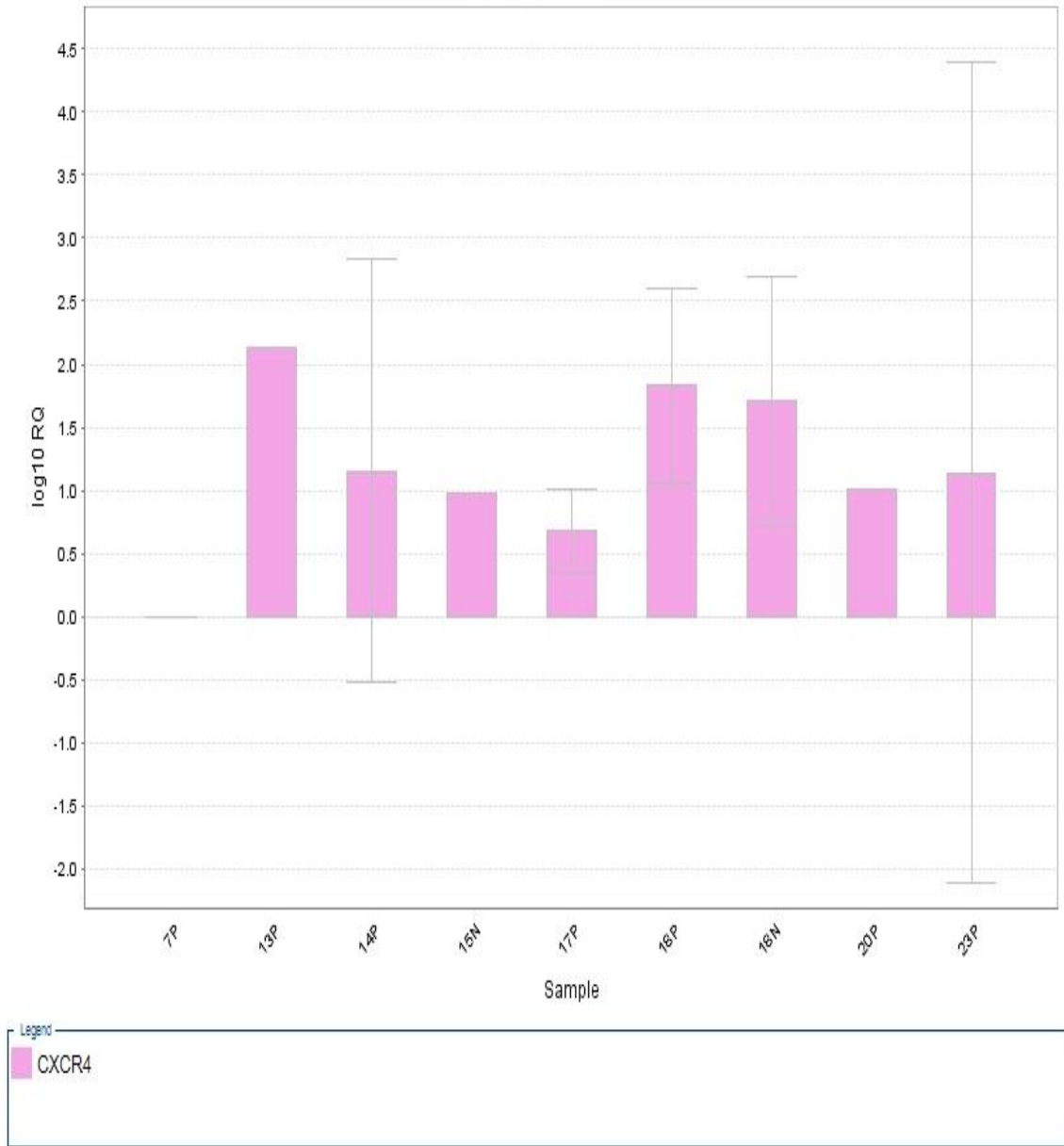
Şekil 4.49. MDM4 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.49.'da *MDM4* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri pankreas kanseri ve sağlıklı kontrol örnekleri ile karşılaştırılmıştır.



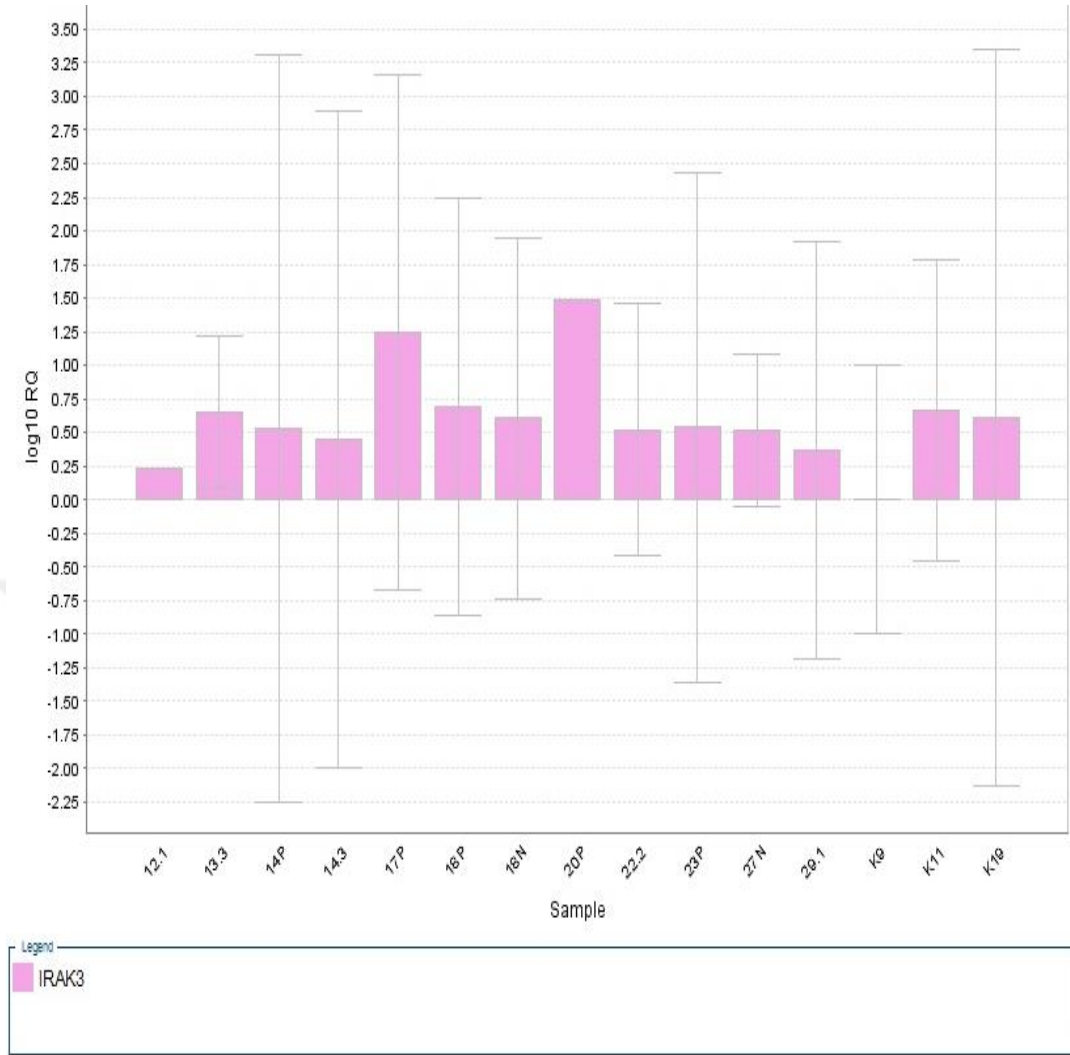
Şekil 4.50. CXCR4 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.50.'de *CXCR4* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



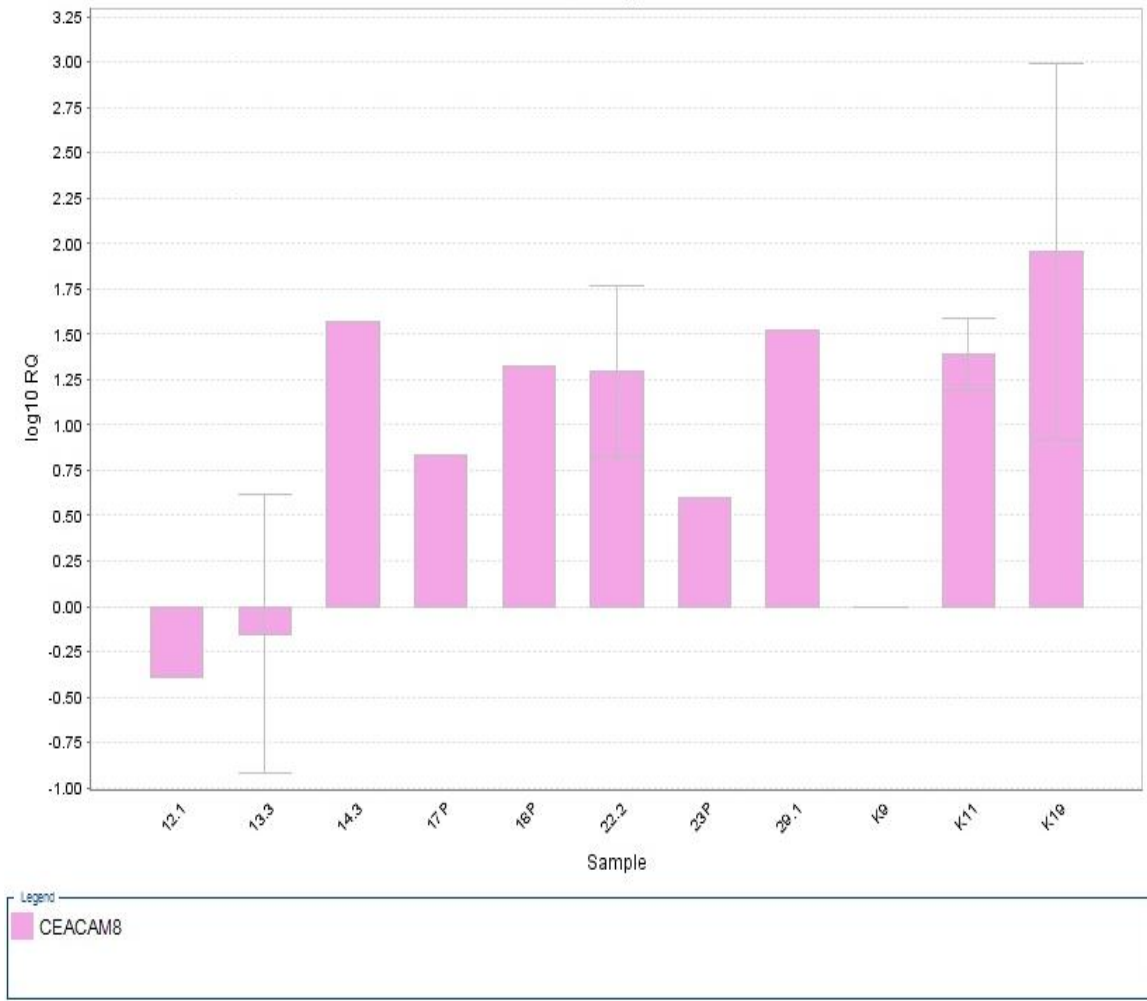
Şekil 4.51. CXCR4 geninin tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.51.'de CXCR4 geninin tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri ifade durumlarına göre belirlenmiştir.



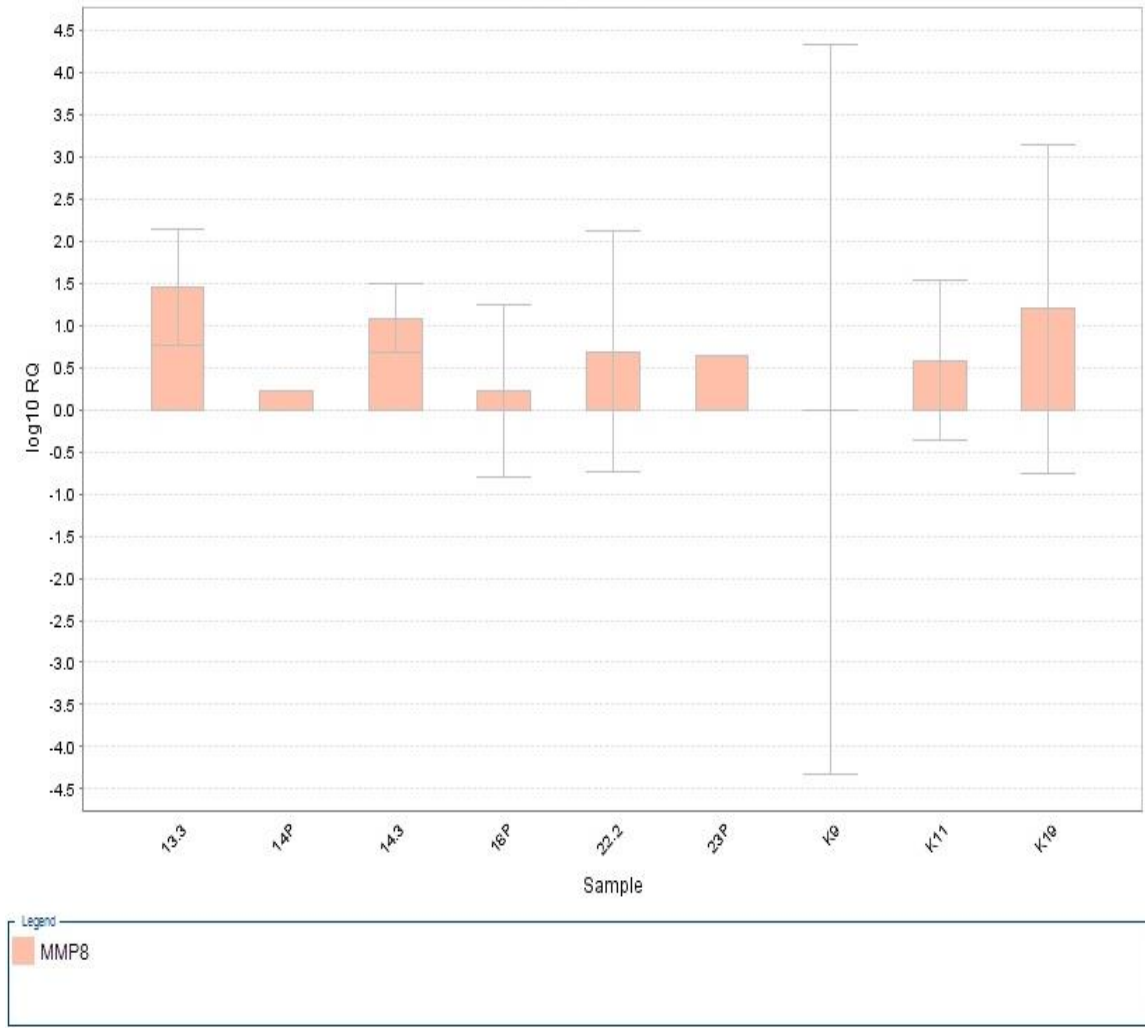
Şekil 4.52. IRAK3 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.52.'de *IRAK3* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.



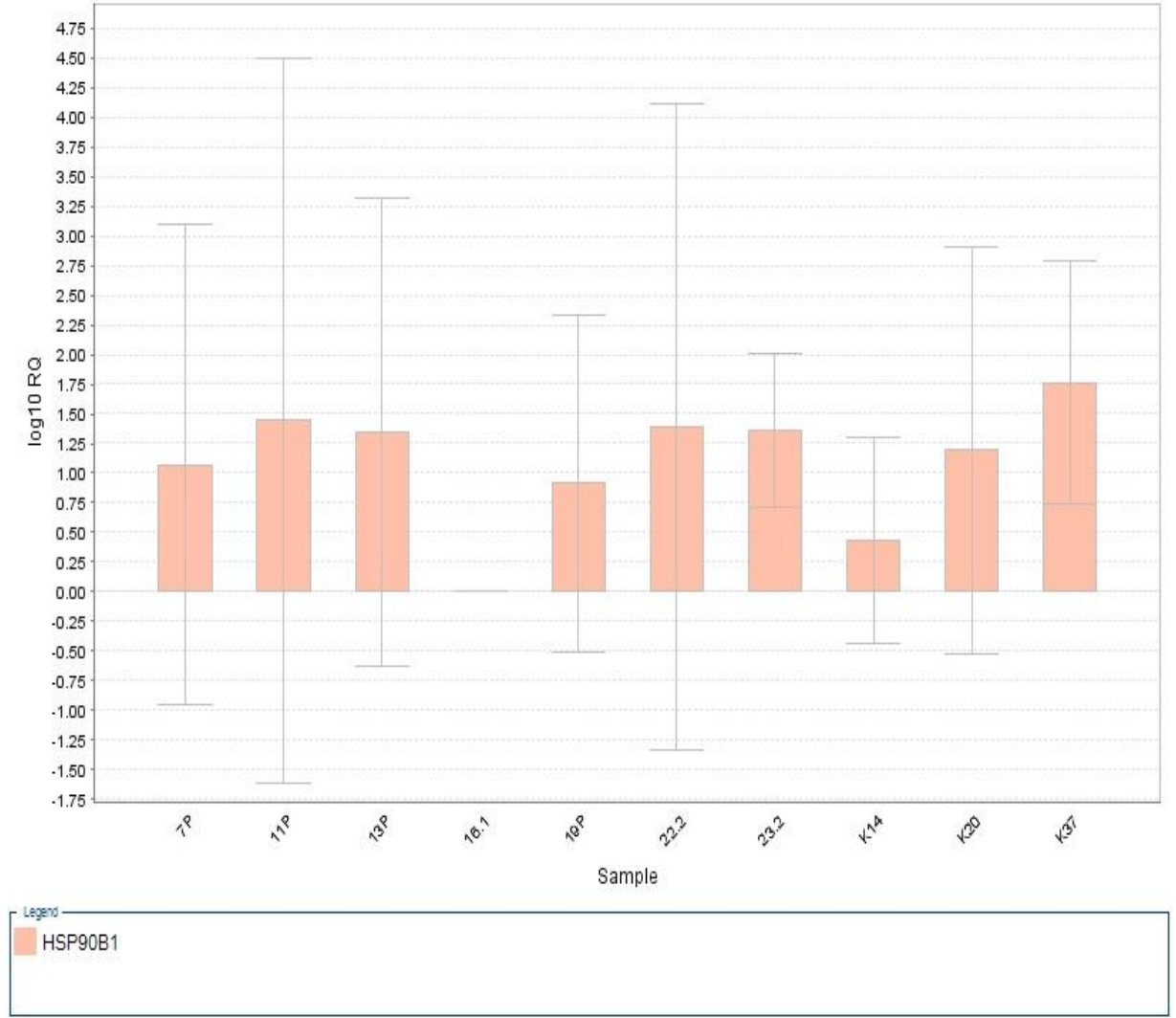
Şekil 4.53. CEACAM8 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.53.'de *CEACAM8* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



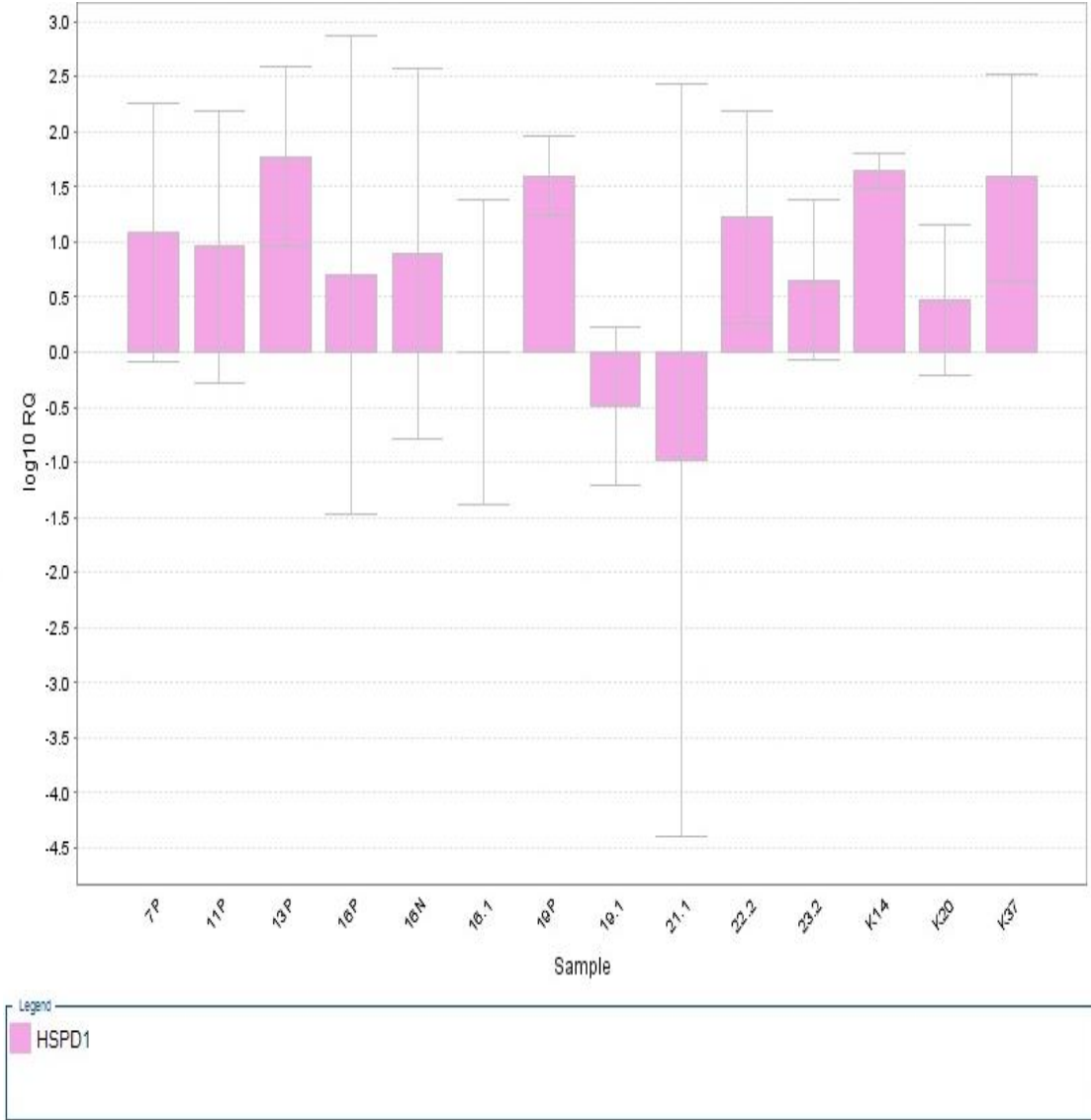
Şekil 4.54. MMP8 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.54.'de *MMP8* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.



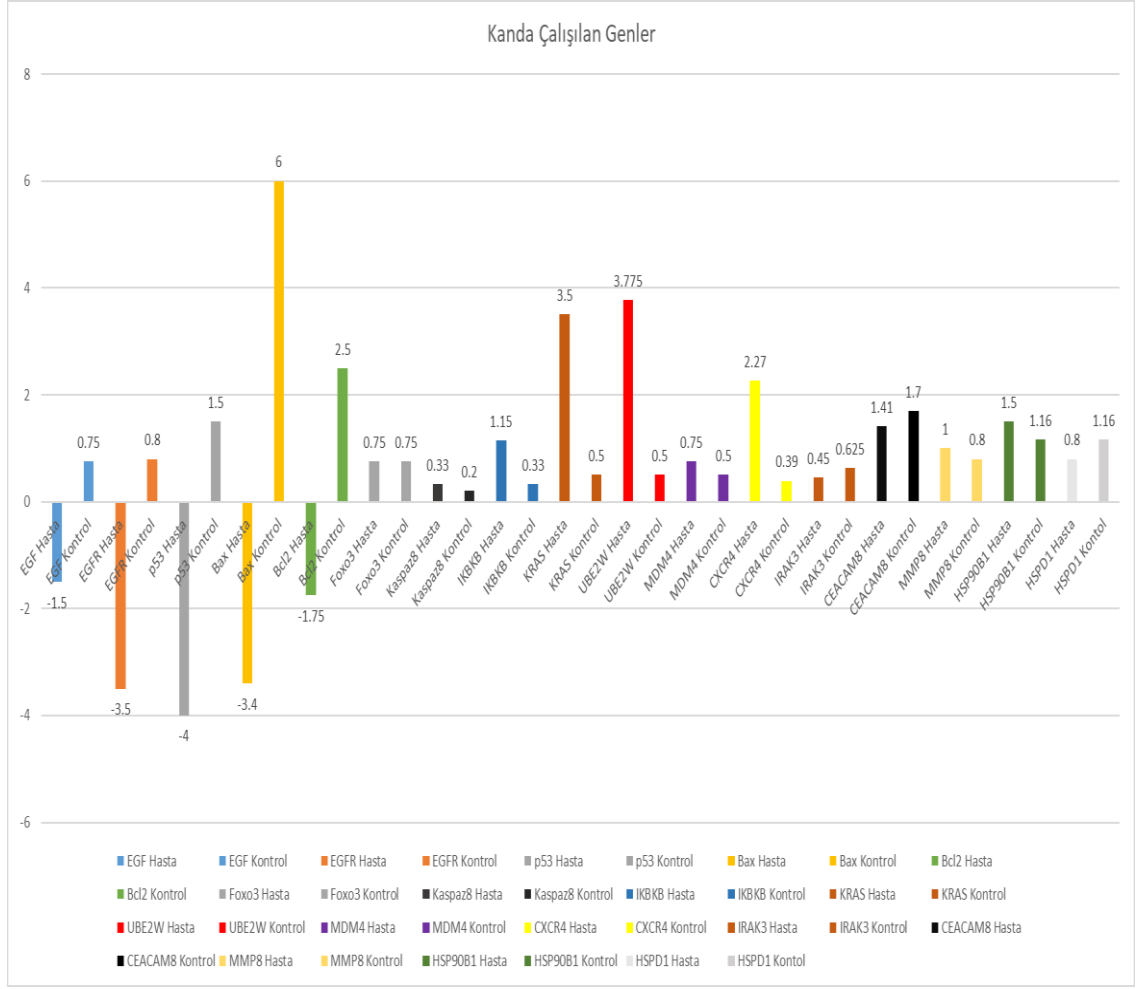
Şekil 4.55. HSP90B1 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.55.'de *HSP90B1* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



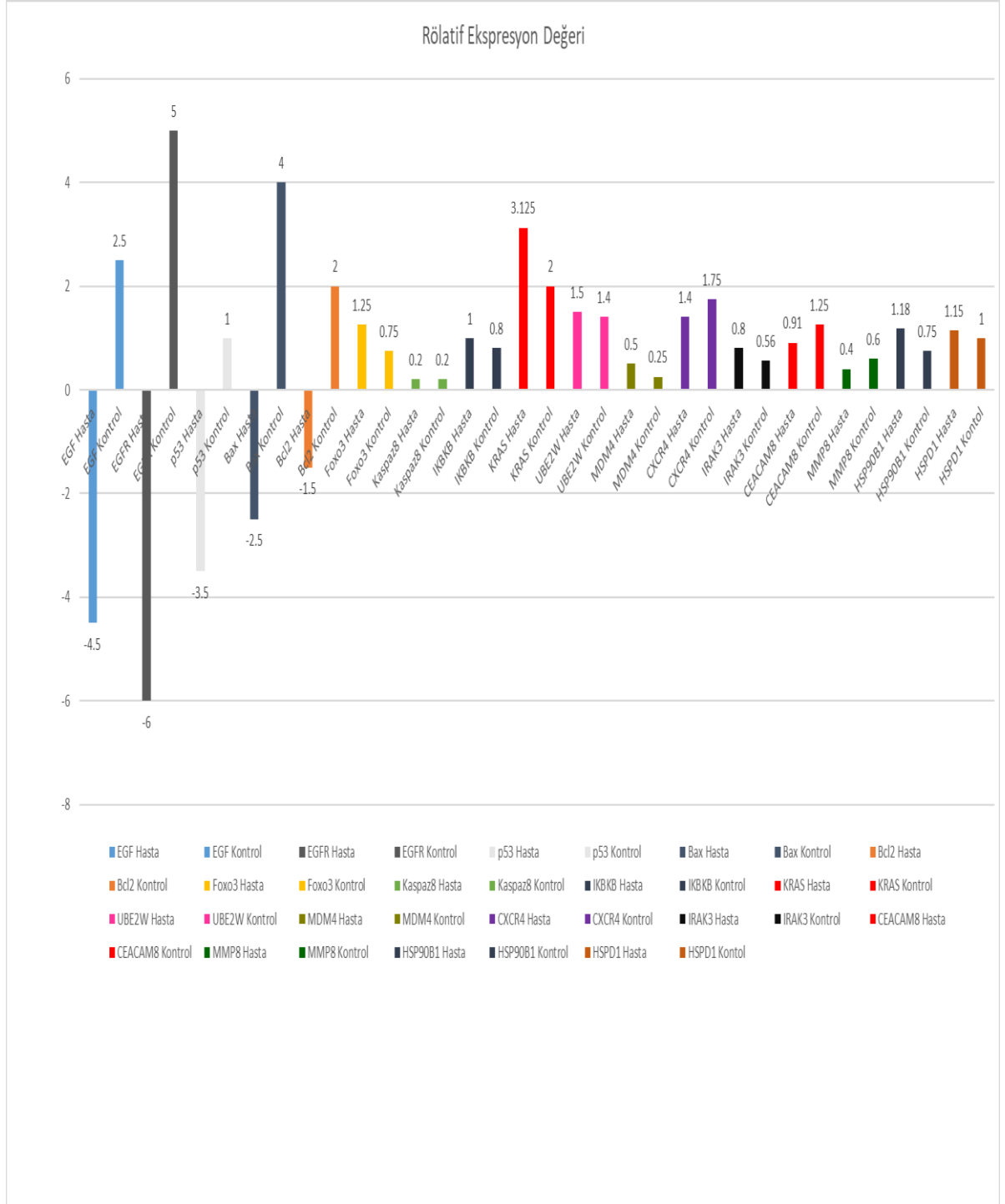
Şekil 4.56. HSPD1 geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif ekspresyon düzeyleri

Şekil 4.56.'da *HSPD1* geninin hasta- kontrol periferik kan örneklerindeki ve tümör-normal pankreas dokusundaki rölatif mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.



Şekil 4.57. Pankreas kanseri ve sağlıklı bireylerden alınan periferik kan örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genler

Şekil 4.57.'de pankreas kanseri ve sağlıklı bireylerden alınan periferik kan örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genlerin listesi şekillendirilmiştir.



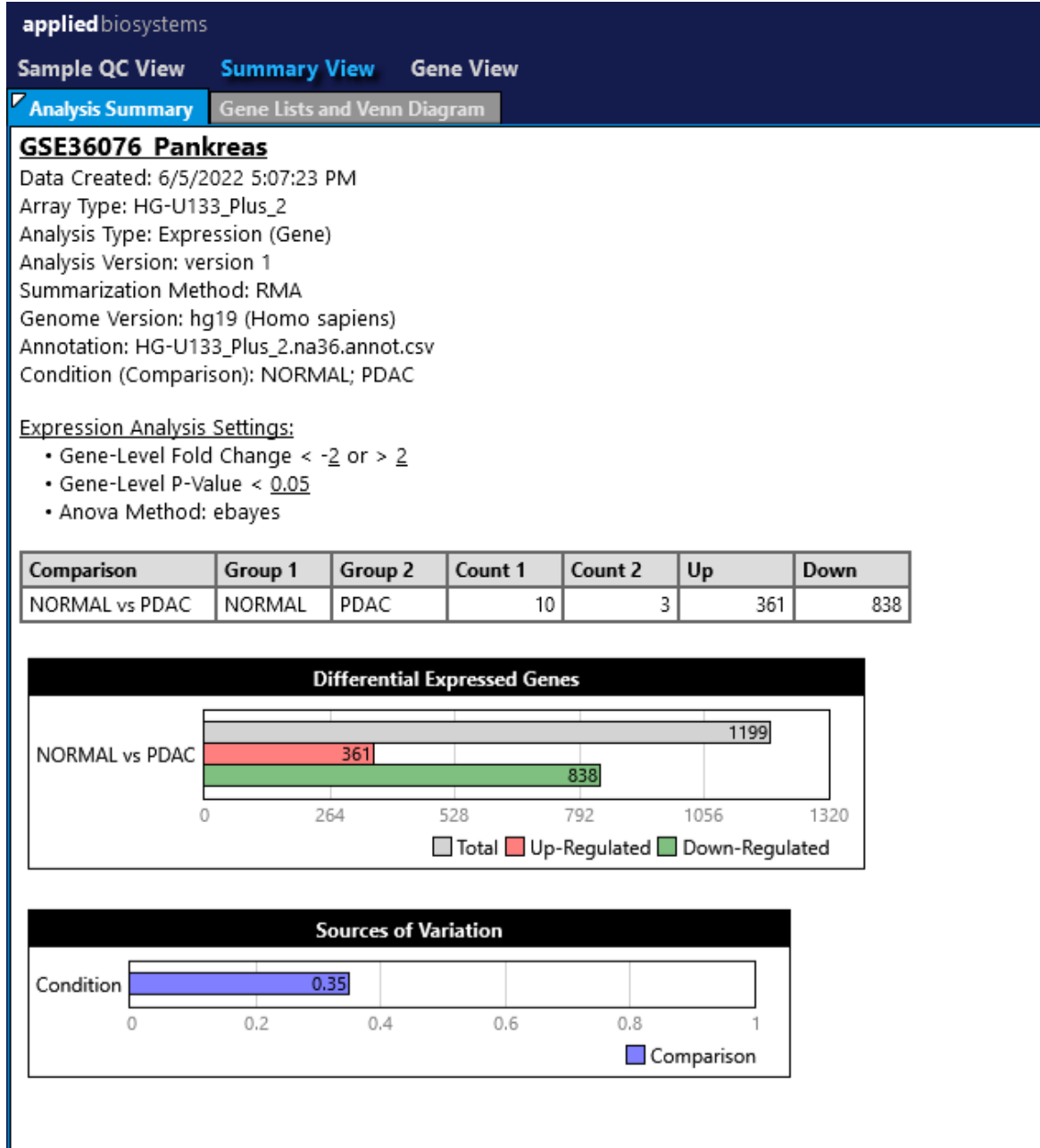
Şekil 4.58. Pankreas tümör dokusu ve normal pankreas dokusundan alınan FFPE örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genler

Şekil 4.58.'de pankreas tümör dokusu ve normal pankreas dokusundan alınan FFPE örneklerinde ekspresyon düzeyleri belirlenen genler tespit edilmiştir.

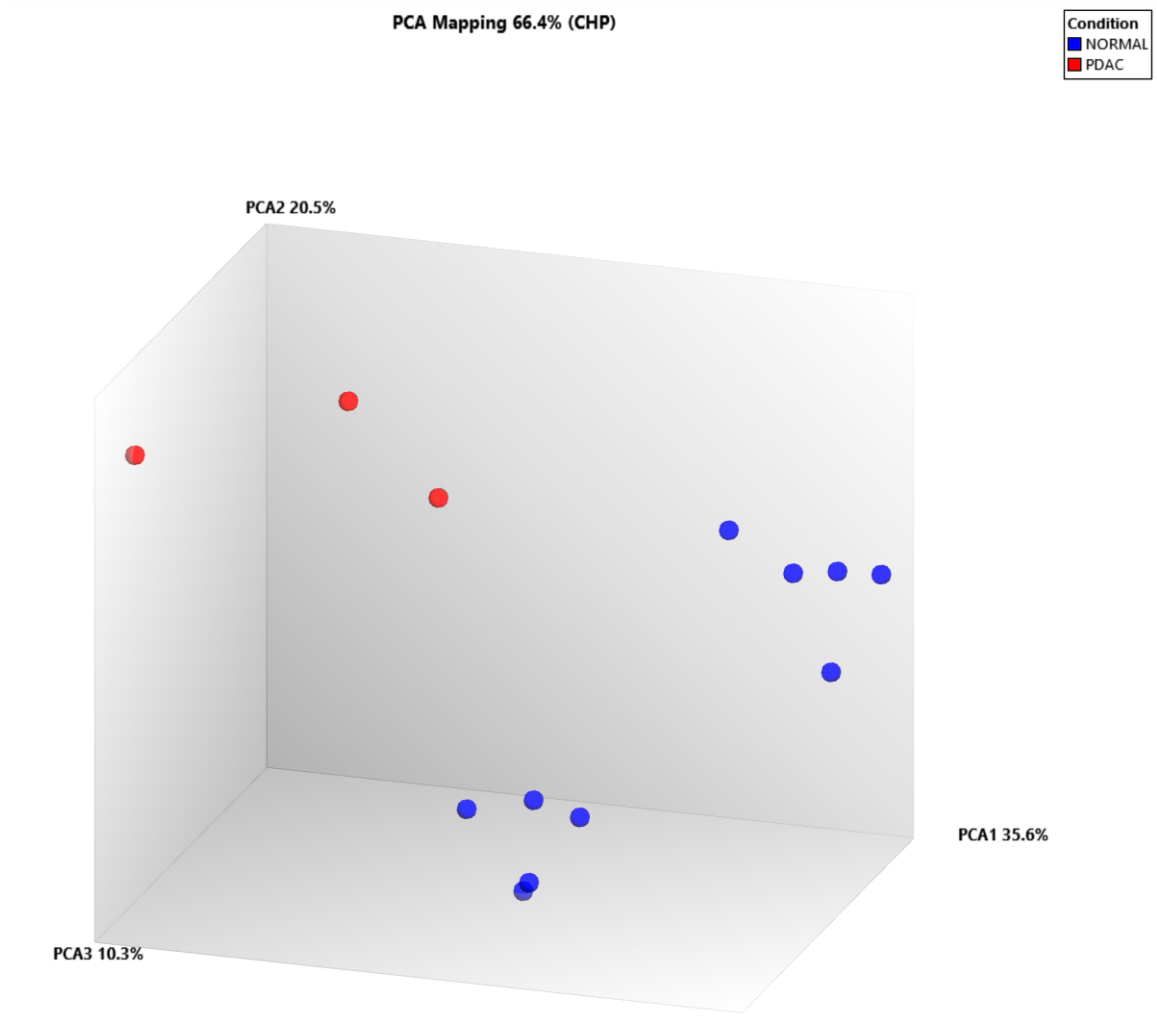
4.10. GSE36076 Veri Setinin Analiz Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan GSE36076 adlı veri setinde; NCBI GEO Veri Setinde kodlanmış GSE36076'nın ham transkriptom verileri kullanılmıştır. Şekil 4.59.'da gösterildiği gibi bu veri setinde 3 PDAC ve 10 sağlıklı birey periferik kan örneklerinden elde edilen gen ekspresyon verileri bulunmaktadır. TAC 4.0 programı ile veriler üzerinde ön işleme ve karşılaştırma analizleri yapılarak, PDAC ve sağlıklı bireyler arasında diferansiyel olarak eksprese edilen gen listesi (DEG'ler) belirlenmiştir. Daha sonra bu genlerle DAVID Bioinformatics Tool ile yol analizi, fonksiyonel kümeleme analizi ve zenginleştirme analizi yapılmıştır.

CEL dosyalarında Transkriptome Analiz Konsolu (TAC 4.0) ile; Önileme (Ön analiz), Varyans Filtreleme ve Grup karşılaştırması (Kat değişim eşiği <-3 $+3$ ve $p < 0.05$) yapılmış olup, karşılaştırma sonucunda kanser ve kontrol grupları arasında farklı ekspresyon düzeylerini gösteren gen listesi elde edilmiştir.

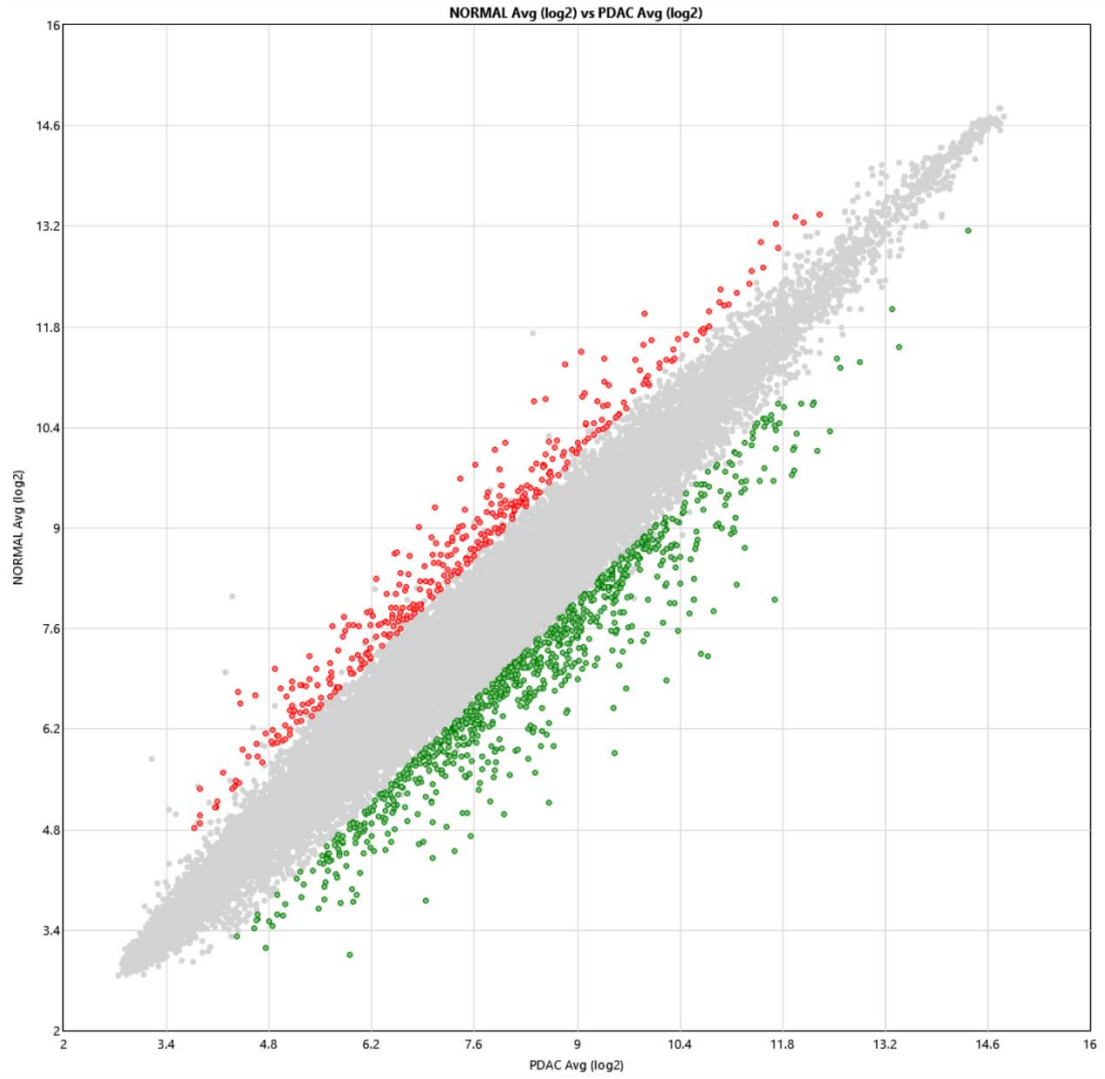


Şekil 4.59. GSE36076 Tümör ve normal periferik kan örneklerinde farklı ifade edilen genlerin sayıları



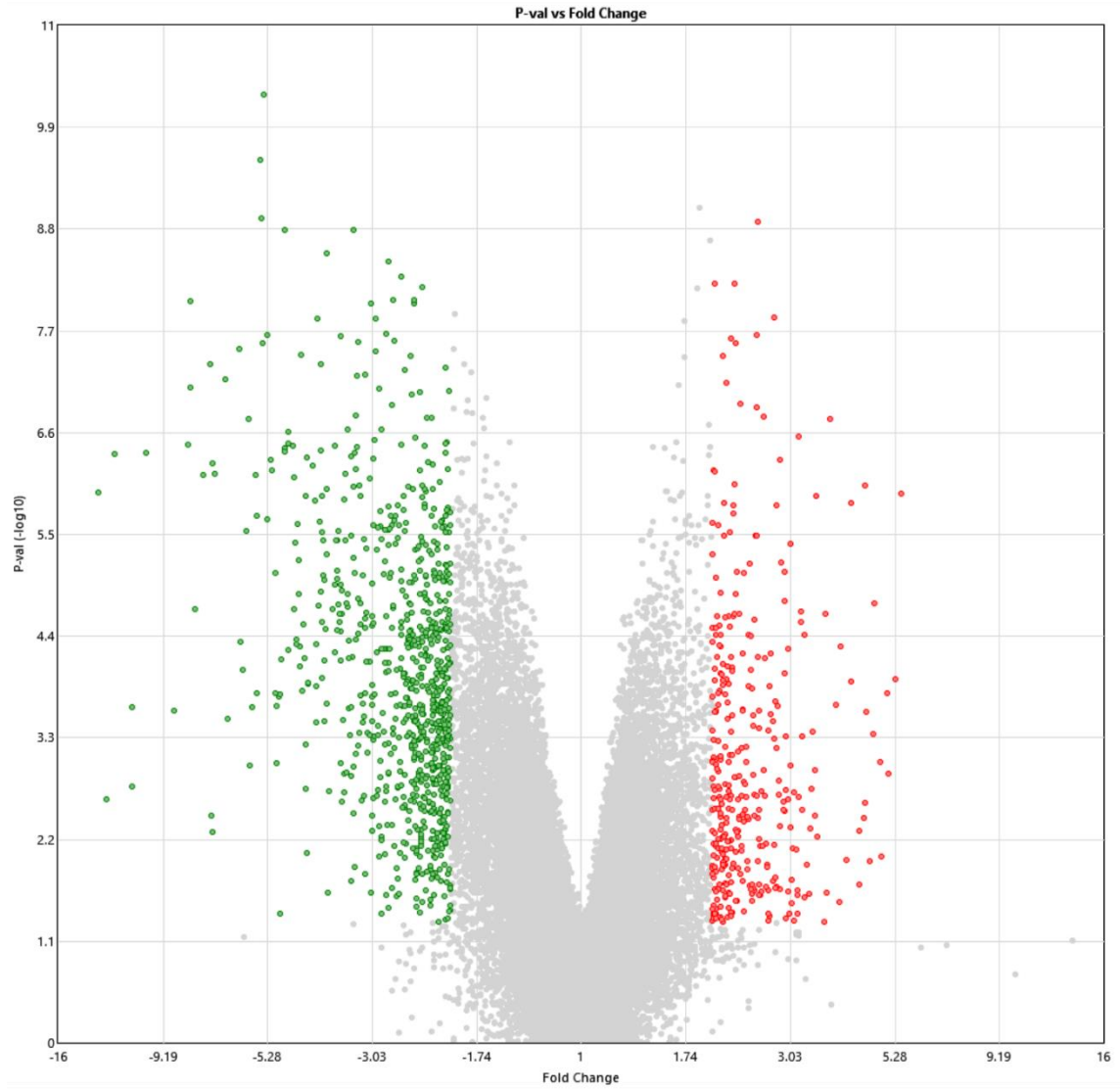
Şekil 4.60. GSE36076 veri setinde Principle component analiz (PCA) sonucunda tümör ve normal kan örneklerinin dağılımını gösteren harita

Şekil 4.60.'da GSE36076 veri setinde Principle component analiz (PCA) sonucunda tümör ve normal kan örneklerinin dağılımını gösteren harita belirlenmiştir.



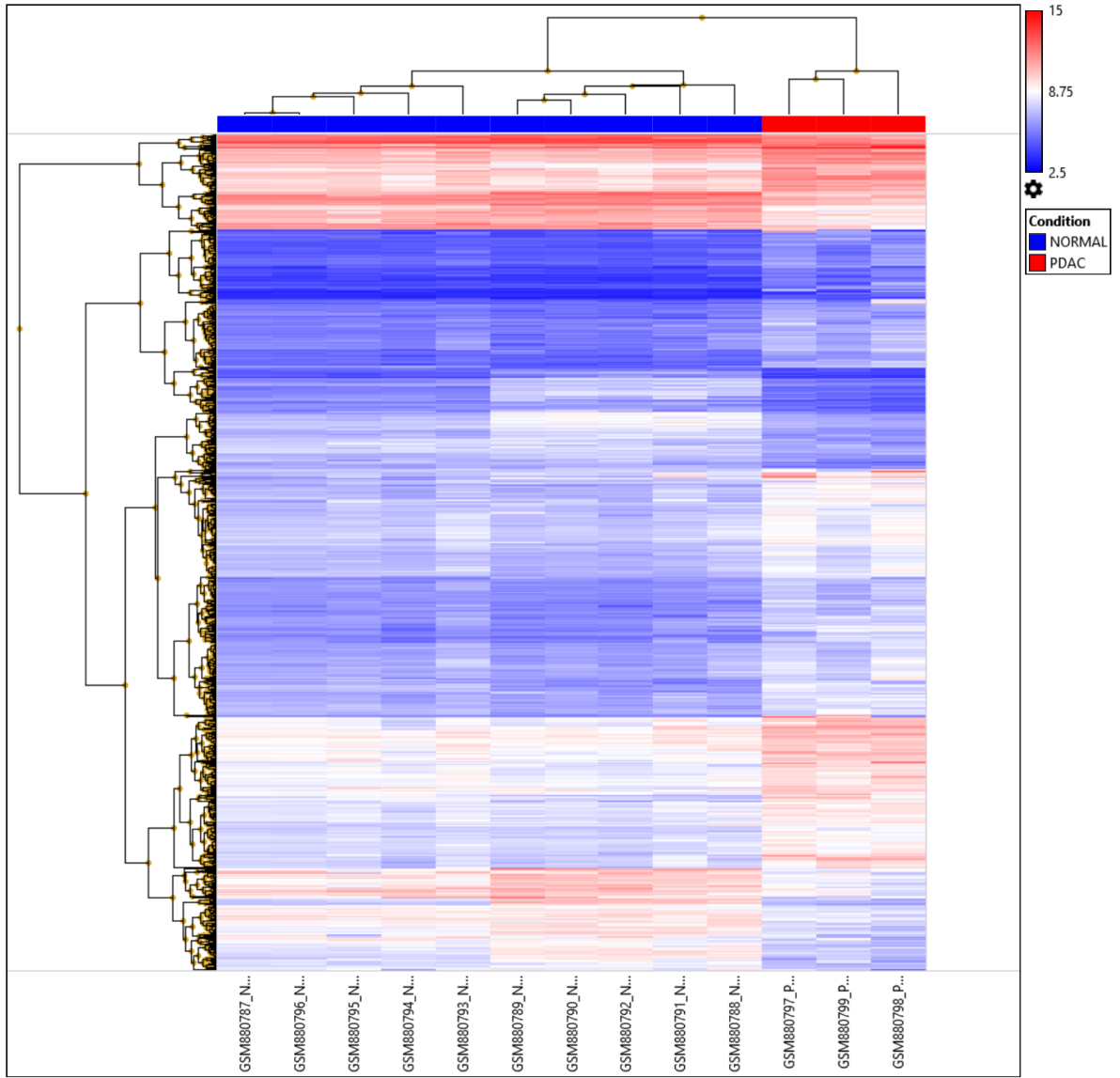
Şekil 4.61. GSE36076 Scatter plot

Şekil 4.61.'de GSE36076 veri setinde Scatter plot grafiği verilmiş olup, ifadesi artan ve azalan genler belirlenmiştir.



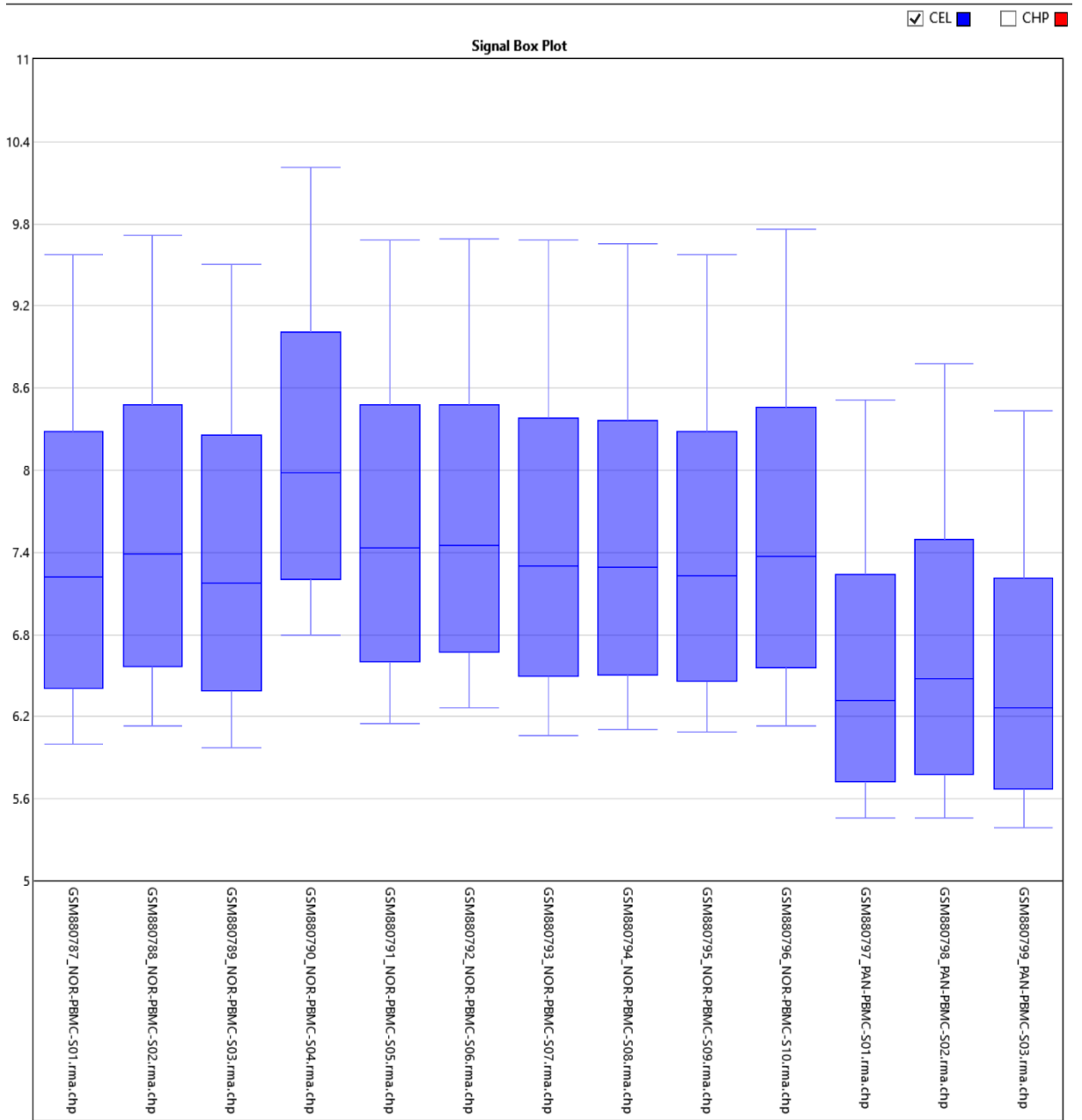
Şekil 4.62. GSE36076 Volcano plot

Şekil 4.62.'de GSE36076 veri setinde volcano plot grafiğine göre ifadesi artan ve azalan genler birbirinden bağımsız olarak ayrılmıştır.



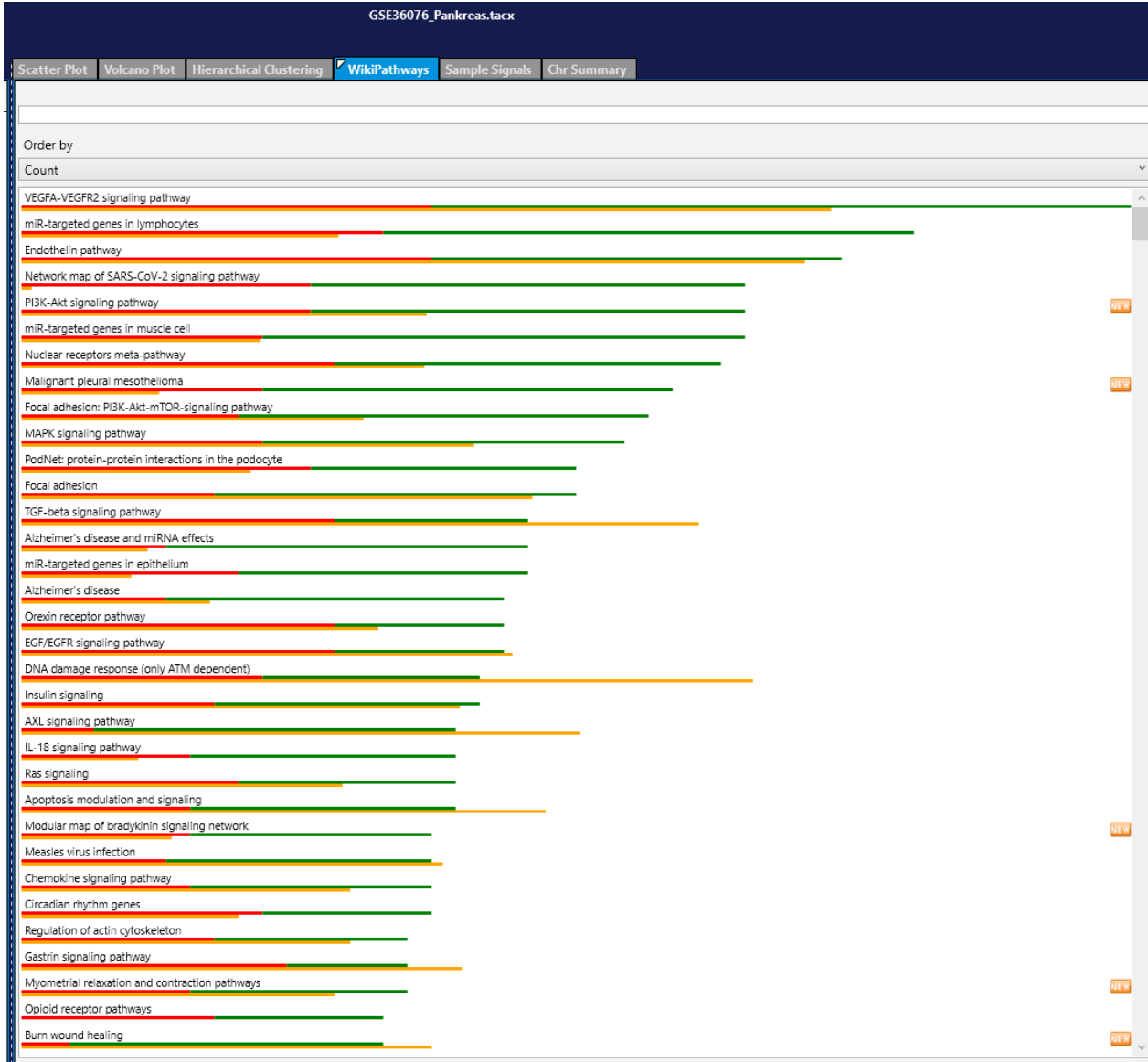
Şekil 4.63. Farklı ifade edilen genler kullanılarak yapılan hiyerarşik kümeleme analizi sonucu elde edilen heatmap

Şekil 4.63.'de farklı ifade edilen genler kullanılarak yapılan hiyerarşik kümeleme analizi sonucu elde edilen heatmap grafiği elde edilmiştir.



Şekil 4.64. GSE36076 Herbir örnekten alınan sinyali gösteren box plot

Şekil 4.64.'de GSE36076 veri setinde herbir örnekten alınan sinyali gösteren box plot grafiği sinyal seviyelerine göre belirlenmiştir.



Şekil 4.65. GSE36076 veri setinde farklı ifade edilen genlerin bulunduğu önemli yollar

Şekil 4.65.'de GSE36076 veri setinde farklı ifade edilen genlerin bulunduğu önemli yollar gösterilmiştir. Tablo 4.18.'de DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler bulunmuştur. Tablo 4.19.'da ise en yüksek kat değimi gösteren ve ifade düzeyi artan ilk 25 geni içeren listesi belirlenmiştir. Tablo 4.19.'da ise, en yüksek kat değimi gösteren ve ifade düzeyi artan ilk 25 geni içeren liste ortaya çıkarılmıştır. Tablo 4.20.'de en yüksek kat değimi gösteren ve ifade düzeyi azalan 25 geni içeren liste belirtilmiştir.

Tablo 4.18. DAVID Bioinformatic tools ile yapılan fonksiyonel kümeleme analizleri sonucu elde edilen zenginleşme skoru 1.3 den büyük olan anlamlı kümeler

Annotation Cluster 1	Enrichment Score: 3.64	Count	P_Value	Benjamini
Annotation Cluster 2	Ubl conjugation	166	7.20E-05	6.50E-04
	CROSSLNK:Glycyl lysine isopeptide (Lys-Gly) (interchain with G-Cter in SUMO2)	80	1.00E-04	2.00E-01
	Isopeptide bond	116	1.60E-03	1.10E-02
Annotation Cluster 3	Enrichment Score: 2.88	Count	P_Value	Benjamini
	Salmonella infection	31	4.00E-05	5.50E-03
	Pathogenic Escherichia coli infection	21	5.90E-03	6.80E-02
Annotation Cluster 4	Shigellosis	24	9.30E-03	8.30E-02
	Enrichment Score: 2.88	Count	P_Value	Benjamini
	GTP binding	39	5.80E-06	3.00E-03
Annotation Cluster 5	NP_BIND:GTP	30	4.50E-05	1.70E-01
	GTP-binding	34	3.30E-04	1.20E-02
	GTPase activity	29	1.50E-03	2.20E-01
Annotation Cluster 6	Small GTPase superfamily	13	1.90E-02	1.00E+00
	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolase	53	2.30E-02	1.00E+00
	Small GTP-binding protein domain	12	1.20E-01	1.00E+00
Annotation Cluster 7	Enrichment Score: 2.26	Count	P_Value	Benjamini
	oocyte development	5	2.80E-03	3.00E-01
	post-embryonic development	9	6.40E-03	4.60E-01
Annotation Cluster 8	ovarian follicle development	7	9.20E-03	5.10E-01
	Enrichment Score: 2.13	Count	P_Value	Benjamini
	positive regulation of interleukin-6 production	13	9.70E-04	1.60E-01
Annotation Cluster 9	positive regulation of interleukin-8 production	9	4.80E-03	4.30E-01
	positive regulation of interferon-gamma production	9	1.70E-02	6.20E-01
	positive regulation of chemokine production	6	3.80E-02	9.20E-01

Tablo 4.19. En yüksek kat değimi gösteren ve ifade düzeyi artan ilk 25 geni içeren liste

GENE SYMBOL	FOLD CHANGE	P-VAL	FDR P-VAL
JUN	5.46	1.15E-06	0.0004
RHOB	5.29	0.0001	0.0051
PTGDS	5.11	0.0012	0.0202
ADRB1	5.07	0.0002	0.0062
CD74	4.91	0.0095	0.0684
GZMM	4.88	0.0009	0.0171
HSP90AB1	4.72	1.78E-05	0.0018
TUBB2A	4.72	0.0005	0.0113
LILRA3	4.63	0.0107	0.0737
FCER1A	4.54	0.0003	0.0081
IFNG	4.5	0.0025	0.0309
PLK2	4.49	9.26E-07	0.0004
MGEA5	4.48	0.0037	0.0387
RHOB	4.38	0.005	0.0468
RASSF5	4.38	0.0194	0.1051
NUMA1	4.18	1.46E-06	0.0005
KLRB1	4.18	0.0001	0.0053
SRSF5	4.08	0.0105	0.0728
JUN	3.96	5.18E-05	0.0032
CCNL1	3.92	0.0296	0.1346
SH2D1B	3.85	0.0002	0.0074
PIK3R1	3.75	1.77E-07	0.0001
LY6E	3.67	0.0238	0.1188
DDX3Y	3.66	2.28E-05	0.0021
NEAT1	3.62	0.0493	0.1815
TWF1; TWF1P1	3.51	0.0058	0.0509

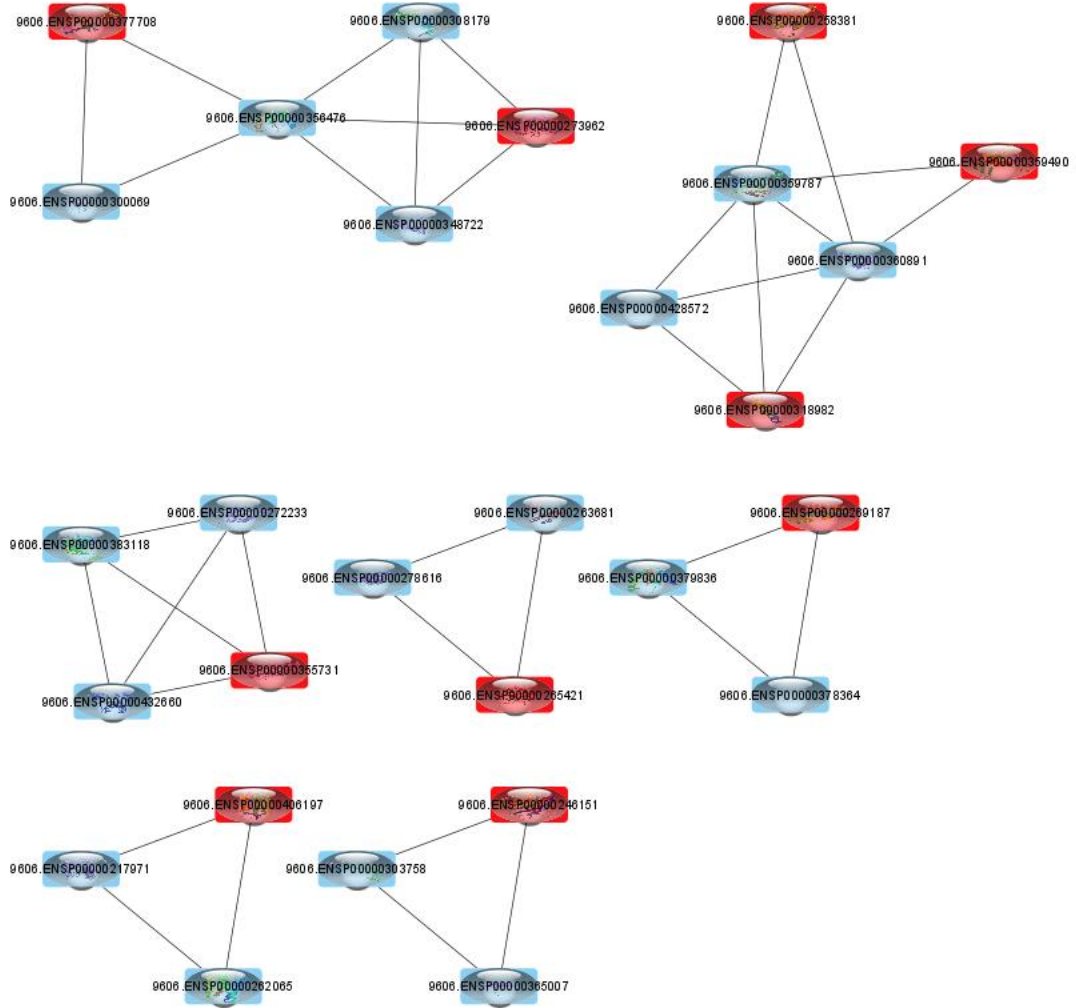
Tablo 4.20. En yüksek kat değişimi gösteren ve ifade düzeyi azalan 25 geni içeren liste

Gene Symbol	Fold Change	P-val	FDR P-val
CCR2	-12.93	1.11E-06	0.0004
XIST	-12.43	0.0023	0.0296
HBB	-11.86	4.23E-07	0.0002
XIST	-10.81	0.0017	0.0243
HBA1; HBA2	-10.81	0.0002	0.0077
HBB	-10.06	4.11E-07	0.0002
FAM20A	-8.66	0.0003	0.008
HIST1H3H	-8.08	3.35E-07	0.0002
CREB5	-7.96	9.52E-09	2.78E-05
XK	-7.95	8.07E-08	8.32E-05
TRBV27	-7.76	2.02E-05	0.002
LOC728715; OVOS; OVOS2	-7.44	7.28E-07	0.0003
PKHD1L1	-7.17	4.50E-08	5.72E-05
XIST	-7.13	0.0034	0.0374
SPX	-7.09	5.33E-07	0.0002
XIST	-7.08	0.0052	0.0478
HBB	-6.97	7.03E-07	0.0003
MLH3	-6.61	6.66E-08	7.28E-05
TNFRSF17	-6.52	0.0003	0.0089
P2RY12	-6.12	4.62E-05	0.003
IL1B	-6.02	9.12E-05	0.0044
CCR1	-5.9	2.88E-06	0.0006
CALD1	-5.84	1.77E-07	0.0001
DEFA1; DEFA1B; DEFA3	-5.79	0.001	0.0178
C9orf64	-5.74	0.0002	0.0076
C2orf88	-5.62	7.21E-07	0.0003
CXCL5	-5.59	0.0002	0.0063

Tablo 4.21.'de yolak analizi sonucu ilgili gen listesine göre öne çıkan ilgili moleküler yolaklar belirlenmiştir.

Tablo 4.21. Yolak analizi sonucu ilgili gen listesine göre öne çıkan ilgili moleküler yolaklar

CATEGORY	TERM	COUNT	P-VALUE	BENJAMINI
KEGG_PATHWAY	Osteoclast differentiation	21	2,1E-5	5,5E-3
KEGG_PATHWAY	Salmonella infection	31	4,0E-5	5,5E-3
KEGG_PATHWAY	Malaria	12	6,7E-5	5,5E-3
KEGG_PATHWAY	Fluid shear stress and atherosclerosis	21	7,0E-5	5,5E-3
KEGG_PATHWAY	Focal adhesion	26	1,1E-4	6,7E-3
KEGG_PATHWAY	Phospholipase D signaling pathway	21	1,7E-4	8,9E-3
KEGG_PATHWAY	Lipid and atherosclerosis	26	3,1E-4	1,3E-2
KEGG_PATHWAY	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	14	3,4E-4	1,3E-2
KEGG_PATHWAY	Regulation of actin cytoskeleton	26	3,8E-4	1,3E-2
KEGG_PATHWAY	IL-17 signaling pathway	15	5,9E-4	1,9E-2
KEGG_PATHWAY	Colorectal cancer	14	7,9E-4	2,3E-2
KEGG_PATHWAY	Choline metabolism in cancer	15	9,0E-4	2,4E-2
KEGG_PATHWAY	Fc gamma R-mediated phagocytosis	14	2,5E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Human cytomegalovirus infection	24	3,0E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Bacterial invasion of epithelial cells	12	3,1E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Apoptosis	17	3,2E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Platelet activation	16	3,3E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	TNF signaling pathway	15	3,3E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	13	3,4E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	African trypanosomiasis	8	3,6E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Legionellosis	10	3,7E-3	5,6E-2
KEGG_PATHWAY	Neutrophil extracellular trap formation	21	4,0E-3	5,7E-2
KEGG_PATHWAY	Rheumatoid arthritis	13	4,9E-3	6,6E-2
KEGG_PATHWAY	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	21	5,0E-3	6,6E-2
KEGG_PATHWAY	Hepatitis C	18	5,7E-3	6,8E-2
KEGG_PATHWAY	Rap1 signaling pathway	22	5,8E-3	6,8E-2
KEGG_PATHWAY	Pathogenic Escherichia coli infection	21	5,9E-3	6,8E-2
KEGG_PATHWAY	NOD-like receptor signaling pathway	20	6,0E-3	6,8E-2
KEGG_PATHWAY	Prostate cancer	13	6,8E-3	7,3E-2
KEGG_PATHWAY	PI3K-Akt signaling pathway	32	6,9E-3	7,3E-2
KEGG_PATHWAY	Yersinia infection	16	8,3E-3	8,3E-2
KEGG_PATHWAY	Gap junction	12	8,7E-3	8,3E-2
KEGG_PATHWAY	Proteoglycans in cancer	21	9,1E-3	8,3E-2
KEGG_PATHWAY	Shigellosis	24	9,3E-3	8,3E-2
KEGG_PATHWAY	Natural killer cell mediated cytotoxicity	15	9,3E-3	8,3E-2



Şekil 4.66. GSE36076 gen listesi üzerinden Cytoscape programı ile yapılan PPI network analizi sonucu belirlenen Hub genler

Şekil 4.66.'da GSE36076 veri setinde gen listesi üzerinden Cytoscape programı ile yapılan PPI network analizi sonucu belirlenen Hub genler tespit edilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında belirlemiş olduğumuz aday genlerin validasyonu, sağlıklı ve pankreas kanseri teşhisi almış hastaların kan örneklerinde ve pankreas kanseri olan hastalardan alınan tümör dokusu ve normal pankreas dokusunda çalışılmış ve tartışılmıştır.

Caba vd. yaptıkları çalışmada 18 PDAC hastalarından ve 18 kontrollerden alınan periferik kan örneklerini cDNA mikrodizinleri ile analiz etmişler ve IRAK3 geninin PDAC hastalarında ekspresyon seviyelerinin arttığını rapor etmişlerdir [206]. Yaptığımız doktora tez çalışmasında IRAK3 geninin ekspresyon düzeylerini QRT-PCR ile hem pankreas tümör dokusunda hem de periferik kan örneklerinde inceledik. Ve sonuçta yapılan çalışma ile paralellik gösterdiğini hem pankreas tümör dokusunda hem de periferik kan örneklerinde ifade düzeylerinin yükseldiğini belirledik. Elde ettiğimiz bulgularda tümör dokusu üzerinden yaptığımız analizlerde IRAK3 geninin hasta grubunda kontrol grubuna nazaran daha yüksek bir ifade profili sergilediğini ancak periferik kan örneklerinde bu durumun tam aksi bir profil sergilediğini belirledik. Bunun sebebini şu şekilde açıklayabiliriz. Primer tümör dokusu bazı durumlarda kendi spesifik ifade profili sergilerken bu tümör dokusundan elde edilen ifade profili periferik anda benzer bir ifade profili sergilememektedir. Bu nedenle biz de yaptığımız deney dizaynında hem primer tümör dokusu örneklerinden hem de periferik kan örneklerinden elde ettiğimiz ekspresyon verisini kullanmayı planladık. Bunun amacı hem primer tümör dokusunda hem de periferik kanda tespit edilebilecek bir biyobelirtecin tanımlanabilmesidir. Bu tür durumlarda biyobelirteç adayı olabilecek bir genin ifade profilinin hem primer tümör dokusunda hem de periferik kanda benzer şekilde temsil ediliyor olması gerekmektedir. Bu genin hem tümör dokusundaki hem de periferik kandaki ifade düzeyleri Şekil 4.52’de verilmiştir.

Wang vd. yaptıkları çalışmada SMAD4 eksikliğinde pankreas kanseri hücrelerinin radyoterapiye verdikleri cevap incelenmiş olup; SMAD4 ekspresyonunu SMAD4 siRNA bağlı olarak ekspresyonu seviyesi düşürüldüğünde SMAD4 tüketen pankreas kanseri hücrelerindeki klorokin ve N asetil l sistein tedavisi ile radyorezidans dirençliliğine bakılmıştır. Sonuçta; SMAD4 kullanan pankreas kanseri hücrelerinin radyoterapiye daha dirençli olduğu bulunmuştur [207]. Liang vd. yaptıkları çalışmada; SMAD4’ün glukoz metabolizmasındaki gen ekspresyon düzeyleri ve fosfoglisarat kinaz 1 (PGK1) aktivitesinin PDAC hücrelerinde transkripsiyon faktöründeki rolünü araştırılmıştır. Sonuçta; SMAD4 eksikliğinin PDAC’da glikoliz ve agresif tümör durumunu fazlaştırdığı PGK1’in artan ekspresyonunu indüklediği ve dolayısıyla PGK1 negatif PDAC bir onkogen olduğu tespit edilmiştir [208].

Bosetti vd. yaptıkları çalışmada: Pankreas kanseri olan 13.000’e yakın hastayı içeren 12 vaka kontrol çalışması yapmış olup, sigara içenlerin, hiç sigara içmeyenlere göre 2.2 oranında pankreas kanserine yakalanma riskine sahip olduğu sonucuna varmıştır [209]. Riskin sigarayla orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Oysa eskiden belli bir süre sigara içip daha sonra bırakanlar için, oran 1.2 olarak belirlenmiştir. Sigarayı bırakma ile riskin giderek azaldığı fakat sigaraya bağlı riskin ortadan kalkması için 10-20 yıl gerektiği belirlenmiştir [209].

Jang vd. yaptıkları çalışmada; 455 pankreas kanseri ve 893 kontrol grubu karşılaştırılmış olup epidemiyolojik ve sigara içme verileri incelenmiş olup vakaların yaş oranı 65 olup %54 ‘ünün erkek hastalar olduğu bildirilmiştir. CYP1B1 -4390-GG genotipiyle pankreas kanseri riskinin azaldığı tespit edilmiştir oysa YP1B1 -142’nin, en yüksek pankreas kanseri riskine sahip CYP1B1 -142 -CG genotipine sahip bireylerle, anlamlı bir ilişkisi olduğu belirlenmiştir [210].

Thompson vd. yaptıkları çalışmada; pankreatik dokularda 4-aminobifenil-DNA eklentisi olan bireylerin yavaş NAT1 -1095-CC genotipine sahip olduğunu tespit etmiş olup, NAT1'in 4-aminobifenil detoksifikasyon yolu yoluyla pankreas kanseri gelişiminde rol oynadığı rapor edilmiştir [211]. Gonzalez vd. yaptıkları meta analiz çalışmasında 6391 pankreas kanseri olan altı vaka ve sekiz kohort çalışması belirlenmiş olup, gözlemsel sonuçlarda vücut kitle indeksine bağlı olarak birimsel olarak 1.19 risk tespit edilmiş olup obezite ile pankreas kanseri arasında zayıf bir ilişki saptanmıştır [212]. Genkinger vd. yaptıkları başka bir meta analiz çalışmasında 846.340 kişi üzerinde 14 kohort çalışması için analiz yapılmış olup; 2135 kişi pankreas kanseri teşhisi almıştır. Obez kişiler, kilo alan kişiler ve bel-kalça oranı yüksek olan kişiler ile pankreas kanseri olan kişiler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir [213]. Aggarwal vd. yaptıkları çalışmada pankreas kanser teşhisi almış hastaların %40-%50 'sinin kanser teşhisi almadan önceki 3 yıl içinde diyabet teşhisi aldığı ve pankreas kanseri olan kişilerde diyabet prevalansı çok yüksek olmakla birlikte özellikle yeni başlayan diyabetin pankreatik adenokarsinoma özgü bir durum olduğu rapor edilmiştir [214].

Golan vd. PDAC hastalarında gBRCA1-2 insidansını belirlemek için uluslararası faz III POLO çalışması ile yapmışlardır. 2167 hasta arasında, yeni tanımlanan gBRCA1-2 128 kişi olup, ABD'de 275 kişi arasından 26 kişi, Fransa'da 289 kişi arasından 22 kişi ve İsrailde 242 birey arasından 18 kişi olarak rapor edilmiştir. Bu durumun aksine İspanya'da 342 kişi arasından 12 kişi, Birleşik Krallık 151 kişiden 5 kişi ve Kore'de ise 193 kişiden 10'unda PDAC hastalarında gBRCA1-2 sıklığı %3,5'ten daha düşük olarak rapor edilmiştir. Hastaların medyan yaş 57.9'a karşı 61 yıl olarak belirlenmiştir [215]. Peretti vd. yaptıkları çok yönlü bir çalışmada 939 PDAC hastasının 76 tanesinde gBRCA1-2 patojenik varyantlarının olduğunu ayrıca ailesinde BRCA öyküsü olanlarda bu oranın %14 ailesinde hastalıkla ilişki bir öykü bulunmayanlarda ise oranın %6 olduğunu rapor etmişlerdir [216]. Howes vd. yaptıkları 418 hastadan oluşan Avrupa kohort çalışmasında, akut pankreatit hastalığına sahip bireylerde atak sayısı günde 6 olarak saptanmış olup Danimarkalı hastaların %23'üne ağrıdan dolayı cerrahi uygulanmış olup, PDAC'nin medyan gelişme yaşı sigara içen grup için 56 ve sigara içmeyenler içmeyen kişilerde ise 71 olarak rapor edilmiştir [134].

İbrahim vd. yaptıkları çalışmada 218 CDKN2A-p16 - Leiden mutasyon taşıyıcısı hastayı 24.1 aydır gözlem altına almışlardır. Bunlardan 18 hastada PDAC oluşumu gözlenmiştir ve bunların da 9'u metastazdan dolayı vefat etmiştir [136]. Vasen vd. yaptıkları çalışmada Hollandalı p16 geninin (p16-Leiden) 2. ekzonunda 19 bp delesyon bulunan ve ailesel atipik multiple melanoma olduğu düşünülen 27 ailede mutasyon analizi yapılmış olup bu ailelerin 19'unda p16-Leiden mutasyon tespit edilmiş ve 86 kişinin de melanomlu olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan da 7 ailenin 15 üyesinde PDAC teşhis edilmiştir [137].

Billadeau vd. yaptıkları çalışmada PDAC ve normal pankreas dokusundan örnekler alınıp kanser profilleri çıkarılarak PDAC örneklerinin %100'ünde CXCR4 'ün ifade edildiğini ve bu ifade seviyesinin normal pankreas dokularından daha yüksek olduğu bildirilmiştir [217]. Bizim çalıştığımız FFPE tümör dokularında daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak CXCR4 geninin ekspresyon seviyesinin arttığını tespit ettik. Bu sonuçlara ek olarak, periferik kan örneklerinde yaptığımız ekspresyon analizinde bu genin ifade düzeyinin tümör dokusunda olduğu gibi artış göstermediğini aksine azaldığını tespit ettik. Bu sonuçlara göre bu genin ifade düzeyindeki artış tümör dokusuna özgü olup, sistemik etkisi olmadığından dolayı periferik kandaki ekspresyon

düzeyi bu durumdan etkilenmemiştir. Yaptığımız çalışmanın temel amacı olan invazif olmayan bir yöntemle pankreas kanserinin tespit edilmesinde kullanılabilecek uygun bir biyobelirteç olma özelliğini sahip olmadığını ifade edebiliriz. Ancak bunu kesin olarak ifade edilebilmesi için daha büyük bir örneklem grubunda benzer sonuçların valide edilmesi gerekmektedir.

Moz vd. yaptıkları çalışmada 8 PDAC, 4 kronik pankreatit, 4 PDAC olmayan 30 sağlıklı ve farklı sayıda tümörden elde edilen dokularda MMP8, MMP9, S100A8 ve S100A9 genlerinde ekspresyon düzeylerine bakılmış olup, PDAC'de bu oranın %66 tespit edilmiştir. Artan doku ve kan MMP9 ekspresyonunun PDAC ile ilişkili diyabetes mellitus ile ilişkili olduğu saptanmıştır [218]. MMP'ler genellikle kanserle ilişkilendirilmiş enzimlerdir. Özellikle agresif ve yüksek metastaz özelliği gösteren kanser hücrelerinin çevre dokulara invazyon yapmasında ekstraselüler matriksin degradasyonunda önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlarda Şekil 4.54.'de görüldüğü gibi hem periferik kan örneklerinde hem tümör dokusunda bu genin ifade düzeyinin artmış olduğunu tespit ettik.

Bu sonuçlara göre, MMP8 geninin pankreas kanserinin agresif ve invazyon yeteneğinin yüksek olmasında önemli bir rol oynadığı iddia edilebilir. Burada bizim için en önemli sonuç bu genin ifade düzeyinin hem tümör dokusunda hem de periferik kan örneklerinde artmış olmasıdır. Yani doku spesifik ekspresyon artışının kanda da valide edilmiş olması MMP8 genini pankreas kanserinin teşhis edilebilmesinde kullanılabilecek moleküler bir biyobelirteç adayı olarak karşımıza çıkarmaktadır.

Song vd. yaptıkları çalışmada 314 hepatocelüler kanseri olan hastayı incelemiş olup bunlardan 238 hastada FOXO3 protein ekspresyon seviyesinin arttığını rapor etmişlerdir [219]. Bizim yaptığımız çalışmada da FOXO3 geninin hem periferik kan grubu hastalarında hem de pankreas tümör dokusunda ekspresyon seviyelerinin arttığı Şekil 4.44'de gösterilmiştir. Bu durumda FOXO3 geninin pankreas kanseri erken teşhisinde kullanılabileceğini ön görmekteyiz.

Serra vd. 2009 yılında yaptıkları çalışmada 69 pankreas endokrin tümörü olan hasta incelenmiş olup bunlardan 29 tanesi erkek 40'ı kadın olup yaş aralığı ise 23-80 arasındadır. Bunlardan 47 hastada CEACAM1 geninin ekspresyon seviyesine artış olduğunu tespit etmişlerdir [220]. Islam vd. yaptıkları çalışmada vinculin mRNA ekspresyon seviyelerini ve vinculin ile pankreas kanseri olan hastaların sağ kalım oranlarını incelemişlerdir. Pankreas kanseri olan hastalarda vinculin seviyesinin arttığını ve vinculin seviyesi arttıkça da hastanın hayatta kalma şansının düşük olduğunu rapor etmişlerdir [221].

Yang vd. yaptıkları çalışmada 220 hepatit B virüsü ile ilişkili olan hepatocelüler karsinoma hastalarının Geo Data setten verileri indirilip biyoinformatik araştırma yapmışlardır ve HSPA9 ve diğer HSP üyelerinin tumor dokularında ifadelerinin arttığını gözlemlemişlerdir [222]. Yaptığımız doktora tez sonuçlarına göre; HSP90B geninin hem periferik hasta kan örneklerinde hem de pankreas tümör dokusunda ekspresyon seviyelerinin yükseldiğini Şekil 4.55'de gösterildiği gibi tespit ettik. Bu anlamda HSP90B geninin pankreas kanserinin teşhisinde kullanılabilecek aday bir gen olduğunu öngörmekteyiz.

Zhou vd. yaptıkları bioinformatik çalışmasında pankreas kanseriyle ilişkili olan 6 tane potansiyel arsenik trioksit hedef genleri araştırmışlardır. Bu genler AKT1, CCND1, CDKN2A, IKBKB, MAPK1 ve MAPK3'tür. Bu genlerin mutasyon bilgileri toplanmışlardır ve sonuçta bu genlerin birden fazla kanser türüyle ilişkili olduğu saptanmıştır [223]. Schneider vd. yaptıkları çalışmada PDAC hastalarında GADD45 alfa'nın mRNA ve protein seviyesinde yüksek miktarda

ifade edildiğini bu durumun da pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonu arttırdığını tespit etmişlerdir [224].

Cheng vd. yaptıkları çalışmada 78 tane PDAC hastada kinaz ailesinden bir serin/treonin protein kinaz olan IKB seviyesine poliklonal antikoru kullanarak immünohistokimyasal olarak incelemişlerdir bunlardan 50 hastada IKK seviyesinin yüksek miktarda arttığını bulmuşlardır [225]. Yaptığımız çalışmada IKBKB geninin hem pankreas tümör dokusunda hem de periferik kan örneklerinde ekspresyon seviyelerinin arttığını Şekil 4.46'da tespit etmiş olduk. Bu da çalışmamızla yapılan biyoinformatik çalışma arasında paralellik olduğunu göstermektedir.

Gebauer vd. yaptıkları çalışmada; PC olan farelerde CEACAM 5 ve 6 ekspresyon seviyesini incelemişlerdir. Her ikisinin de ekspresyonu lenf nodu varlığını göstermişken, yüksek CEACAM6 ekspresyonuna sahip olanlarda ise uzak metastaz oluşturduğunu tespit etmişlerdir [226]. Bizim biyoinformatik analizlerimiz sonucunda belirlemiş olduğumuz hedef gen listesinde bulunan genlerden CEACAM8 geninin ekspresyon düzeyleri hem periferik kan örneklerinde hem de tümör dokusunda belirlenmiştir. Analizler sonucunda CEACAM8 geninin ifade düzeyinin hem periferik kan örneklerinde hem de tümör dokusunda arttığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda bizim sonuçlarımızda tespit ettiğimiz gibi CEACAM5 ve 6 genlerinin artmış ifade düzeyinin kötü prognoz ve uzak metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre pankreatik kanser grubunda bu genin ifade düzeyinin yüksek olması kanserin agresif ve metastatik özellik göstermesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Hao vd. yaptıkları çalışmada; 42 PC hastası, 31 kronik pankreatit olan ve 20 hiç bir hastalığı olmayan sağlıklı bireyleri çalışmaya dahil etmişlerdir ve bu kişilerin EGF ve TGF- α mRNA ve protein ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. EGF seviyesinin PC olan kişiler daha fazla ifade edildiği rapor edilmiştir [227]. Walsh vd. yaptıkları çalışmada 72 pankreas kanseri tümör vakasında EGFR ve HER2 ekspresyonu immünohistokimya olarak incelenmiş olup; pankreas tümörlerinin %44'ünde EGFR ifade edilirken, HER2'nin hastaların sadece %1'inde ifade edildiğini saptamışlardır [228]. Bizim doktora tez çalışmamızın sonuçlarına göre . EGF ve EGFR genlerinin hasta periferik kan örneklerindeki rölatif ekspresyon düzeyleri kontrol grubu örneklerine kıyasla anlamlı bir düzeyde azalma göstermiştir. Oysa kontrol grubunda ise ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.

Yıldırım, yaptığı çalışmada 62 tane mide kanseri hastası olan kişilerin FFPE doku örnekleri alınmış ve immüno histokimyal metod kullanılarak EGFR ekspresyon seviyeleri (-) ve (+) olanlar belirlenmiş EGFR ekspresyonu (+) olan 48 (%77.42) hastanın K-ras geninin kodon 12'ye ait GG, GC ve CC genotip frekansları sırasıyla; GG; %93.62, GC; %6.38 ve CC; %0; olarak bulunmuştur. Ancak Kodon 13'e ait genotip frekansları ise CC; %74.07 CG; %25.93 GG; %0 olarak tespit etmişlerdir [229].

Lee vd. yaptıkları çalışmada; 162 kişiden CPSF4'ün hedef genlerini tanımlamak için kromatin immüno presipitasyon karşılaştırması yapmışlardır. MDM4'ün p53 ve MDM2'nin ekspresyonunu etkilemediğini ve CPSF4'ün MDM4'ün ekspresyonunu regule ettiğini rapor

etmişlerdir. CPSF4-MDM4 düzeyi yüksek olan hastaların meme kanseri olan ve TNBC alt tipi olan hastalarda daha kötü prognozla ilişkili olduğunu ortaya koyulmuştur [230].

González-Tablas vd, yaptıkları çalışmada; Bioblastoma multiforme'de (GBM) hastası olan kişilerden alınan 42 normal beyin dokusunda gen ekspresyonu yapılmış olup, EGFR ve PDGFRA'daki intragenik silmelerin analizi ile birlikte dört gen için interfaz FISH analizine bakmışlardır. Ekspresyon düzeyinde CDK4'ün (%90) yüksek derecede eksprese olduğu, EGFR (%58) ve PDGFRA (%58) daha az ekspresyon değeri verdiğini belirtmişlerdir [231]. Bu da yaptığımız çalışma ile paralellik göstermiştir.

Alatawi vd, yaptıkları çalışmada 466 denekli bir çalışma olan SKCM-US veri kümesinden örnekleri almışlardır ve Uluslararası Kanser Genom Konsorsiyumu veri analiz etmişlerdir. Melanomagenezde MDM4 kat değişiminin ve ifade düzeylerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir [232].

Zhao vd, yaptıkları çalışmada; akciğer kanseri tanı ve tedavisi gören 330 hasta üzerinde EGFR, KRAS, BRAF genlerinin mutasyonu ve PDL1 ekspresyonunu karşılaştırmışlardır. Elde edilen verilere göre EGFR ve KRAS genleri farklı tip akciğer kanserli hastalarda eksprese olduğuna ve Akciğer adenomkarsinomlu hastalarda gen mutasyonu ve pdl1 ekspresyonunun yüksek olduğunu rapor etmişlerdir [233].

Tokunaga vd, yaptıkları çalışmada; EGF ve reseptörü olan c-erbB-2'nin insan mide kanserindeki rolü esas alınarak incelemişlerdir ve EGF'nin immünohistokimyasal olarak mide kanserinin %26'sından etkili olduğu gözlemlenmiştir. Mide kanserinin %15'inde o EGF ve EGF reseptörü için pozitif olduğu sonucuna varmışlardır [234].

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında pankreas kanserinin genom boyu ifade profili biyoinformatik araçlar ile analiz edilecek ve moleküler bir profili çıkarıldı. Bu şekilde pankreas kanserinin moleküler alttipleri konusunda bilgiler elde edildi. Pankreas kanserinin moleküler alt tiplerinin belirlenmesi durumunda kişiye özgü tedavi uygulaması yapılabilecek ve daha etkili tedavilerin geliştirilmesi için ön bilgi sağladı. Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin klinik kullanıma geçme potansiyeli çok yüksektir. Biyobelirteç aday genlerin belirlenmesi ile hastalığın invazif olmayan bir moleküler yöntem ile teşhis edilebilmesi aynı zamanda hastalığın prognozunu değerlendirilmesi mümkün olabilecektir. Günümüzde özellikle sağkalım oranı çok düşük olan pankreas kanserinde (5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık % 5) erken teşhiste kullanılabilecek biyobelirteç araştırmaları oldukça önem arz etmektedir. Bu şekilde hastalığın teşhisinde ve tedavisinde ortaya çıkan çok yüksek maliyetlerin düşürülmesi, daha etkili tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması, hastaların sağkalım oranlarının ve yaşam kalitelerinin yükseltilmesi gibi etkileri olacaktır.

MD Andersen Cancer Center gibi önemli kanser merkezlerinde her bir kanser türü için genetik danışmanlık hizmeti verilmektedir. Genetik danışmanlık içerisinde hastanın sahip olduğu riskler veya durumuna göre bazı moleküler testler tavsiye edilmektedir. Bu testler her bir kanser türü için belirlenmiş gen panellerini içermektedir. Bu şekilde hastalığın erken evrede teşhis edilmesi, risk analizi yapılması, hastalığın moleküler tipinin belirlenmesi ve bu belirlenen moleküler tipe en uygun olan tedavinin verilmesi amaçlanmaktadır.

Pankreas kanserine özgü gen panellerinin (moleküler biyobelirteçler) belirlenmesi ile moleküler tanı ve hastalığın seyrinin değerlendirilmesinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçler ve tanı kitlerinin geliştirilmesi sağlık alanına büyük katkı sağlayacaktır.

Moleküler düzeyde biyobelirteç tespit çalışmaları hem dünyada hem ülkemizde büyük önem arz etmektedir. Yapılacak olan bu çalışmada pankreas kanserinin moleküler düzeyde analiz edilmesi ile aynı zamanda bu patolojinin kişiye özel moleküler alt tiplendirmesi de yapılmış olacaktır.

Belirlenecek olan biyobelirteç aday genler ile hastalığın erken evrede teşhis edilmesi veya hastalığın prognozunu değerlendirilmesi yapılabilecektir. Tespit edilen ve validasyonu yapılan moleküler biyobelirteçlerin yeni tanı kitlerinin geliştirilmesinde kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, klinik kullanıma geçme potansiyeli oldukça yüksek olan bilgiler üretebilecektir. Ve bu anlamda translasyonel bir çalışma özelliğine sahiptir.

Özellikle onkoloji alanında kişiselleştirilmiş terapilerin öneminin farkına varıldığı ve daha etkin mücadele sağladığı düşünüldüğünde bu uygulamanın ne kadar etkili olabileceği daha iyi anlaşılmaktadır.

5.1. ÖNERİLER

Pankreas kanseri, tanısı ve tedavisi oldukça zor olan, yüksek derecede metastatik özellikle olup oldukça kötü prognozlu ve sağkalım oranı düşük bir malignitedir. Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC), pankreas kanserleri içinde en sık görülen tip olup oldukça kötü prognoza sahip bir kanserdir. Heterojen bir malignite olan pankreas kanserinde tümör ve kan dokusunun genom boyu gen ifade profilinin çıkarılması ile hastalığın ortaya çıkış ve ilerleme sürecinde rol oynayan moleküler mekanizmalar belirlenebilir. Belirlenen bu moleküler mekanizmaların, bu hastalık için risk analizi yapılmasında, erken evrede teşhis edilmesinde, prognozunun değerlendirilmesinde ve tümörün moleküler alttiplerinin belirlenmesinde kullanılıp kullanılmayacağı oldukça önem arz etmektedir.

Moleküler düzeyde biyobelirteç tespit çalışmaları hem dünyada hem ülkemizde büyük önem arz etmektedir. Yapılacak olan bu çalışmada pankreas kanserinin moleküler düzeyde analiz edilmesi ile aynı zamanda bu patolojinin kişiye özel moleküler alt tiplendirmesi de yapılmış olacaktır. Bu tez çalışmasında belirlenen biyobelirteç adayı genler ile hastalığın erken evrede teşhis edilmesi veya hastalığın prognozunun değerlendirilmesi yapılabilecektir. Tespit edilen ve validasyonu yapılan moleküler biyobelirteçlerin yeni tanı kitlerinin geliştirilmesinde kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, klinik kullanıma geçme potansiyeli oldukça yüksek olan bilgiler üretebilecektir. Ve bu anlamda translasyonel bir çalışma özelliğine sahiptir.

Özellikle onkoloji alanında kişiselleştirilmiş terapilerin öneminin farkına varıldığı ve daha etkin mücadele sağladığı düşünüldüğünde bu uygulamanın ne kadar etkili olabileceği daha iyi anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Zaimy, M.A., Saffarzadeh, N., Mohammadi, A., Pourghadamyari, H., Izadi, P., Sarli, A., Moghaddam, L.K., Paschepari, S.R., Azizi, H., Torkamandi, S., and Tavakkoly-Bazzaz, J. (2017). New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles, *Cancer Gene Ther*, C Vol. 24 (6), pp: 233-243. doi: 10.1038/cgt.2017.16.
- [2] Little, E.C., Kubic, J.D., Salgia, R., Grippo, P.J., and Lang, D. (2017). Canonical and alternative transcript expression of PAX6 and CXCR4 in pancreatic cancer, *Oncol Lett*, C Vol. 13 (6), pp: 4027-4034. doi: 10.3892/ol.2017.5956.
- [3] Courtney, R., Ngo, D.C., Malik, N., Ververis, K., Tortorella, S.M., and Karagiannis, T.C. (2015). Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K, *Molecular Biology Reports*, C Vol. 42 (4), pp: 841-851. doi: 10.1007/s11033-015-3858-x.
- [4] Knudson, A.G. (2002). Cancer genetics, *Am J Med Genet*, C Vol. 111 (1), pp: 96-102. doi: 10.1002/ajmg.10320.
- [5] Croce, C.M. (2008). Oncogenes and cancer, *New England Journal of Medicine*, C Vol. 358 (5), pp: 502-511.
- [6] Seyfried, T.N. and Shelton, L.M. (2010). Cancer as a metabolic disease, *Nutrition & metabolism*, C Vol. 7 (1), pp: 1-22.
- [7] Saniye, A., Ertürk, C., Aylin, U., Akyüz, S., Doğan, F., And Yücel, B. Kanser Hücre Metabolizması, *Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı Dergisi*, C Vol. 4 (3), Pp: 66-75.
- [8] Çetiner, A.U., Bilgehan Yıldırım, B.Ç., Kübra Yaşar, S.A., Aleyna Gökçe, Y.E.A., and Koçyiğit, N. Kanser Hücrelerinin Genetik Yapısı ve Mekanizmaları, Vol.
- [9] Walker, E.H. (1992). Cancer as a mechanism of hypermutation, *Acta biotheoretica*, C Vol. 40 (1), pp: 31-40.
- [10] Türker, F. and Kayaalp, S. (2002). Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Ankara: Feryal Matbaacılık, C Vol. 380-415.
- [11] Eldridge, L. (2017). Cancer cells vs. normal cells: How are they different, *Verywell Health*, C Vol.
- [12] Roy, P.S. and Saikia, B.J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis, *Indian J Cancer*, C Vol. 53 (3), pp: 441-442. doi: 10.4103/0019-509x.200658.
- [13] Hajdu, S.I. (2011). A note from history: landmarks in history of cancer, part 1, *Cancer*, C Vol. 117 (5), pp: 1097-1102.
- [14] Alim, N. (2017). Türkiye’de ve dünyada kanser epidemiyolojisi, *TC, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü*, C Vol.
- [15] Hajdu, S.I. (2004). Greco-Roman thought about cancer, *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, C Vol. 100 (10), pp: 2048-2051.
- [16] Wang, J.J., Lei, K.F., and Han, F. (2018). Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, C Vol. 22 (12), pp: 3855-3864. doi: 10.26355/eurrev_201806_15270.
- [17] Vähäkangas, K. (2004). Ethical aspects of molecular epidemiology of cancer, *Carcinogenesis*, C Vol. 25 (4), pp: 465-71. doi: 10.1093/carcin/bgh043.
- [18] WHO: International Agency for Research on Cancer. Estimated Age-Standardized Incidence and Mortality Rates <https://gco.iarc.fr/>, Access: 8 may 2022
- [19] WHO: International Agency for Research on Cancer. Cancers Attributable to Alcohol. <https://gco.iarc.fr/causes/alcohol/tools-bars>, Access: 16 May 2022
- [20] WHO: International Agency for Research on Cancer. The Cancers Attributable to UV Radiation <https://gco.iarc.fr/causes/uv/home>, Access: 15 May 2022

- [21] WHO: International Agency for Research on Cancer. The Cancers Attributable to Infections. <https://gco.iarc.fr/causes/infections/home>, Access: 10 May 2022
- [22] WHO: International Agency For Reserch on Cancer. Cancers Attributable to Obesity. <https://gco.iarc.fr/causes/obesity/tools-pie>, Access: 6 Nisan 2022
- [23] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., and Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, *Int J Cancer*, C Vol. 136 (5), pp: E359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.
- [24] Rahib, L., Wehner, M.R., Matrisian, L.M., and Nead, K.T. (2021). Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040, *JAMA Netw Open*, C Vol. 4 (4), pp: e214708. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.4708.
- [25] Weiss, S.W., Langloss, J.M., and Enzinger, F.M. (1983). Value of S-100 protein in the diagnosis of soft tissue tumors with particular reference to benign and malignant Schwann cell tumors, *Lab Invest*, C Vol. 49 (3), pp: 299-308.
- [26] Haltaş, A. And Alkan, A. (2016). Medline Veritabanı Üzerinde Bulunan Tıbbi Dökümanların Kanser Türlerine Göre Otomatik Sınıflandırılması, *Bilişim Teknolojileri Dergisi*, C Vol. 9 (2), Pp: 181.
- [27] Schafer, K.A. (1998). The cell cycle: a review, *Vet Pathol*, C Vol. 35 (6), pp: 461-78. doi: 10.1177/030098589803500601.
- [28] Gao, S.-w. and Liu, F. (2019). Novel insights into cell cycle regulation of cell fate determination, *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, C Vol. 20 (6), pp: 467-475.
- [29] Özbayer, C. and Değirmenci, İ. (2011). Sirkadiyen saat, hücre döngüsü ve kanser, *Dicle Tıp Dergisi*, C Vol. 38 (4), pp: 514-518.
- [30] Tokunaga, Y., Otsuyama, K.I., and Hayashida, N. (2022). Cell Cycle Regulation by Heat Shock Transcription Factors, *Cells*, C Vol. 11 (2), pp. doi: 10.3390/cells11020203.
- [31] Arellano, M. and Moreno, S. (1997). Regulation of CDK/cyclin complexes during the cell cycle, *Int J Biochem Cell Biol*, C Vol. 29 (4), pp: 559-73. doi: 10.1016/s1357-2725(96)00178-1.
- [32] Orford, K.W. and Scadden, D.T. (2008). Deconstructing stem cell self-renewal: genetic insights into cell-cycle regulation, *Nat Rev Genet*, C Vol. 9 (2), pp: 115-28. doi: 10.1038/nrg2269.
- [33] Kafes, N. And Demirhan, İ. Pankreas Kanseri Oluşumu, Tani Yöntemleri Ve Tedavisi, Vol.
- [34] Kar, S. (2016). Unraveling cell-cycle dynamics in cancer, *Cell systems*, C Vol. 2 (1), pp: 8-10.
- [35] YOKUŞ, B. and ÇAKIR, D.Ü. (2012). Kanser biyokimyası, *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, C Vol. (1), pp: 7-18.
- [36] Aktuğ, H. (2014). Apoptozis ve hücre döngüsü, *Ege Tıp Dergisi*, C Vol. 53 (1), pp: 60-64.
- [37] Canpolat, F. (2016). Hücre Siklüsü ve Apoptoz, *Güncel Dermatoloji Dergisi*, C Vol. 1 (1), pp: 11-17.
- [38] Vermeulen, K., Berneman, Z.N., and Van Bockstaele, D.R. (2003). Cell cycle and apoptosis, *Cell proliferation*, C Vol. 36 (3), pp: 165-175.
- [39] King, R.W., Deshaies, R.J., Peters, J.M., and Kirschner, M.W. (1996). How proteolysis drives the cell cycle, *Science*, C Vol. 274 (5293), pp: 1652-9. doi: 10.1126/science.274.5293.1652.
- [40] Fang, G., Yu, H., and Kirschner, M.W. (1999). Control of mitotic transitions by the anaphase-promoting complex, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, C Vol. 354 (1389), pp: 1583-90. doi: 10.1098/rstb.1999.0502.
- [41] Pietenpol, J.A. and Stewart, Z.A. (2002). Cell cycle checkpoint signaling: cell cycle arrest versus apoptosis, *Toxicology*, C Vol. 181-182 475-81. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00460-2.

- [42] Karim-Kos, H.E., de Vries, E., Soerjomataram, I., Lemmens, V., Siesling, S., and Coebergh, J.W. (2008). Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s, *Eur J Cancer*, C Vol. 44 (10), pp: 1345-89. doi: 10.1016/j.ejca.2007.12.015.
- [43] La Vecchia, C., Bosetti, C., Lucchini, F., Bertuccio, P., Negri, E., Boyle, P., and Levi, F. (2010). Cancer mortality in Europe, 2000–2004, and an overview of trends since 1975, *Annals of Oncology*, C Vol. 21 (6), pp: 1323-1360.
- [44] Dalton, S. (2015). Linking the Cell Cycle to Cell Fate Decisions, *Trends Cell Biol*, C Vol. 25 (10), pp: 592-600. doi: 10.1016/j.tcb.2015.07.007.
- [45] Gözüaık, D., Karakaş Schüller, H.E., Akko, Y., and Özata, B. (2018). Otofaji ve kanser (Autophagy and cancer), Vol.
- [46] Klionsky, D.J. (2012). Look people, "Atg" is an abbreviation for "autophagy-related." That's it, *Autophagy*, C Vol. 8 (9), pp: 1281-2. doi: 10.4161/auto.21812.
- [47] Malvezzi, M., Carioli, G., Bertuccio, P., Rosso, T., Boffetta, P., Levi, F., La Vecchia, C., and Negri, E. (2016). European cancer mortality predictions for the year 2016 with focus on leukaemias, *Ann Oncol*, C Vol. 27 (4), pp: 725-31. doi: 10.1093/annonc/mdw022.
- [48] Li, Y.J., Lei, Y.H., Yao, N., Wang, C.R., Hu, N., Ye, W.C., Zhang, D.M., and Chen, Z.S. (2017). Autophagy and multidrug resistance in cancer, *Chin J Cancer*, C Vol. 36 (1), pp: 52. doi: 10.1186/s40880-017-0219-2.
- [49] White, E., Mehnert, J.M., and Chan, C.S. (2015). Autophagy, Metabolism, and Cancer, *Clin Cancer Res*, C Vol. 21 (22), pp: 5037-46. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-15-0490.
- [50] Grønbaek, K., Hother, C., and Jones, P.A. (2007). Epigenetic changes in cancer, *Apmis*, C Vol. 115 (10), pp: 1039-1059.
- [51] Watari, A. (2012). Nature of cancer explored from the perspective of the functional evolution of proto-oncogenes, *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, C Vol. 132 (10), pp: 1165-1170.
- [52] AŞ-Kurucu, T.C.-L.B. Tümör Süpresör Genler, Onkogenler ve Kanser, Vol.
- [53] Adamo, P. and Ladomery, M. (2016). The oncogene ERG: a key factor in prostate cancer, *Oncogene*, C Vol. 35 (4), pp: 403-414.
- [54] Lee, E.Y. and Muller, W.J. (2010). Oncogenes and tumor suppressor genes, *Cold Spring Harb Perspect Biol*, C Vol. 2 (10), pp: a003236.
- [55] Pylayeva-Gupta, Y., Grabocka, E., and Bar-Sagi, D. (2011). RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web, *Nat Rev Cancer*, C Vol. 11 (11), pp: 761-74. doi: 10.1038/nrc3106.
- [56] Partensky, C. (2013). Toward a better understanding of pancreatic ductal adenocarcinoma: glimmers of hope?, *Pancreas*, C Vol. 42 (5), pp: 729-39. doi: 10.1097/MPA.0b013e318288107a.
- [57] Jonckheere, N., Vasseur, R., and Van Seuning, I. (2017). The cornerstone K-RAS mutation in pancreatic adenocarcinoma: From cell signaling network, target genes, biological processes to therapeutic targeting, *Crit Rev Oncol Hematol*, C Vol. 111 7-19. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.01.002.
- [58] Tsai, F.D., Lopes, M.S., Zhou, M., Ponce, O., Fiordalisi, J.J., Gierut, J.J., Cox, A.D., Haigis, K.M., and Philips, M.R. (2015). K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, C Vol. 112 (3), pp: 779-784.
- [59] Bailey, P., Chang, D.K., Nones, K., Johns, A.L., Patch, A.-M., Gingras, M.-C., Miller, D.K., Christ, A.N., Bruxner, T.J., and Quinn, M.C. (2016). Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer, *Nature*, C Vol. 531 (7592), pp: 47-52.

- [60] Bazzichetto, C., Conciatori, F., Luchini, C., Simionato, F., Santoro, R., Vaccaro, V., Corbo, V., Falcone, I., Ferretti, G., Cognetti, F., Melisi, D., Scarpa, A., Ciuffreda, L., and Milella, M. (2020). From Genetic Alterations to Tumor Microenvironment: The Ariadne's String in Pancreatic Cancer, *Cells*, C Vol. 9 (2), pp. doi: 10.3390/cells9020309.
- [61] Abraham, A.G. and O'Neill, E. (2014). PI3K/Akt-mediated regulation of p53 in cancer, *Biochem Soc Trans*, C Vol. 42 (4), pp: 798-803. doi: 10.1042/bst20140070.
- [62] Chen, Z., Guo, Y., Zhao, D., Zou, Q., Yu, F., Zhang, L., and Xu, L. (2021). Comprehensive Analysis Revealed that CDKN2A is a Biomarker for Immune Infiltrates in Multiple Cancers, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, C Vol. 9 808208-808208.
- [63] Bunz, F., Dutriax, A., Lengauer, C., Waldman, T., Zhou, S., Brown, J.P., Sedivy, J.M., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage, *Science*, C Vol. 282 (5393), pp: 1497-501. doi: 10.1126/science.282.5393.1497.
- [64] Zhou, B.B. and Elledge, S.J. (2000). The DNA damage response: putting checkpoints in perspective, *Nature*, C Vol. 408 (6811), pp: 433-9. doi: 10.1038/35044005.
- [65] el-Deiry, W.S., Tokino, T., Velculescu, V.E., Levy, D.B., Parsons, R., Trent, J.M., Lin, D., Mercer, W.E., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1993). WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression, *Cell*, C Vol. 75 (4), pp: 817-25. doi: 10.1016/0092-8674(93)90500-p.
- [66] Courtney, R., Ngo, D.C., Malik, N., Ververis, K., Tortorella, S.M., and Karagiannis, T.C. (2015). Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K, *Mol Biol Rep*, C Vol. 42 (4), pp: 841-51. doi: 10.1007/s11033-015-3858-x.
- [67] Maitra, A., Adsay, N.V., Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., De Marzo, A., Cameron, J.L., Yeo, C.J., and Hruban, R.H. (2003). Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray, *Mod Pathol*, C Vol. 16 (9), pp: 902-12. doi: 10.1097/01.mp.0000086072.56290.fb.
- [68] McCarthy, A.J. and Chetty, R. (2018). Smad4/DPC4, *J Clin Pathol*, C Vol. 71 (8), pp: 661-664. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205095.
- [69] Dumon, K.R., Ishii, H., Vecchione, A., Trapasso, F., Baldassarre, G., Chakrani, F., Druck, T., Rosato, E.F., Williams, N.N., Baffa, R., During, M.J., Huebner, K., and Croce, C.M. (2001). Fragile histidine triad expression delays tumor development and induces apoptosis in human pancreatic cancer, *Cancer Res*, C Vol. 61 (12), pp: 4827-36.
- [70] Kerr, J.F. (2002). History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept, *Toxicology*, C Vol. 181-182 471-4. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00457-2.
- [71] Lockshin, R.A. and Zakeri, Z. (2004). Apoptosis, autophagy, and more, *Int J Biochem Cell Biol*, C Vol. 36 (12), pp: 2405-19. doi: 10.1016/j.biocel.2004.04.011.
- [72] King, K.L. and Cidlowski, J.A. (1998). Cell cycle regulation and apoptosis, *Annu Rev Physiol*, C Vol. 60 601-17. doi: 10.1146/annurev.physiol.60.1.601.
- [73] Xu, X., Lai, Y., and Hua, Z.C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials, *Biosci Rep*, C Vol. 39 (1), pp. doi: 10.1042/bsr20180992.
- [74] D'Arcy, M.S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy, *Cell Biol Int*, C Vol. 43 (6), pp: 582-592. doi: 10.1002/cbin.11137.
- [75] Ghobrial, I.M., Witzig, T.E., and Adjei, A.A. (2005). Targeting apoptosis pathways in cancer therapy, *CA: a cancer journal for clinicians*, C Vol. 55 (3), pp: 178-194.
- [76] Ashkenazi, A. (2008). Directing cancer cells to self-destruct with pro-apoptotic receptor agonists, *Nature reviews Drug discovery*, C Vol. 7 (12), pp: 1001-1012.
- [77] Zapata, J.M., Pawlowski, K., Haas, E., Ware, C.F., Godzik, A., and Reed, J.C. (2001). A diverse family of proteins containing tumor necrosis factor receptor-associated factor domains, *Journal of Biological Chemistry*, C Vol. 276 (26), pp: 24242-24252.

- [78] Wajant, H. (2002). The Fas signaling pathway: more than a paradigm, *Science*, C Vol. 296 (5573), pp: 1635-1636.
- [79] Çolakoğulları, S., (2016). *Buğday çimi (Triticum aestivum L) ekstraktının MCF-7 hücre serisinde apoptotik ve intiproliferatif etkilerin incelenmesi*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- [80] Creagh, E.M. (2014). Caspase crosstalk: integration of apoptotic and innate immune signalling pathways, *Trends in immunology*, C Vol. 35 (12), pp: 631-640.
- [81] Majno, G. and Joris, I. (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death, *Am J Pathol*, C Vol. 146 (1), pp: 3-15.
- [82] Adair, T.H. and Montani, J.P., *Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease*, in *Angiogenesis2010*, Morgan & Claypool Life Sciences.
- [83] Konukoğlu, D. And Turhan, M. (2005). Anjiyogenezin Temel Moleküler Mekanizmaları Ve Tümör Anjiyogenezi, *Cerrahpaşa tıp dergisi*, C Vol. 36 (1), pp: 42-48.
- [84] Ibrahim, M. and Richardson, M.K. (2017). Beyond organoids: In vitro vasculogenesis and angiogenesis using cells from mammals and zebrafish, *Reprod Toxicol*, C Vol. 73 292-311. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.07.002.
- [85] Saharinen, P., Eklund, L., Pulkki, K., Bono, P., and Alitalo, K. (2011). VEGF and angiopoietin signaling in tumor angiogenesis and metastasis, *Trends Mol Med*, C Vol. 17 (7), pp: 347-62. doi: 10.1016/j.molmed.2011.01.015.
- [86] Potente, M., Gerhardt, H., and Carmeliet, P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis, *Cell*, C Vol. 146 (6), pp: 873-887.
- [87] Li, L., Liu, W.L., Su, L., Lu, Z.C., and He, X.S. (2020). The Role of Autophagy in Cancer Radiotherapy, *Curr Mol Pharmacol*, C Vol. 13 (1), pp: 31-40. doi: 10.2174/1874467212666190809154518.
- [88] Parzych, K.R. and Klionsky, D.J. (2014). An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation, *Antioxid Redox Signal*, C Vol. 20 (3), pp: 460-73. doi: 10.1089/ars.2013.5371.
- [89] Dworniczak, B. and Mirault, M.E. (1987). Structure and expression of a human gene coding for a 71 kd heat shock 'cognate' protein, *Nucleic Acids Res*, C Vol. 15 (13), pp: 5181-97. doi: 10.1093/nar/15.13.5181.
- [90] Tekirdag, K. and Cuervo, A.M. (2018). Chaperone-mediated autophagy and endosomal microautophagy: Joint by a chaperone, *J Biol Chem*, C Vol. 293 (15), pp: 5414-5424. doi: 10.1074/jbc.R117.818237.
- [91] Mijaljica, D., Prescott, M., and Devenish, R.J. (2011). Microautophagy in mammalian cells: revisiting a 40-year-old conundrum, *Autophagy*, C Vol. 7 (7), pp: 673-82. doi: 10.4161/auto.7.7.14733.
- [92] Oku, M. and Sakai, Y. (2018). Three Distinct Types of Microautophagy Based on Membrane Dynamics and Molecular Machineries, *Bioessays*, C Vol. 40 (6), pp: e1800008. doi: 10.1002/bies.201800008.
- [93] Yang, Q., Wang, R., and Zhu, L. (2019). Chaperone-Mediated Autophagy, *Adv Exp Med Biol*, C Vol. 1206 435-452. doi: 10.1007/978-981-15-0602-4_20.
- [94] Rios, J., Sequeida, A., Albornoz, A., and Budini, M. (2020). Chaperone Mediated Autophagy Substrates and Components in Cancer, *Front Oncol*, C Vol. 10 614677. doi: 10.3389/fonc.2020.614677.
- [95] Sarkar, S., Horn, G., Moulton, K., Oza, A., Byler, S., Kokolus, S., and Longacre, M. (2013). Cancer development, progression, and therapy: an epigenetic overview, *Int J Mol Sci*, C Vol. 14 (10), pp: 21087-113. doi: 10.3390/ijms141021087.

- [96] Tysnes, B.B. and Bjerkvig, R. (2007). Cancer initiation and progression: involvement of stem cells and the microenvironment, *Biochim Biophys Acta*, C Vol. 1775 (2), pp: 283-97. doi: 10.1016/j.bbcan.2007.01.001.
- [97] Çınar, İ., Çetinkaya, S., And Dursun, H.G. (2016). Kanserde Mirna'ların Epigenetik Değişiklikleri Ve Terapötik Uygulamaları, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, C Vol. 9 (1), Pp: 72-78.
- [98] Egger, G., Liang, G., Aparicio, A., and Jones, P.A. (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy, *Nature*, C Vol. 429 (6990), pp: 457-63. doi: 10.1038/nature02625.
- [99] Omura, N. and Goggins, M. (2009). Epigenetics and epigenetic alterations in pancreatic cancer, *International journal of clinical and experimental pathology*, C Vol. 2 (4), pp: 310.
- [100] Su, Z., Xia, J., and Zhao, Z. (2011). Functional complementation between transcriptional methylation regulation and post-transcriptional microRNA regulation in the human genome, *BMC Genomics*, C Vol. 12 Suppl 5 (Suppl 5), pp: S15. doi: 10.1186/1471-2164-12-s5-s15.
- [101] Lippman, Z., Gendrel, A.V., Black, M., Vaughn, M.W., Dedhia, N., McCombie, W.R., Lavine, K., Mittal, V., May, B., Kasschau, K.D., Carrington, J.C., Doerge, R.W., Colot, V., and Martienssen, R. (2004). Role of transposable elements in heterochromatin and epigenetic control, *Nature*, C Vol. 430 (6998), pp: 471-6. doi: 10.1038/nature02651.
- [102] Robertson, K.D. (2005). DNA methylation and human disease, *Nat Rev Genet*, C Vol. 6 (8), pp: 597-610. doi: 10.1038/nrg1655.
- [103] Lu, H., Liu, X., Deng, Y., and Qing, H. (2013). DNA methylation, a hand behind neurodegenerative diseases, *Front Aging Neurosci*, C Vol. 5 85. doi: 10.3389/fnagi.2013.00085.
- [104] Zhao, Z. and Han, L. (2009). CpG islands: algorithms and applications in methylation studies, *Biochem Biophys Res Commun*, C Vol. 382 (4), pp: 643-5. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.03.076.
- [105] Haines, T.R., Rodenhiser, D.I., and Ainsworth, P.J. (2001). Allele-specific non-CpG methylation of the Nf1 gene during early mouse development, *Dev Biol*, C Vol. 240 (2), pp: 585-98. doi: 10.1006/dbio.2001.0504.
- [106] Edwards, J.R., O'Donnell, A.H., Rollins, R.A., Peckham, H.E., Lee, C., Milekic, M.H., Chanrion, B., Fu, Y., Su, T., Hibshoosh, H., Gingrich, J.A., Haghighi, F., Nutter, R., and Bestor, T.H. (2010). Chromatin and sequence features that define the fine and gross structure of genomic methylation patterns, *Genome Res*, C Vol. 20 (7), pp: 972-80. doi: 10.1101/gr.101535.109.
- [107] Lister, R., Mukamel, E.A., Nery, J.R., Urich, M., Puddifoot, C.A., Johnson, N.D., Lucero, J., Huang, Y., Dwork, A.J., Schultz, M.D., Yu, M., Tonti-Filippini, J., Heyn, H., Hu, S., Wu, J.C., Rao, A., Esteller, M., He, C., Haghighi, F.G., Sejnowski, T.J., Behrens, M.M., and Ecker, J.R. (2013). Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development, *Science*, C Vol. 341 (6146), pp: 1237905. doi: 10.1126/science.1237905.
- [108] Esteller, M. (2011). Epigenetic changes in cancer, *F1000 Biol Rep*, C Vol. 3.
- [109] Fraga, M.F., Ballestar, E., Villar-Garea, A., Boix-Chornet, M., Espada, J., Schotta, G., Bonaldi, T., Haydon, C., Ropero, S., and Petrie, K. (2005). Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer, *Nat Genet*, C Vol. 37 (4), pp: 391-400.
- [110] Pour, P.M., Pandey, K.K., and Batra, S.K. (2003). What is the origin of pancreatic adenocarcinoma?, *Mol Cancer*, C Vol. 2 13. doi: 10.1186/1476-4598-2-13.
- [111] Kopacova, M., Tacheci, I., Rejchrt, S., and Bures, J. (2009). Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach, *World J Gastroenterol*, C Vol. 15 (43), pp: 5397-408. doi: 10.3748/wjg.15.5397.
- [112] Nelson, W.J. (2009). Remodeling epithelial cell organization: transitions between front-rear and apical-basal polarity, *Cold Spring Harb Perspect Biol*, C Vol. 1 (1), pp: a000513. doi: 10.1101/cshperspect.a000513.

- [113] Longnecker, D.S. (2014). Anatomy and Histology of the Pancreas (version 1.0), *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base*, C Vol.
- [114] Hruban, R.H., Adsay, N.V., Albores-Saavedra, J., Compton, C., Garrett, E.S., Goodman, S.N., Kern, S.E., Klimstra, D.S., Klöppel, G., and Longnecker, D.S. (2001). Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions, *The American journal of surgical pathology*, C Vol. 25 (5), pp: 579-586.
- [115] Ryan, D.P., Hong, T.S., and Bardeesy, N. (2014). Pancreatic adenocarcinoma, *New England Journal of Medicine*, C Vol. 371 (11), pp: 1039-1049.
- [116] Şenol, D., Çevirgen, F., Karaca, L., Canbolat, M., And Özbağ, D. Gull Pancreas: A Case Report, *Medical Records*, C Vol. 1 (1), Pp: 34-36.
- [117] Çağlar, V., Gönül, Y., and Songur, A. (2014). Pankreas Anatomisi ve Varyasyonları, *Uluslararası Klinik Araştırmalar Dergisi*, C Vol. 2 (2), pp: 77-82.
- [118] Islam, M.S., (2010). *The islets of Langerhans*, Springer,
- [119] Dolenšek, J., Rupnik, M.S., and Stožer, A. (2015). Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas, *Islets*, C Vol. 7 (1), pp: e1024405. doi: 10.1080/19382014.2015.1024405.
- [120] Fowler, J.L., Lee, S.S., Wesner, Z.C., Olehnik, S.K., Kron, S.J., and Hara, M. (2018). Three-Dimensional Analysis of the Human Pancreas, *Endocrinology*, C Vol. 159 (3), pp: 1393-1400. doi: 10.1210/en.2017-03076.
- [121] Ovalle, W.K., Netter F.H., Chovan J., Müftüoğlu S.K. and Figen A .P., *Netter temel histoloji*, Karaciğer, safra kesesi ve ekzokrin pankreasEditor^Editors. 2009, Günes Tip Kitabevleri: Ankara. p. 328-332.
- [122] Kesler, O. And Maraş, G.C.K.K. (2008). Akut Pankreatit Tedavisinde Erken Kolesistektominin Yeri1, *Www. Sstbdergisi. Com*, C Vol. 23.
- [123] Ofilas, Ü., (2020). *Akut pankreatitin ekg de t (P-E) süresine etkisi*, Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı
- [124] Pourshams, A., Sepanlou, S.G., Ikuta, K.S., Bisignano, C., Safiri, S., Roshandel, G., Sharif, M., Khatibian, M., Fitzmaurice, C., and Nixon, M.R. (2019). The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017, *The lancet Gastroenterology & hepatology*, C Vol. 4 (12), pp: 934-947.
- [125] Wong, M., Jiang, J.Y., Liang, M., Fang, Y., Yeung, M.S., and Sung, J.J. (2017). Global temporal patterns of pancreatic cancer and association with socioeconomic development, *Scientific reports*, C Vol. 7 (1), pp: 1-9.
- [126] Hidalgo, M., Cascinu, S., Kleeff, J., Labianca, R., Löhr, J.M., Neoptolemos, J., Real, F.X., Van Laethem, J.L., and Heinemann, V. (2015). Addressing the challenges of pancreatic cancer: future directions for improving outcomes, *Pancreatology*, C Vol. 15 (1), pp: 8-18. doi: 10.1016/j.pan.2014.10.001.
- [127] Kamisawa, T., Wood, L.D., Itoi, T., and Takaori, K. (2016). Pancreatic cancer, *The Lancet*, C Vol. 388 (10039), pp: 73-85.
- [128] Whatcott, C.J., Diep, C.H., Jiang, P., Watanabe, A., LoBello, J., Sima, C., Hostetter, G., Shepard, H.M., Von Hoff, D.D., and Han, H. (2015). Desmoplasia in Primary Tumors and Metastatic Lesions of Pancreatic Cancer, *Clin Cancer Res*, C Vol. 21 (15), pp: 3561-8. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-14-1051.
- [129] Bruenderman, E. and Martin, R.C., 2nd. (2015). A cost analysis of a pancreatic cancer screening protocol in high-risk populations, *Am J Surg*, C Vol. 210 (3), pp: 409-16. doi: 10.1016/j.amjsurg.2014.11.017.

- [130] Beggs, A., Latchford, A.R., Vasen, H.F., Moslein, G., Alonso, A., Aretz, S., Bertario, L., Blanco, I., Bülow, S., and Burn, J. (2010). Peutz–Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management, *Gut*, C Vol. 59 (7), pp: 975-986.
- [131] Petersen, G.M. (2016). Familial pancreatic cancer. in *Seminars in oncology*. Elsevier.
- [132] Macchini, M., Centonze, F., Peretti, U., Orsi, G., Militello, A.M., Valente, M.M., Cascinu, S., and Reni, M. (2022). Epidemiology and geographic distribution of BRCA1-2 and DNA Damage response genes pathogenic variants in pancreatic ductal adenocarcinoma patients, *Cancer Treatment Reviews*, C Vol. 104 102357. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2022.102357>.
- [133] Tan, M., Schaffalitzky de Muckadell, O.B., and Jørgensen, M.T. (2020). [Hereditary pancreatitis], *Ugeskr Laeger*, C Vol. 182 (7), pp.
- [134] Howes, N., Lerch, M.M., Greenhalf, W., Stocken, D.D., Ellis, I., Simon, P., Truninger, K., Ammann, R., Cavallini, G., and Charnley, R.M. (2004). Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, C Vol. 2 (3), pp: 252-261.
- [135] Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P., Whitcomb, D.C., Lerch, M.M., and DiMagno, E.P. (2001). Cigarette smoking as a risk factor for pancreatic cancer in patients with hereditary pancreatitis, *Jama*, C Vol. 286 (2), pp: 169-170.
- [136] Ibrahim, I., Sibinga Mulder, B.G., Bonsing, B., Morreau, H., Farina Sarasqueta, A., Inderson, A., Luelmo, S., Feshtali, S., Potjer, T.P., de Vos Tot Nederveen Cappel, W., Wasser, M., and Vasen, H.F.A. (2018). Risk of multiple pancreatic cancers in CDKN2A-p16-Leiden mutation carriers, *Eur J Hum Genet*, C Vol. 26 (8), pp: 1227-1229. doi: 10.1038/s41431-018-0170-y.
- [137] Vasen, H., Gruis, N., Frants, R., van Der Velden, P., Hille, E., and Bergman, W. (2000). Risk of developing pancreatic cancer in families with familial atypical multiple mole melanoma associated with a specific 19 deletion of p16 (p16-Leiden), *International journal of cancer*, C Vol. 87 (6), pp: 809-811.
- [138] Collisson, E.A., Bailey, P., Chang, D.K., and Biankin, A.V. (2019). Molecular subtypes of pancreatic cancer, *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, C Vol. 16 (4), pp: 207-220. doi: 10.1038/s41575-019-0109-y.
- [139] Collisson, E.A., Sadanandam, A., Olson, P., Gibb, W.J., Truitt, M., Gu, S., Cooc, J., Weinkle, J., Kim, G.E., and Jakkula, L. (2011). Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy, *Nature medicine*, C Vol. 17 (4), pp: 500-503.
- [140] Moffitt, R.A., Marayati, R., Flate, E.L., Volmar, K.E., Loeza, S.G.H., Hoadley, K.A., Rashid, N.U., Williams, L.A., Eaton, S.C., and Chung, A.H. (2015). Virtual microdissection identifies distinct tumor-and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma, *Nat Genet*, C Vol. 47 (10), pp: 1168-1178.
- [141] Cokkinides, V., Albano, J., Samuels, A., Ward, M., and Thum, J. (2005). American cancer society: Cancer facts and figures, *Atlanta: American Cancer Society*, C Vol.
- [142] McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R.C., Jones, C., Coleman, H.G., and McCain, R.S. (2018). Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes, *World J Gastroenterol*, C Vol. 24 (43), pp: 4846-4861. doi: 10.3748/wjg.v24.i43.4846.
- [143] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D., Forman, D., and Bray, F., *GLOBOCAN 2012 v1. 0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. 2013; Lyon, France: International Agency for Research on Cancer*, in globocan.iarc.fr/Default.aspx2014.
- [144] Masoudi, S., Sanat, Z.M., Saleh, A.M., Nozari, N., Ghamar zad, N., and Pourshams, A. (2017). Menstrual and reproductive factors and risk of pancreatic cancer in women, *Middle East Journal of Digestive Diseases*, C Vol. 9 (3), pp: 146.

- [145] Howlader, N., Noone, A., Krapcho, M., Miller, D., Bishop, K., Altekruse, S., Kosary, C., Yu, M., Ruhl, J., and Tatalovich, Z., *SEER cancer statistics review, 1975-2013, national cancer institute. bethesda, MD*, 2016.
- [146] Bosetti, C., Bertuccio, P., Negri, E., La Vecchia, C., Zeegers, M.P., and Boffetta, P. (2012). Pancreatic cancer: overview of descriptive epidemiology, *Mol Carcinog*, C Vol. 51 (1), pp: 3-13. doi: 10.1002/mc.20785.
- [147] Parkin, D.M., Boyd, L., and Walker, L.C. (2011). 16. The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010, *Br J Cancer*, C Vol. 105 Suppl 2 (Suppl 2), pp: S77-81. doi: 10.1038/bjc.2011.489.
- [148] Hidalgo, M. (2010). Pancreatic cancer, *N Engl J Med*, C Vol. 362 (17), pp: 1605-17. doi: 10.1056/NEJMra0901557.
- [149] Ezzati, M., Henley, S.J., Lopez, A.D., and Thun, M.J. (2005). Role of smoking in global and regional cancer epidemiology: current patterns and data needs, *International journal of cancer*, C Vol. 116 (6), pp: 963-971.
- [150] Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., and Pisani, P. (2005). Global cancer statistics, 2002, *CA: a cancer journal for clinicians*, C Vol. 55 (2), pp: 74-108.
- [151] Angsuwatcharakon, P., Rerknimitr, R., Kongkam, P., Ridditid, W., Ponauthai, Y., Srisuttee, R., Kitkumthorn, N., and Mutirangura, A. (2016). Identification of Pancreatic Cancer in Biliary Obstruction Patients by FRY Site-specific Methylation, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, C Vol. 17 (9), pp: 4487-4490.
- [152] Zhang, J., Zhao, Z., and Berkel, H.J. (2005). Animal fat consumption and pancreatic cancer incidence: evidence of interaction with cigarette smoking, *Ann Epidemiol*, C Vol. 15 (7), pp: 500-8. doi: 10.1016/j.annepidem.2004.11.005.
- [153] Anderson, K.E., Mongin, S.J., Sinha, R., Stolzenberg-Solomon, R., Gross, M.D., Ziegler, R.G., Mabie, J.E., Risch, A., Kazin, S.S., and Church, T.R. (2012). Pancreatic cancer risk: associations with meat-derived carcinogen intake in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial (PLCO) cohort, *Mol Carcinog*, C Vol. 51 (1), pp: 128-37. doi: 10.1002/mc.20794.
- [154] Levi, F., Lucchini, F., Negri, E., and La Vecchia, C. (2003). Pancreatic cancer mortality in Europe: the leveling of an epidemic, *Pancreas*, C Vol. 27 (2), pp: 139-42. doi: 10.1097/00006676-200308000-00006.
- [155] Hecht, S.S. (2006). Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms, *Langenbeck's Archives of Surgery*, C Vol. 391 (6), pp: 603-613.
- [156] Rastogi, T., Devesa, S., Mangtani, P., Mathew, A., Cooper, N., Kao, R., and Sinha, R. (2008). Cancer incidence rates among South Asians in four geographic regions: India, Singapore, UK and US, *Int J Epidemiol*, C Vol. 37 (1), pp: 147-60. doi: 10.1093/ije/dym219.
- [157] 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., Peeters, P.H., Lund, E., Gram, I.T., Rodríguez, L., Agudo, A., Larrañaga, N., Sánchez, M.J., Navarro, C., Barricarte, A., Manjer, J., Lindkvist, B., Sund, M., Ye, W., Bingham, S., Khaw, K.T., Roddam, A., Key, T., Boffetta, P., Duell, E.J., Jenab, M., Gallo, V., and 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*, C Vol. 126 (10), pp: 2394-403. doi: 10.1002/ijc.24907.
- [158] Jarosz, M., Sekuła, W., and Rychlik, E. (2012). Influence of diet and tobacco smoking on pancreatic cancer incidence in poland in 1960-2008, *Gastroenterol Res Pract*, C Vol. 2012 682156. doi: 10.1155/2012/682156.

- [159] Bao, Y., Hu, F.B., Giovannucci, E.L., Wolpin, B.M., Stampfer, M.J., Willett, W.C., and Fuchs, C.S. (2013). Nut consumption and risk of pancreatic cancer in women, *Br J Cancer*, C Vol. 109 (11), pp: 2911-6. doi: 10.1038/bjc.2013.665.
- [160] Wu, L., Wang, Z., Zhu, J., Murad, A.L., Prokop, L.J., and Murad, M.H. (2015). Nut consumption and risk of cancer and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis, *Nutr Rev*, C Vol. 73 (7), pp: 409-25. doi: 10.1093/nutrit/nuv006.
- [161] Wu, Q.J., Wu, L., Zheng, L.Q., Xu, X., Ji, C., and Gong, T.T. (2016). Consumption of fruit and vegetables reduces risk of pancreatic cancer: evidence from epidemiological studies, *Eur J Cancer Prev*, C Vol. 25 (3), pp: 196-205. doi: 10.1097/cej.0000000000000171.
- [162] Jiao, L., Mitrou, P.N., Reedy, J., Graubard, B.I., Hollenbeck, A.R., Schatzkin, A., and Stolzenberg-Solomon, R. (2009). A combined healthy lifestyle score and risk of pancreatic cancer in a large cohort study, *Archives of internal medicine*, C Vol. 169 (8), pp: 764-770.
- [163] Stolzenberg-Solomon, R.Z., Cross, A.J., Silverman, D.T., Schairer, C., Thompson, F.E., Kipnis, V., Subar, A.F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., and Sinha, R. (2007). Meat and meat-mutagen intake and pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort, *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, C Vol. 16 (12), pp: 2664-2675.
- [164] Aksoy, B. (2011). Pankreas kanserlerinde CDC25A gen polimorfizmi ve ekspresyonu, Vol.
- [165] Schmieg, W. (1989). Tumor markers in pancreatic cancer--current concepts, *Hepato-gastroenterology*, C Vol. 36 (6), pp: 446-449.
- [166] Braunwald, K., Hauser F, Jameson L. *Harrison's principles of internal medicine*, 2004, New York: Mc Graw Hill.
- [167] Tandoğan, G., (2012). *Lokal ileri rezeke edilemeyen pankreas kanserinde kemoterapi ve kemoradyoterapi tedavilerinin etkinliklerinin karşılaştırılması*, Doktora Tezi, Bursa Uludag University (Turkey)
- [168] Akbulut, S., Yavuz, R., Sogutcu, N., Kaya, B., Hatipoglu, S., Senol, A., and Demircan, F. (2014). Hydatid cyst of the pancreas: Report of an undiagnosed case of pancreatic hydatid cyst and brief literature review, *World J Gastrointest Surg*, C Vol. 6 (10), pp: 190-200. doi: 10.4240/wjgs.v6.i10.190.
- [169] Bryant, K.L., Mancias, J.D., Kimmelman, A.C., and Der, C.J. (2014). KRAS: feeding pancreatic cancer proliferation, *Trends Biochem Sci*, C Vol. 39 (2), pp: 91-100. doi: 10.1016/j.tibs.2013.12.004.
- [170] Kavukçu, G. and Hekimsoy, İ. (2019). Pankreas Sonografisi, Vol.
- [171] Papaioannou, N.E., Beniata, O.V., Vitsos, P., Tsitsilonis, O., and Samara, P. (2016). Harnessing the immune system to improve cancer therapy, *Ann Transl Med*, C Vol. 4 (14), pp: 261. doi: 10.21037/atm.2016.04.01.
- [172] O'Reilly, E.M., Oh, D.Y., Dhani, N., Renouf, D.J., Lee, M.A., Sun, W., Fisher, G., Hezel, A., Chang, S.C., Vlahovic, G., Takahashi, O., Yang, Y., Fitts, D., and Philip, P.A. (2019). Durvalumab With or Without Tremelimumab for Patients With Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Phase 2 Randomized Clinical Trial, *JAMA Oncol*, C Vol. 5 (10), pp: 1431-1438. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.1588.
- [173] Knight, T. and Irving, J.A. (2014). Ras/Raf/MEK/ERK Pathway Activation in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Therapeutic Targeting, *Front Oncol*, C Vol. 4 160. doi: 10.3389/fonc.2014.00160.
- [174] Cseh, B., Doma, E., and Baccarini, M. (2014). "RAF" neighborhood: protein-protein interaction in the Raf/Mek/Erk pathway, *FEBS Lett*, C Vol. 588 (15), pp: 2398-406. doi: 10.1016/j.febslet.2014.06.025.
- [175] Rauen, K.A. (2013). The RASopathies, *Annu Rev Genomics Hum Genet*, C Vol. 14 355-69. doi: 10.1146/annurev-genom-091212-153523.

- [176] Provenzano, P.P., Cuevas, C., Chang, A.E., Goel, V.K., Von Hoff, D.D., and Hingorani, S.R. (2012). Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma, *Cancer Cell*, C Vol. 21 (3), pp: 418-29. doi: 10.1016/j.ccr.2012.01.007.
- [177] Zhao, Z. and Liu, W. (2020). Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment, *Technol Cancer Res Treat*, C Vol. 19 1533033820962117. doi: 10.1177/1533033820962117.
- [178] Loehrer Sr, P.J., Feng, Y., Cardenes, H., Wagner, L., Brell, J.M., Cella, D., Flynn, P., Ramanathan, R.K., Crane, C.H., and Alberts, S.R. (2011). Gemcitabine alone versus gemcitabine plus radiotherapy in patients with locally advanced pancreatic cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group trial, *Journal of Clinical Oncology*, C Vol. 29 (31), pp: 4105.
- [179] Takaori, K., Bassi, C., Biankin, A., Brunner, T.B., Cataldo, I., Campbell, F., Cunningham, D., Falconi, M., Frampton, A.E., and Furuse, J. (2016). International Association of Pancreatology (IAP)/European Pancreatic Club (EPC) consensus review of guidelines for the treatment of pancreatic cancer, *Pancreatology*, C Vol. 16 (1), pp: 14-27.
- [180] Kayan, M. Brakiterapi Uygulamaları Ve Kullanılan Kaynaklar, Vol.
- [181] He, J., Page, A.J., Weiss, M., Wolfgang, C.L., Herman, J.M., and Pawlik, T.M. (2014). Management of borderline and locally advanced pancreatic cancer: where do we stand?, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, C Vol. 20 (9), pp: 2255.
- [182] Sahin, I.H., Askan, G., Hu, Z.I., and O'Reilly, E.M. (2017). Immunotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma: an emerging entity?, *Ann Oncol*, C Vol. 28 (12), pp: 2950-2961. doi: 10.1093/annonc/mdx503.
- [183] Oberstein, P.E. and Olive, K.P. (2013). Pancreatic cancer: why is it so hard to treat?, *Therap Adv Gastroenterol*, C Vol. 6 (4), pp: 321-37. doi: 10.1177/1756283x13478680.
- [184] Appleby, P.N., Crowe, F.L., Bradbury, K.E., Travis, R.C., and Key, T.J. (2016). Mortality in vegetarians and comparable nonvegetarians in the United Kingdom, *Am J Clin Nutr*, C Vol. 103 (1), pp: 218-30. doi: 10.3945/ajcn.115.119461.
- [185] Biankin, A.V., Waddell, N., Kassahn, K.S., Gingras, M.C., Muthuswamy, L.B., Johns, A.L., Miller, D.K., Wilson, P.J., Patch, A.M., Wu, J., Chang, D.K., Cowley, M.J., Gardiner, B.B., Song, S., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Nourse, C., Nourbakhsh, E., Manning, S., Wani, S., Gongora, M., Pajic, M., Scarlett, C.J., Gill, A.J., Pinho, A.V., Rooman, I., Anderson, M., Holmes, O., Leonard, C., Taylor, D., Wood, S., Xu, Q., Nones, K., Fink, J.L., Christ, A., Bruxner, T., Cloonan, N., Kolle, G., Newell, F., Pinese, M., Mead, R.S., Humphris, J.L., Kaplan, W., Jones, M.D., Colvin, E.K., Nagrial, A.M., Humphrey, E.S., Chou, A., Chin, V.T., Chantrill, L.A., Mawson, A., Samra, J.S., Kench, J.G., Lovell, J.A., Daly, R.J., Merrett, N.D., Toon, C., Epari, K., Nguyen, N.Q., Barbour, A., Zeps, N., Kakkar, N., Zhao, F., Wu, Y.Q., Wang, M., Muzny, D.M., Fisher, W.E., Brunicardi, F.C., Hodges, S.E., Reid, J.G., Drummond, J., Chang, K., Han, Y., Lewis, L.R., Dinh, H., Buhay, C.J., Beck, T., Timms, L., Sam, M., Begley, K., Brown, A., Pai, D., Panchal, A., Buchner, N., De Borja, R., Denroche, R.E., Yung, C.K., Serra, S., Onetto, N., Mukhopadhyay, D., Tsao, M.S., Shaw, P.A., Petersen, G.M., Gallinger, S., Hruban, R.H., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Schlick, R.D., Wolfgang, C.L., Morgan, R.A., Lawlor, R.T., Capelli, P., Corbo, V., Scardoni, M., Tortora, G., Tempero, M.A., Mann, K.M., Jenkins, N.A., Perez-Mancera, P.A., Adams, D.J., Largaespada, D.A., Wessels, L.F., Rust, A.G., Stein, L.D., Tuveson, D.A., Copeland, N.G., Musgrove, E.A., Scarpa, A., Eshleman, J.R., Hudson, T.J., Sutherland, R.L., Wheeler, D.A., Pearson, J.V., McPherson, J.D., Gibbs, R.A. and Grimmond, S.M. (2012). Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes, *Nature*, C Vol. 491 (7424), pp: 399-405. doi: 10.1038/nature11547.
- [186] Jones, S., Zhang, X., Parsons, D.W., Lin, J.C., Leary, R.J., Angenendt, P., Mankoo, P., Carter, H., Kamiyama, H., Jimeno, A., Hong, S.M., Fu, B., Lin, M.T., Calhoun, E.S., Kamiyama, M., Walter,

- K., Nikolskaya, T., Nikolsky, Y., Hartigan, J., Smith, D.R., Hidalgo, M., Leach, S.D., Klein, A.P., Jaffee, E.M., Goggins, M., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C., Eshleman, J.R., Kern, S.E., Hruban, R.H., Karchin, R., Papadopoulos, N., Parmigiani, G., Vogelstein, B., Velculescu, V.E., and Kinzler, K.W. (2008). Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses, *Science*, C Vol. 321 (5897), pp: 1801-6. doi: 10.1126/science.1164368.
- [187] Pelosi, E., Castelli, G., and Testa, U. (2017). Pancreatic Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells, *Biomedicines*, C Vol. 5 (4), pp. doi: 10.3390/biomedicines5040065.
- [188] Blackford, A., Serrano, O.K., Wolfgang, C.L., Parmigiani, G., Jones, S., Zhang, X., Parsons, D.W., Lin, J.C., Leary, R.J., Eshleman, J.R., Goggins, M., Jaffee, E.M., Iacobuzio-Donahue, C.A., Maitra, A., Cameron, J.L., Olino, K., Schulick, R., Winter, J., Herman, J.M., Laheru, D., Klein, A.P., Vogelstein, B., Kinzler, K.W., Velculescu, V.E., and Hruban, R.H. (2009). SMAD4 gene mutations are associated with poor prognosis in pancreatic cancer, *Clin Cancer Res*, C Vol. 15 (14), pp: 4674-9. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-09-0227.
- [189] Waddell, N., Pajic, M., Patch, A.-M., Chang, D.K., Kassahn, K.S., Bailey, P., Johns, A.L., Miller, D., Nones, K., Quek, K., Quinn, M.C.J., Robertson, A.J., Fadlullah, M.Z.H., Bruxner, T.J.C., Christ, A.N., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Manning, S., Nourse, C., Nourbakhsh, E., Wani, S., Wilson, P.J., Markham, E., Cloonan, N., Anderson, M.J., Fink, J.L., Holmes, O., Kazakoff, S.H., Leonard, C., Newell, F., Poudel, B., Song, S., Taylor, D., Waddell, N., Wood, S., Xu, Q., Wu, J., Pinese, M., Cowley, M.J., Lee, H.C., Jones, M.D., Nagrial, A.M., Humphris, J., Chantrell, L.A., Chin, V., Steinmann, A.M., Mawson, A., Humphrey, E.S., Colvin, E.K., Chou, A., Scarlett, C.J., Pinho, A.V., Giry-Laterriere, M., Rومان, I., Samra, J.S., Kench, J.G., Pettitt, J.A., Merrett, N.D., Toon, C., Epari, K., Nguyen, N.Q., Barbour, A., Zeps, N., Jamieson, N.B., Graham, J.S., Niclou, S.P., Bjerkvig, R., Grützmann, R., Aust, D., Hruban, R.H., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Wolfgang, C.L., Morgan, R.A., Lawlor, R.T., Corbo, V., Bassi, C., Falconi, M., Zamboni, G., Tortora, G., Tempero, M.A., Biankin, A.V., Johns, A.L., Mawson, A., Chang, D.K., Scarlett, C.J., Brancato, M.-A.L., Rowe, S.J., Simpson, S.H., Martyn-Smith, M., Thomas, M.T., Chantrell, L.A., Chin, V.T., Chou, A., Cowley, M.J., Humphris, J.L., Jones, M.D., Scott Mead, R., Nagrial, A.M., Pajic, M., Pettit, J., Pinese, M., Rومان, I., Wu, J., Tao, J., DiPietro, R., Watson, C., Steinmann, A., Ching Lee, H., Wong, R., Pinho, A.V., Giry-Laterriere, M., Daly, R.J., Musgrove, E.A., Sutherland, R.L., Grimmond, S.M., Waddell, N., Kassahn, K.S., Miller, D.K., Wilson, P.J., Patch, A.-M., Song, S., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Nourse, C., Nourbakhsh, E., Manning, S., Wani, S., Gongora, M., Anderson, M., Holmes, O., Leonard, C., Taylor, D., Wood, S., Xu, C., Nones, K., Lynn Fink, J., Christ, A., Bruxner, T., Cloonan, N., Newell, F., Pearson, J.V., Bailey, P., Quinn, M., Nagaraj, S., Kazakoff, S., Waddell, N., Krisnan, K., Quek, K., Wood, D., Fadlullah, M.Z.H., Samra, J.S., Gill, A.J., Pavlakis, N., Guminski, A., Toon, C., Asghari, R., Merrett, N.D., Pavey, D., Das, A., Cosman, P.H., Ismail, K., O'Connnor, C., Lam Duncan McLeod, V.W., Pleass, H.C., Richardson, A., James, V., Kench, J.G., Cooper, C.L., Joseph, D., Sandroussi, C., Crawford, M., Gallagher, J., Texler, M., Forest, C., Laycock, A., Epari, K.P., Ballal, M., Fletcher, D.R., Mukhedkar, S., Spry, N.A., DeBoer, B., Chai, M., Zeps, N., Beilin, M., Feeney, K., Nguyen, N.Q., Ruszkiewicz, A.R., Worthley, C., Tan, C.P., Debrecini, T., Chen, J., Brooke-Smith, M.E., Papangelis, V., Tang, H., Barbour, A.P., Clouston, A.D., Martin, P., O'Rourke, T.J., Chiang, A., Fawcett, J.W., Slater, K., Yeung, S., Hatzifotis, M., Hodgkinson, P., Christophi, C., Nikfarjam, M., Mountain, A., Eshleman, J.R., Hruban, R.H., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Schulick, R.D., Wolfgang, C.L., Morgan, R.A., Hodgkin, M., Scarpa, A., Lawlor, R.T., Beghelli, S., Corbo, V., Scardoni, M., Bassi, C., Tempero, M.A., Biankin, A.V., Grimmond, S.M., Chang, D.K., Musgrove, E.A., Jones, M.D., Nourse, C., Jamieson, N.B., Graham, J.S., Biankin, A.V., Chang, D.K., Jamieson,

- N.B., Graham, J.S., Oien, K., Hair, J., Gill, A.J., Eshleman, J.R., Pilarsky, C., Scarpa, A., Musgrove, E.A., Pearson, J.V., Biankin, A.V., Grimmond, S.M., Australian Pancreatic Cancer Genome, I., Garvan Institute of Medical, R., Queensland Centre for Medical Genomics / Institute for Molecular, B., Royal North Shore, H., Bankstown, H., Liverpool, H., Westmead, H., Royal Prince Alfred, H., Fremantle, H., Sir Charles Gairdner, H., St John of God, H., Royal Adelaide, H., Flinders Medical, C., Greenslopes Private, H., Envoi, P., Princess Alexandria, H., Austin, H., Victorian Cancer, B., Johns Hopkins Medical, I., Cancer, A.R.-N.C.f.A.R.o., University of California, S.F., University of, G., Greater, G. and Clyde National Health, S. (2015). Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer, *Nature*, C Vol. 518 (7540), pp: 495-501. doi: 10.1038/nature14169.
- [190] Hoadley, K.A., Yau, C., Wolf, D.M., Cherniack, A.D., Tamborero, D., Ng, S., Leiserson, M.D.M., Niu, B., McLellan, M.D., Uzunangelov, V., Zhang, J., Kandoth, C., Akbani, R., Shen, H., Omberg, L., Chu, A., Margolin, A.A., Van't Veer, L.J., Lopez-Bigas, N., Laird, P.W., Raphael, B.J., Ding, L., Robertson, A.G., Byers, L.A., Mills, G.B., Weinstein, J.N., Van Waes, C., Chen, Z., Collisson, E.A., Benz, C.C., Perou, C.M., and Stuart, J.M. (2014). Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin, *Cell*, C Vol. 158 (4), pp: 929-944. doi: 10.1016/j.cell.2014.06.049.
- [191] van Haaften, G., Dalgliesh, G.L., Davies, H., Chen, L., Bignell, G., Greenman, C., Edkins, S., Hardy, C., O'Meara, S., Teague, J., Butler, A., Hinton, J., Latimer, C., Andrews, J., Barthorpe, S., Beare, D., Buck, G., Campbell, P.J., Cole, J., Forbes, S., Jia, M., Jones, D., Kok, C.Y., Leroy, C., Lin, M.L., McBride, D.J., Maddison, M., Maquire, S., McLay, K., Menzies, A., Mironenko, T., Mulderrig, L., Mudie, L., Pleasance, E., Shepherd, R., Smith, R., Stebbings, L., Stephens, P., Tang, G., Tarpey, P.S., Turner, R., Turrell, K., Varian, J., West, S., Widaa, S., Wray, P., Collins, V.P., Ichimura, K., Law, S., Wong, J., Yuen, S.T., Leung, S.Y., Tonon, G., DePinho, R.A., Tai, Y.T., Anderson, K.C., Kahnoski, R.J., Massie, A., Khoo, S.K., Teh, B.T., Stratton, M.R., and Futreal, P.A. (2009). Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer, *Nat Genet*, C Vol. 41 (5), pp: 521-3. doi: 10.1038/ng.349.
- [192] Waddell, N., Pajic, M., Patch, A.M., Chang, D.K., Kassahn, K.S., Bailey, P., Johns, A.L., Miller, D., Nones, K., Quek, K., Quinn, M.C., Robertson, A.J., Fadlullah, M.Z., Bruxner, T.J., Christ, A.N., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Manning, S., Nourse, C., Nourbakhsh, E., Wani, S., Wilson, P.J., Markham, E., Cloonan, N., Anderson, M.J., Fink, J.L., Holmes, O., Kazakoff, S.H., Leonard, C., Newell, F., Poudel, B., Song, S., Taylor, D., Waddell, N., Wood, S., Xu, Q., Wu, J., Pinease, M., Cowley, M.J., Lee, H.C., Jones, M.D., Nagrial, A.M., Humphris, J., Chantrill, L.A., Chin, V., Steinmann, A.M., Mawson, A., Humphrey, E.S., Colvin, E.K., Chou, A., Scarlett, C.J., Pinho, A.V., Giry-Laterriere, M., Rومان, I., Samra, J.S., Kench, J.G., Pettitt, J.A., Merrett, N.D., Toon, C., Epari, K., Nguyen, N.Q., Barbour, A., Zeps, N., Jamieson, N.B., Graham, J.S., Niclou, S.P., Bjerkvig, R., Grützmann, R., Aust, D., Hruban, R.H., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Wolfgang, C.L., Morgan, R.A., Lawlor, R.T., Corbo, V., Bassi, C., Falconi, M., Zamboni, G., Tortora, G., Tempero, M.A., Gill, A.J., Eshleman, J.R., Pilarsky, C., Scarpa, A., Musgrove, E.A., Pearson, J.V., Biankin, A.V., and Grimmond, S.M. (2015). Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer, *Nature*, C Vol. 518 (7540), pp: 495-501. doi: 10.1038/nature14169.
- [193] Witkiewicz, A.K., McMillan, E.A., Balaji, U., Baek, G., Lin, W.C., Mansour, J., Mollae, M., Wagner, K.U., Koduru, P., Yopp, A., Choti, M.A., Yeo, C.J., McCue, P., White, M.A., and Knudsen, E.S. (2015). Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets, *Nat Commun*, C Vol. 6 6744. doi: 10.1038/ncomms7744.
- [194] Bailey, P., Chang, D.K., Nones, K., Johns, A.L., Patch, A.M., Gingras, M.C., Miller, D.K., Christ, A.N., Bruxner, T.J., Quinn, M.C., Nourse, C., Murtaugh, L.C., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Manning, S., Nourbakhsh, E., Wani, S., Fink, L., Holmes, O., Chin, V., Anderson, M.J., Kazakoff,

- S., Leonard, C., Newell, F., Waddell, N., Wood, S., Xu, Q., Wilson, P.J., Cloonan, N., Kassahn, K.S., Taylor, D., Quek, K., Robertson, A., Pantano, L., Mincarelli, L., Sanchez, L.N., Evers, L., Wu, J., Pinese, M., Cowley, M.J., Jones, M.D., Colvin, E.K., Nagrial, A.M., Humphrey, E.S., Chantrill, L.A., Mawson, A., Humphris, J., Chou, A., Pajic, M., Scarlett, C.J., Pinho, A.V., Giry-Laterriere, M., Rooman, I., Samra, J.S., Kench, J.G., Lovell, J.A., Merrett, N.D., Toon, C.W., Epari, K., Nguyen, N.Q., Barbour, A., Zeps, N., Moran-Jones, K., Jamieson, N.B., Graham, J.S., Duthie, F., Oien, K., Hair, J., Grützmann, R., Maitra, A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Wolfgang, C.L., Morgan, R.A., Lawlor, R.T., Corbo, V., Bassi, C., Rusev, B., Capelli, P., Salvia, R., Tortora, G., Mukhopadhyay, D., Petersen, G.M., Munzy, D.M., Fisher, W.E., Karim, S.A., Eshleman, J.R., Hruban, R.H., Pilarsky, C., Morton, J.P., Sansom, O.J., Scarpa, A., Musgrove, E.A., Bailey, U.M., Hofmann, O., Sutherland, R.L., Wheeler, D.A., Gill, A.J., Gibbs, R.A., Pearson, J.V., Waddell, N., Biankin, A.V. and Grimmond, S.M. (2016). Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer, *Nature*, C Vol. 531 (7592), pp: 47-52. doi: 10.1038/nature16965.
- [195] Irizarry, R.A., Hobbs, B., Collin, F., Beazer-Barclay, Y.D., Antonellis, K.J., Scherf, U., and Speed, T.P. (2003). Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data, *Biostatistics*, C Vol. 4 (2), pp: 249-64. doi: 10.1093/biostatistics/4.2.249.
- [196] Huang da, W., Sherman, B.T., and Lempicki, R.A. (2009). Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists, *Nucleic Acids Res*, C Vol. 37 (1), pp: 1-13. doi: 10.1093/nar/gkn923.
- [197] Klipper-Aurbach, Y., Wasserman, M., Braunsiegel-Weintrob, N., Borstein, D., Peleg, S., Assa, S., Karp, M., Benjamini, Y., Hochberg, Y., and Laron, Z. (1995). Mathematical formulae for the prediction of the residual beta cell function during the first two years of disease in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus, *Med Hypotheses*, C Vol. 45 (5), pp: 486-90. doi: 10.1016/0306-9877(95)90228-7.
- [198] Hackstadt, A.J. and Hess, A.M. (2009). Filtering for increased power for microarray data analysis, *BMC Bioinformatics*, C Vol. 10 11. doi: 10.1186/1471-2105-10-11.
- [199] Zeeberg, B.R., Qin, H., Narasimhan, S., Sunshine, M., Cao, H., Kane, D.W., Reimers, M., Stephens, R.M., Bryant, D., Burt, S.K., Elnekave, E., Hari, D.M., Wynn, T.A., Cunningham-Rundles, C., Stewart, D.M., Nelson, D., and Weinstein, J.N. (2005). High-Throughput GoMiner, an 'industrial-strength' integrative gene ontology tool for interpretation of multiple-microarray experiments, with application to studies of Common Variable Immune Deficiency (CVID), *BMC Bioinformatics*, C Vol. 6 168. doi: 10.1186/1471-2105-6-168.
- [200] Beissbarth, T. and Speed, T.P. (2004). GOstat: find statistically overrepresented Gene Ontologies within a group of genes, *Bioinformatics*, C Vol. 20 (9), pp: 1464-5. doi: 10.1093/bioinformatics/bth088.
- [201] Khatri, P., Bhavsar, P., Bawa, G., and Draghici, S. (2004). Onto-Tools: an ensemble of web-accessible, ontology-based tools for the functional design and interpretation of high-throughput gene expression experiments, *Nucleic Acids Res*, C Vol. 32 (Web Server issue), pp: W449-56. doi: 10.1093/nar/gkh409.
- [202] Martin, D., Brun, C., Remy, E., Mouren, P., Thieffry, D., and Jacq, B. (2004). GOToolBox: functional analysis of gene datasets based on Gene Ontology, *Genome Biol*, C Vol. 5 (12), pp: R101. doi: 10.1186/gb-2004-5-12-r101.
- [203] Subramanian, A., Tamayo, P., Mootha, V.K., Mukherjee, S., Ebert, B.L., Gillette, M.A., Paulovich, A., Pomeroy, S.L., Golub, T.R., Lander, E.S., and Mesirov, J.P. (2005). Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles, *Proc Natl Acad Sci U S A*, C Vol. 102 (43), pp: 15545-50. doi: 10.1073/pnas.0506580102.

- [204] Dennis, G., Jr., Sherman, B.T., Hosack, D.A., Yang, J., Gao, W., Lane, H.C., and Lempicki, R.A. (2003). DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery, *Genome Biol*, C Vol. 4 (5), pp: P3.
- [205] Huang, D.W., Sherman, B.T., Tan, Q., Kir, J., Liu, D., Bryant, D., Guo, Y., Stephens, R., Baseler, M.W., Lane, H.C., and Lempicki, R.A. (2007). DAVID Bioinformatics Resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists, *Nucleic Acids Res*, C Vol. 35 (Web Server issue), pp: W169-75. doi: 10.1093/nar/gkm415.
- [206] Caba, O., Prados, J., Ortiz, R., Jiménez-Luna, C., Melguizo, C., Alvarez, P.J., Delgado, J.R., Irigoyen, A., Rojas, I., Pérez-Florido, J., Torres, C., Perales, S., Linares, A., and Aránega, A. (2014). Transcriptional profiling of peripheral blood in pancreatic adenocarcinoma patients identifies diagnostic biomarkers, *Dig Dis Sci*, C Vol. 59 (11), pp: 2714-20. doi: 10.1007/s10620-014-3291-3.
- [207] 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., and Shen, H. (2018). SMAD4 Gene Mutation Renders Pancreatic Cancer Resistance to Radiotherapy through Promotion of Autophagy, *Clin Cancer Res*, C Vol. 24 (13), pp: 3176-3185. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-17-3435.
- [208] Liang, C., Shi, S., Qin, Y., Meng, Q., Hua, J., Hu, Q., Ji, S., Zhang, B., Xu, J., and Yu, X.J. (2020). Localisation of PGK1 determines metabolic phenotype to balance metastasis and proliferation in patients with SMAD4-negative pancreatic cancer, *Gut*, C Vol. 69 (5), pp: 888-900. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317163.
- [209] Bosetti, C., Lucenteforte, E., Silverman, D.T., Petersen, G., Bracci, P.M., Ji, B.T., Negri, E., Li, D., Risch, H.A., Olson, S.H., 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., Bertuccio, P., Gao, Y.T., Hassan, M., Yu, H., Kurtz, R.C., Cotterchio, M., Su, J., Maisonneuve, P., Duell, E.J., Boffetta, P., and La Vecchia, C. (2012). Cigarette smoking and pancreatic cancer: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (Panc4), *Ann Oncol*, C Vol. 23 (7), pp: 1880-8. doi: 10.1093/annonc/mdr541.
- [210] Jang, J.H., Cotterchio, M., Borgida, A., Gallinger, S., and Cleary, S.P. (2012). Genetic variants in carcinogen-metabolizing enzymes, cigarette smoking and pancreatic cancer risk, *Carcinogenesis*, C Vol. 33 (4), pp: 818-27. doi: 10.1093/carcin/bgs028.
- [211] Thompson, P., Seyedi, F., Lang, N., MacLeod, S., Wogan, G., Anderson, K., Tang, Y.-M., Coles, B., and Kadlubar, F. (1999). Comparison of DNA adduct levels associated with exogenous and endogenous exposures in human pancreas in relation to metabolic genotype, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, C Vol. 424 (1-2), pp: 263-274.
- [212] de Gonzalez, A.B., Sweetland, S., and Spencer, E. (2003). A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer, *Br J Cancer*, C Vol. 89 (3), pp: 519-523.
- [213] Genkinger, J.M., Spiegelman, D., Anderson, K.E., Bernstein, L., Van Den Brandt, P.A., Calle, E.E., English, D.R., Folsom, A.R., Freudenheim, J.L., and Fuchs, C.S. (2011). A pooled analysis of 14 cohort studies of anthropometric factors and pancreatic cancer risk, *International journal of cancer*, C Vol. 129 (7), pp: 1708-1717.
- [214] Aggarwal, G., Kamada, P., and Chari, S.T. (2013). Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers, *Pancreas*, C Vol. 42 (2), pp: 198.
- [215] Golan, T., Kindler, H.L., Park, J.O., Reni, M., Macarulla, T., Hammel, P., Van Cutsem, E., Arnold, D., Hochhauser, D., and McGuinness, D. (2020). Geographic and ethnic heterogeneity of germline BRCA1 or BRCA2 mutation prevalence among patients with metastatic pancreatic cancer screened for entry into the POLO trial, *Journal of Clinical Oncology*, C Vol. 38 (13), pp: 1442-1454.

- [216] Peretti, U., Cavaliere, A., Niger, M., Tortora, G., Di Marco, M., Rodriquez, M., Centonze, F., Rapposelli, I., Giordano, G., and De Vita, F. (2021). Germinal BRCA1-2 pathogenic variants (gBRCA1-2pv) and pancreatic cancer: epidemiology of an Italian patient cohort, *ESMO open*, C Vol. 6 (1), pp: 100032.
- [217] Billadeau, D.D., Chatterjee, S., Bramati, P., Sreekumar, R., Shah, V., Hedin, K., and Urrutia, R. (2006). Characterization of the CXCR4 signaling in pancreatic cancer cells, *Int J Gastrointest Cancer*, C Vol. 37 (4), pp: 110-9. doi: 10.1007/s12029-007-0011-7.
- [218] Moz, S., Basso, D., Padoan, A., Bozzato, D., Fogar, P., Zambon, C.F., Pelloso, M., Sperti, C., Vigili de Kreutzenberg, S., Pasquali, C., Pedrazzoli, S., Avogaro, A., and Plebani, M. (2016). Blood expression of matrix metalloproteinases 8 and 9 and of their inducers S100A8 and S100A9 supports diagnosis and prognosis of PDAC-associated diabetes mellitus, *Clin Chim Acta*, C Vol. 456 24-30. doi: 10.1016/j.cca.2016.02.018.
- [219] Song, S.S., Ying, J.F., Zhang, Y.N., Pan, H.Y., He, X.L., Hu, Z.M., Wang, H.J., Dou, X.B., and Mou, X.Z. (2020). High expression of FOXO3 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma, *Oncol Lett*, C Vol. 19 (4), pp: 3181-3188. doi: 10.3892/ol.2020.11430.
- [220] Serra, S., Asa, S.L., Bamberger, A.M., Wagener, C., and Chetty, R. (2009). CEACAM1 expression in pancreatic endocrine tumors, *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, C Vol. 17 (4), pp: 286-93. doi: 10.1097/PAI.0b013e318196e13c.
- [221] Islam, S., Kitagawa, T., Azuma, T., and Kuramitsu, Y. (2021). The Expression Levels of Vinculin in Pancreatic Cancer Tissues Significantly Correlates With Patient Survival, *Anticancer Res*, C Vol. 41 (10), pp: 4979-4984. doi: 10.21873/anticancer.15311.
- [222] Yang, Z., Zhuang, L., Szatmary, P., Wen, L., Sun, H., Lu, Y., Xu, Q., and Chen, X. (2015). Upregulation of heat shock proteins (HSPA12A, HSP90B1, HSPA4, HSPA5 and HSPA6) in tumour tissues is associated with poor outcomes from HBV-related early-stage hepatocellular carcinoma, *Int J Med Sci*, C Vol. 12 (3), pp: 256-63. doi: 10.7150/ijms.10735.
- [223] Zhou, C.Y., Gong, L.Y., Liao, R., Weng, N.N., Feng, Y.Y., Dong, Y.P., Zhu, H., Zhao, Y.Q., Zhang, Y.Y., Zhu, Q., and Han, S.X. (2019). Evaluation of the target genes of arsenic trioxide in pancreatic cancer by bioinformatics analysis, *Oncol Lett*, C Vol. 18 (5), pp: 5163-5172. doi: 10.3892/ol.2019.10889.
- [224] Schneider, G., Weber, A., Zechner, U., Oswald, F., Friess, H.M., Schmid, R.M., and Liptay, S. (2006). GADD45alpha is highly expressed in pancreatic ductal adenocarcinoma cells and required for tumor cell viability, *Int J Cancer*, C Vol. 118 (10), pp: 2405-11. doi: 10.1002/ijc.21637.
- [225] Cheng, A., Guo, J., Henderson-Jackson, E., Kim, D., Malafa, M., and Coppola, D. (2011). IκB Kinase ε expression in pancreatic ductal adenocarcinoma, *Am J Clin Pathol*, C Vol. 136 (1), pp: 60-6. doi: 10.1309/ajcp2jjgyniuas2v.
- [226] Gebauer, F., Wicklein, D., Horst, J., Sundermann, P., Maar, H., Streichert, T., Tachezy, M., Izbicki, J.R., Bockhorn, M., and Schumacher, U. (2014). Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAM) 1, 5 and 6 as biomarkers in pancreatic cancer, *PLoS One*, C Vol. 9 (11), pp: e113023. doi: 10.1371/journal.pone.0113023.
- [227] Hao, C., Li, Z., Zhang, X., Zhang, H., Shang, H., Bao, J., and Wang, H. (2018). Expression and clinical significance of EGF and TGF-α in chronic pancreatitis and pancreatic cancer, *Minerva Endocrinol*, C Vol. 43 (3), pp: 253-258. doi: 10.23736/s0391-1977.17.02721-3.
- [228] Walsh, N., Kennedy, S., Larkin, A., Corkery, B., O'Driscoll, L., Clynes, M., Crown, J., and O'Donovan, N. (2013). EGFR and HER2 inhibition in pancreatic cancer, *Invest New Drugs*, C Vol. 31 (3), pp: 558-66. doi: 10.1007/s10637-012-9891-x.
- [229] Yıldırım, S.Ş. (2010). Mide kanser hastalarında EGFR ekspresyonu Ve K-Ras mutasyonlarının prognostik ve prediktif önemi, Vol.

- [230] Lee, K., Zheng, Q., Lu, Q., Xu, F., Qin, G., Zhai, Q., Hong, R., Chen, M., Deng, W., and Wang, S. (2021). CPSF4 promotes triple negative breast cancer metastasis by upregulating MDM4, *Signal transduction and targeted therapy*, C Vol. 6 (1), pp: 1-3.
- [231] González-Tablas, M., Arandia, D., Jara-Acevedo, M., Otero, Á., Vital, A.-L., Prieto, C., González-García, N., Nieto-Librero, A.B., Tao, H., and Pascual, D. (2020). Heterogeneous EGFR, CDK4, MDM4, and PDGFRA gene expression profiles in primary GBM: no association with patient survival, *Cancers*, C Vol. 12 (1), pp: 231.
- [232] Alatawi, A., Kho, S., and Markey, M.P. (2021). MDM4 Isoform Expression in Melanoma Supports an Oncogenic Role for MDM4-A, *Journal of Skin Cancer*, C Vol. 2021.
- [233] Zhao, R., Gao, S., He, H., Zhang, J., Zhang, G., and Wen, X. (2021). Evaluation on the Distribution of EGFR, KRAS and BRAF Genes and the Expression of PD-L1 in Different Types of Lung Cancer, *International Journal of General Medicine*, C Vol. 14 5615.
- [234] Tokunaga, A., Onda, M., Okuda, T., Teramoto, T., Fujita, I., Mizutani, T., Kiyama, T., Yoshiyuki, T., Nishi, K., and Matsukura, N. (1995). Clinical significance of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor, and c-erbB-2 in human gastric cancer, *Cancer*, C Vol. 75 (S6), pp: 1418-1425.

EKLER

Ek 1. Ekipmanlar



Şekil A1.1. iBright™750, gel documentation, and analysis image system



Şekil A1.2. Centrifuge/ NUVF NF 800R



Şekil A1.3. Electrophoresis digital power supply & Agarose Gel electrophoresis system



Şekil A1.4. PCR/ Thermal cycle.SimpliAmp/Applied Biosystem



Şekil A1.5. Quantitative Real-Time PCR



Şekil A1.6. Qubit fluorometer-Concentration measurement



Şekil A1.7. Mini Centrifuge Spin & Multi mixer vortex