



BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMLARINDA KÖK HÜCRE
BELİRTEÇİ CD133 VE CXCR4/CXCL12 KOMPLEKSİNİN KÖTÜ
PROGNOZ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Adila ADILLI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Zühal GÜCİN

HAZİRAN 2020



**BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMLARINDA KÖK HÜCRE
BELİRTEÇİ CD133 VE CXCR4/CXCL12 KOMPLEKSİNİN KÖTÜ
PROGNOZ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Adila ADILLI**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Zühal GÜCİN

HAZİRAN 2020

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynak listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Adila ADILLI



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren, tecrübe, bilgi ve birikimlerini her zaman benimle paylaşan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım başta Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr.Zühal Gücin olmak üzere;

Uzmanlık eğitimim sürecinde her zaman bize destek olan ve bilgi ve tecrübelerini aktaran, pratikliği, insani yaklaşımları ve güçlü sosyal yanı ile örnek oluşturan, Prof.Dr.Sema Arıcı'ya;

Tüm asistanlığım sürecince her zaman yanımda olan, tez sürecinde desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, yetişmemde büyük emekleri olan Prof.Dr.Şahande Elagöz, Doç.Dr.Nur Büyükpınarbaşı, Doç.Dr.Nurhan Şahin, Dr.Öğr.Üyesi Pelin Yıldız, Dr.Öğr.Üyesi Tuğçe Kıran, Dr.Öğr.Üyesi Beril Güler, Uzm.Dr.Ganime Çoban, Öğr.Gör.Dr.Melin Özgün Geçer'e, ve kliniğimiz uzmanlarından, Uzm.Dr.Zehra Gülçiftci Dağcı, Uzm.Dr.Hasan Enis Kömürcü ve Uzm.Dr.Feray Günver'e;

Asistanlık sürecimin başlangıcında tanıma şansı bulduğum, bir süre birlikte çalıştığım ve gelişimime önemli katkıları olan Dr.Öğr.Üyesi Zeynep Tosuner ve Dr.Öğr.Üyesi Cavide Fatma Sönmez'e;

Kliniğimizde çalışan ve bana yardımcı olan başta Çağla Mutlu, Kübra Aydın, Aybüke Kaya olmak üzere patoloji teknikerlerine ve sekreterlerimize;

Bana hep destek olan arkadaşlarım Gulshan Yunisova, Fidan Khalilova, Burcu Gül ve Cihan Emre Tek dahil tüm arkadaşlarıma;

Asistan arkadaşlarım Anı Toklu, Ece Turgut, Telli İsmailova, Zeynep Sezal, Buşra Coşanay Tekten ve aramaıza yeni katılan İrmak Sinal'a;

Ve tüm hayatım boyunca bana hep destek olan ve zor günlerimde yanımda hissettiğim sevgili annem, babama ve kardeşim Aliskender Adıllı'ya

Teşekkür ederim!

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 12.2019/4 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMA VE SİMGELER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tarihsel Bilgi	3
2.2 Pankreas Embriyolojisi	5
2.3 Pankreas Anatomisi	8
2.3.1 Pankreas ve safra kanalları.....	9
2.3.2 Pankreasın arterleri.....	12
2.3.3 Pankreasın venleri.....	14
2.3.4 Pankreasın lenfatik drenajı.....	14
2.3.5 Pankreasın sinirleri.....	15
2.4 Pankreas Histolojisi	15
2.4.1 Histokimya	17
2.4.2 İmmünohistokimya	17
2.5 Pankreas Fizyolojisi	18
2.5.1 Ekzokrin pankreas salgı ve fonksiyonları.....	18
2.5.2 Endokrin pankreas salgı ve fonksiyonları	19
2.6 Pankreas Hastalıklarının Sınıflandırılması	21
2.6.1 Konjenital anomaliler.....	21
2.6.2 Non-neoplastik hastalıkları	22
2.6.3 Pankreasın neoplastik hastalıkları /WHO 2019.....	22
2.7 Pankreas Karsinomları	23
2.7.1 Epidemiyoloji.....	24
2.7.2 Sağkalım	25
2.7.3 Etyopatogenez	26
2.8 Pankreas Duktal Adenokarsinomu	32
2.8.1 Makroskopik görünümü.....	32
2.8.2 Mikroskopik görünümü.....	33
2.8.3 Tümör stroması.....	36
2.8.4. Histolojik alt tipi	37
2.8.5 Perinöral invazyon.....	40
2.8.6 İmmünohistokimya	41
2.8.7 Ayırıcı tanı	41
2.8.8 Patolojik evreleme (TNM)	41
2.8.9 Prognoz	47
2.8.10 Tanı	47

2.8.11 Tedavi.....	48
2.9 Kemokinlerin (CXC) ve Kemokin Reseptörlerinin Kanserdeki Rolü	50
2.10 Pankreas Kanseri Kök Hücre (KKH)	52
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1 Olgu Seçimi ve Çalışma.....	53
3.2 İmmünohistokimyasal İnceleme.....	54
3.3 İstatistiksel Analiz	55
4. BULGULAR	56
5. TARTIŞMA.....	64
5.1 Kanseri Kök Hücreleri.....	71
6. SONUÇ.....	76
7. KAYNAKLAR	77

KISALTMA VE SİMGELER

ACTH	: Adrenokortikotropik hormonu
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
BMDC	: Kemik İliği Kaynaklı Dendritik Hücreler
BMI	: Vücut kitle indeksi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BVÜ	: Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi
CA19.9	: Karbonhidrat Antijen 19-9
CAF	: Kanserle İlişkili Fibroblastlar
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
CGRP	: Calcitonin Gene Related Peptide
CTSS	: Katepsin C
CXCL12	: Kemokin ligandı
CXCR4	: Kemokin resptörü
DUPAN-2	: Pankreatik Kanser İlişkili Antijen
ECM	: Hücre Dışı Matriks
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal geçiş
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiyo Pankreatografi
EUROCARE	: European Cancer Registry
EUS	: Endoskopik Ultrasonografi
GLOBOCAN	: Global Cancer Observatory
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
<i>H. pylori</i>	: Helicobacter pylori
HBV	: Hepatit B virüsü
HCV	: Hepatit C virüsü
HIF-1α	: Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1 α
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
IPMN	: İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazi
ITPN	: İntraduktal Tubulopapiller Neoplazi
KHDAK	: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
KKH	: Kanser Kök Hücreleri
MCN	: Müsinoz Kistik Neoplazi

MDSC	: Miyeloid Türevi Baskılayıcı Hücreler
MiNEN	: Mikst Nöroendokrin ve Non-Nöroendokrin Neoplazi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
PanIN3	: Yüksek Dereceli Pankreatik İntraepitelyal Neoplazi
PAS	: Periyodik Asit-Schiff
PDAK	: Pankreas Duktal Adenokarsinomu
PP	: Pankreatik Polipeptid
PSC	: Pankreatik Satelit Hücreler
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
TAM	: Tümörle İlişkili Makrofajlar
TME	: Tümör Mikroçevresi
TMPRSS3	: Transmembran Proteaz-Serin 3
TNM	: Tümör, Lenf Nodu, Metastaz
Treg	: Düzenleyici T hücreleri
UICC	: Union for International Cancer Control
VIP	: Vazoaktif İntestinal Polipeptid
WHO	: World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Herophilus (M.Ö 335-280) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective).	3
Şekil 2. 2 Claudius Galenus (M.S 138-201) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective).	3
Şekil 2. 3 Johann Georg Wirsung (1589-1643) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective)	4
Şekil 2. 4 Regnerus de Graaf (1641-1673) (Williams, The Nobel pancreas: a historical perspective).	4
Şekil 2. 5 Pankreas Embriyolojisi: Dorsal ve ventral pankreas (Douglas A. Melton, Development of the Endocrine Pancreas).	6
Şekil 2. 6 Pankreas Embriyolojisi: Dorsal ve ventral pankreas füzyonu. Safra ve pankreas kanallarının birleşmesi (Douglas A. Melton, Development of the Endocrine Pancreas).	7
Şekil 2. 7 Pankreas anatomisi (Louisa Thompson, The Pancreas).	9
Şekil 2. 8 Wirsung ve koledok arasındaki ilişki (Ampulla Vater varyasyonları) (Ricard J. Rizzo, Congenital Abnormalities of the Pancreas and Biliary Tree in Adults).	10
Şekil 2. 9 Wirsung ve santorini varyasyonları (Zehra Hilal Adibelli, Anatomic variations of the pancreatic duct and their relevance with the Cambridge classification system)	10
Şekil 2. 10 Ampulla Vateri çevresini saran Oddi sfinkteri (Erik Haraldsson, The Papilla of Vater).	11
Şekil 2. 11 Papilla Vateri ve Papilla Duodeni Minor (Erik Haraldsson, The Papilla of Vater).	12
Şekil 2. 12 Pankreasın arterleri (Jamieson NB, The prognostic influence of resection margin clearance following pancreaticoduodenectomy for pancreatic ductal adenocarcinoma).	13
Şekil 2. 13 Pankreasın venoz drenajı (Anil Chauhan, The pancreas).	14
Şekil 2. 14 Pankreasın lenfatik drenajı (Jamieson NB, The prognostic influence of resection margin clearance following pancreaticoduodenectomy for pancreatic ductal adenocarcinoma).	15
Şekil 2. 15 Pankreasın H&E (x40) kesiti (BVÜ arşivinden).	16
Şekil 2. 16 Pankreasın asinus yapısı ve H&E (x200) kesiti (BVÜ arşivinden).	17
Şekil 2. 17 Pankreasın Langerhans adacığını gösteren H&E (x200) kesiti (BVÜ arşivinden).	20
Şekil 2. 18 Harita, 2018`de dünya çapında hem cinsiyetler hem de tüm yaşlar dahil olmak üzere pankreas kanseri için tahmini yaş standardize mortalite oranlarını (ASR) göstermektedir (WHO 2019).	25
Şekil 2. 19 Pankreas (Dalla Rosa, An atlas of human anatomy for students and physicians).	32
Şekil 2. 20 Pankreas duktal adenokarsinomun makroskopisi (BVÜ arşivinden).	33
Şekil 2. 21 PDAK`un H&E kesitlerinde, yoğun fibroz stromada atipik glandüler yapılar (x40, x100, x 20) (BVÜ arşivinden).	36
Şekil 2. 22 Pankreas adenikarsinomun stroması (Kate Young, Immunotherapy and pancreatic cancer: unique challenges and potential opportunities).	37
Şekil 2. 23 PDAK`da perinöral invazyon (H&E x100) (BVÜ arşivinden).	40
Şekil 2. 24 PDAK`da MR bulgusu (BVÜ Radyoloji Anabilim Dalı arşivinden).	48

Şekil 2. 25 Whipple operasyonu (Hull University Teaching Hospitals, Surgery for Suspected Cancer of the Pancreas/Bile Duct)..... 49

Şekil 4. 1 Tümör çevresi ve tümörden uzak pankreas dokusunda İmmunhistokimya ve H&E..... 57

Şekil 4. 2 PADK`da H&E ve CD133, CXCL12 ve CXCR4 immunhistokimyası. ... 58

Şekil 4. 3 Metastazlı lenf nodlarının H&E ve CD133, CXCL12 ve CXCR4 immunhistokimyası. 62

Şekil 4. 4 PADK`da H&E ve CD133 immunhistokimyasal bulgular..... 62



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2. 1 PDAK`un histolojik derece sınıflandırılması (AJCC 8. baskı).....	34
Tablo 2. 2 PDAK ve kronik pankreatitin ayırıcı tanı kriterleri.	42
Tablo 2. 3 PDAK`da T sınıflandırması (AJCC 8. baskı).	44
Tablo 2. 4 PDAK`da N sınıflandırılması (AJCC 8. baskı).....	45
Tablo 2. 5 PDAK`da M sınıflandırılması (AJCC 8. baskı).....	45
Tablo 2. 6 PDAK`un prognostik evresi (AJCC 8. baskı).....	46
Tablo 4. 1 PDAK`lı olguların bazı klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı.	56
Tablo 4. 2 I. ve II. grupta CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tümörde dağılımı.	60
Tablo 4. 3 II. grupta CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tümörde ve metastazlı lenf nodunda dağılımı.	60

“Pankreas Duktal Adenokarsinomlarında kök hücre belirteci CD133 ve CXCR4/CXCL12 kompleksinin kötü prognoz ile ilişkisinin araştırılması”

ÖZET

Giriş ve Amaç: Ekzokrin pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK) tüm pankreas malignitelerinin yaklaşık %90'nını oluşturmaktadır. PDAK yüksek mortalite oranına sahip olup 5 yıllık sağ kalım oranı %7'dir. 2030 yılına gelindiğinde, kansere bağlı ölümlerin ikinci nedeni haline gelmesi beklenmektedir. Bu agresif malignite için primer tedavi cerrahi rezeksiyondur. Ne yazık ki erken tanı oranının düşük olması nedeniyle hastaların sadece %10-20'si rezeke edilebilir durumdadır. Opere edilebilen olgularda bile 5 yıllık sağ kalım düşüktür.

Bu kötü prognozun sebeplerinden biri de PDAK'un kemoterapiye yüksek direncidir. Kemoterapi direnci altında yatan nedenlerden biri kanser kök hücreleri (KKH) ve kemokinlerdir.

KKH'leri; tümörün başlatılması, kendini yenileme kapasitesi, hızlı büyüme, tedaviye direnç, metastaz oluşumu ve adjuvan tedavinin tamamlanmasından sonra tümör nüksünden sorumlu kabul edilir. KKH, pankreas kanseri de dahil olmak üzere birçok malign tümörde bulunmuştur. Pankreas KKH'lerinde CD133 ekspresyonu tanımlanmıştır.

Kemokinler çeşitli fizyolojik ve immün süreçleri düzenleyen ve aynı zamanda tümör hücrelerinin büyüme, proliferasyon ve metastazını da artıran bir grup sitokindir. Kemokinler yukarıda sözü edilen fonksiyonlarını hücre membranındaki kemokin reseptörlerine bağlanarak ve onları aktive ederek gösterirler. Kemokin reseptör tip 4 (CXCR4), kemokin ligand 12 için uygun reseptördür. CXCL12/CXCR4 kompleksi, tümör mikro çevresini oluşturan en belirgin kemokin moderatörlerinden biridir. CXCR4/CXCL12 kemokin kompleksinin, pankreas kanseri gelişiminde, invazyonunda, metastazında ve tedaviye direncinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Ocak 2012-Aralık 2019 tarihleri arasında Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Hastanesinde, radikal cerrahi ile tedavi edilen pankreas kanserli 80 olgu dahil edildi. Olgulara ait arşiv dosyaları incelendi. Olguların 56'sı erkek, 24'ü kadın olup yaş ortalaması 65,3 (38-84) idi. 80 olgu arasından 70 olguda tümör, pankreas başında ve geri kalan 10 olguda ise pankreasın gövde/kuyruk

kısımında yerleşimli idi. Tüm olgular pankreas duktal adenokarsinom tanılıydı. Olgular 2017 AJCC 8. baskısına dayanarak iki gruba ayrıldı. I. grup lenf nodülü metastazı göstermeyen IA, IB ve IIA evresindeki 22 olgudan, II. grup lenf nodu metastazı mevcut olan IIB ve III evreli 58 olgudan oluşmakta idi.

CXCR4, CXCL12 ve CD133 arasındaki korelasyon değerlendirilmesi için veriler IBM SPSS istatistik 22,0 paket program ile analiz edildi. Kategorik değişikliklerin dağılımına Ki-kare testi ile bakıldı. Tanımlayıcı istatistik olarak medyan (min-mak), frekans ve yüzde değerleri verildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Olgulara ait immünohistokimya boyalı preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Her iki grupta CXCR4 ve CXCL12 ile tümör çevresi ve tümörden uzak pankreas stromasında; CD133 ile tümör çevresi ve tümörden uzak pankreas dokusunda boyanma saptanmadı. Tümör stromasında ve metastazlı lenf nodu stromasında CXCR4 ve CXCL12 antikoru ile sitoplazmik ve sitomembranöz boyanmaya sahip hücreler pozitif olarak tanımlandı. Tümör ve metastazlı lenf nodundaki tümör hücrelerinde CD133 ile sitomembranöz ve sitoplazmik boyanma varlığı da pozitif olarak kabul edildi.

I. grupta 22 olguda tümör stromasında değerlendirilen CXCR4 ve CXCL12 %41 oranda birlikte ekspresyon gösterdi. Olguların %13,6'sında ise her üç biyobelirteç de (CXCR4, CXCL12, CD133) pozitif idi. CXCR4, CXCL12 ve CD133'ün tek başına eksprese olmadıkları gözlemlendi. Olguların %45,5'unda ise hiçbir boyanma izlenmedi.

II. grupta 58 olguda değerlendirilen tümör stromasında ve tümörde %1,7 oranda CD133; %3,4 oranda CXCL12; %5,2 olguda CXCR4; %17 olguda CXCL12+CXCR4; %36,2 olguda CD133+CXCL12+CXCR4; %10,3 olguda CD133+CXCR4 ekspresyonu izlendi. Olguların %26,2'sinde hiçbir boyanma izlenmedi.

I. ve II. grup karşılaştırıldığında CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tek başlarına eksprese olma durumlarında ve CD133/CXCR4 birlikte ekspresyonunda istatistiksel olarak fark görülmedi. Ancak CXCL12/CXCR4 ve CD133/CXCL12/CXCR4 bir arada eksprese olmaları açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.

II. grupta metastazlı lenf nodlarında ve metastazlı lenf nodların stromasında %12 olguda CXCL12, %1,7 olguda CXCR4, %27,6 olguda CXCL12+CXCR4, %36,2 olguda CD133+CXCL12+CXCR4, %6,9 olguda CD133+CXCR4 ekspresyonu izlendi. %15,6 olguda hiçbir boyanma izlenmedi.

II. grupta tümör ile metastazlı lenf nodu karşılaştırıldığında CD133 ve CXCL12`ün tek başına ekspresyonunda istatistiksel olarak fark saptanmadı. Ancak CXCR4`un yalnız ekspresyonunda, CXCL12/CXCR4; CD133/CXCR4 ve CD133/CXCL12/CXCR4 bir arada ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu.

Sonuç: Bu bulgular CD133, CXCL12 ve CXCR4 ekseninin bir prognostik belirteç olabileceğini ve PDAK tedavisinde kombine tedaviler için yeni hedefler sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Pankreas Duktal Adenokarsinomu, Kanser Kök Hücreleri, Kemokinler.

Investigation of the relationship between stem cell markers CD133 and CXCR4/CXCL12 complex and poor prognosis in Pancreatic Ductal Adenocarcinomas.

SUMMARY

Introduction and Purpose: Exocrine pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) accounts for approximately 90% of all pancreatic malignancies. PDAC has a high mortality rate and 5-year survival rate is 7%. It is expected to become the second cause of cancer-related deaths by 2030. The primary treatment for this aggressive malignancy is surgical resection. Unfortunately, due to the low early diagnosis rate, only 10-20% of patients are resectable. Even in operable cases, 5-year survival is low.

One of the reasons for this poor prognosis is the high resistance of PDAC to chemotherapy. One of the underlying causes of chemotherapy resistance is cancer stem cells (CSC) and chemokines.

The CSC's are responsible for tumor recurrence after initiation of the tumor, rapid growth with self-regeneration capacity, resistance to treatment, formation of metastases and recurrence after adjuvant therapy. CSC has been found in many malignant tumors, including pancreatic cancer. CD133 expression has been identified in pancreatic CSCs.

Chemokines are the cytokines that regulate various physiological and immune processes and also increase the growth, proliferation and metastasis of tumor cells. Chemokines display their above functions by binding to and activating chemokine receptors in the cell membrane. Chemokine receptor type 4 (CXCR4) is the suitable receptor for chemokine ligand 12. The CXCL12/CXCR4 complex is one of the most prominent chemokine moderators that make up the tumor microenvironment. The CXCR4/CXCL12 chemokine complex has been found to play an important role in pancreatic cancer development, invasion, metastasis and treatment resistance.

Materials and Methods: 80 cases with pancreatic cancer treated with radical surgery at Bezmiâlem Vakıf University Hospital between January 2012 and December 2019 were included in the study. Archive files of the cases were examined. Of the cases, 56 were male and 24 were female, with an average age of 65.3 (38-84). Among the 80 cases, the tumor was located in the head of the pancreas, in 70 cases, and in the remaining 10 cases in the body/tail of the pancreas. All cases were diagnosed as

pancreatic ductal adenocarcinoma. The cases were divided into two groups based on the 2017 AJCC 8th edition. Among the 22 cases in IA, IB and IIA stages that did not show metastasis of the first group lymph node. The II group consisted of 58 cases with stage IIB and III with lymph node metastasis.

To evaluate the correlation between CXCR4, CXCL12 and CD133, the data were analyzed with IBM SPSS statistical 22.0 package program. The distribution of categorical changes was examined by Chi-square test. Median (min-max), frequency and percentage values were given as descriptive statistics. $p < 0,05$ was considered statistically significant.

Results: Immunohistochemically stained preparations of the cases were examined under a light microscope. In both groups, no staining was detected with CXCR4 and CXCL12 in tumor adjacent and tumor-free pancreatic stroma; and with CD133 in tumor periphery and tumor-free pancreatic tissue. Cells with cytoplasmic and cytomembranous staining were identified as positive CXCR4 and CXCL12 antibody in tumor stroma and metastatic lymph node stroma. The presence of cytomembranous and cytoplasmic staining with CD133 in tumor cells in the lymph node with tumor and metastases was also considered positive.

In the first group, CXCR4 and CXCL12, evaluated in the tumor stroma in 22 cases, showed co-expression in 41% of cases. In 13,6% of cases, all three biomarkers (CXCR4, CXCL12, CD133) were positive. It was observed that CXCR4, CXCL12 and CD133 were not expressed alone. No any staining was observed in 45,5% of cases.

In the second group which tumor stroma and tumor evaluated in 58 cases; CD133 in 1,7%; CXCL12 in 3,4%; CXCR4 in 5,2%; CXCL12+CXCR4 in 17%; CD133+CXCL12+CXCR4 in 36,2% and CD133+CXCR4 in 10,3% of cases was expressed. No any staining was observed in 26,2% of cases.

When two groups were compared, there was no statistically significant difference in CD133, CXCL12 and CXCR4 biomarkers expressing alone and in co-expression of CD133/CXCR4. However, there were statistically significant differences between the two groups in coexistence of CXCL12/CXCR4 and CD133/CXCL12/CXCR4.

In the second group, CXCL12 in 12%, CXCR4 in 1,7%, CXCL12+CXCR4 in 27,6%, CD133+CXCL12+CXCR4 in 36,2%, CD133+CXCR4 in 6,9% of cases was

expressed in metastatic lymph nodes and stroma of the metastatic lymph node. No staining was observed in 15,6% of cases.

When tumor and metastatic lymph node were compared in second group, there was no statistically significant difference in the expression of CD133 and CXCL12 alone. However, a statistically significant difference was found in expression CXCR4 alone and in co-expressions of CXCL12/CXCR4; CD133/CXCR4; and CD133/CXCL12/CXCR4.

Conclusion: These findings suggest that the CD133, CXCL12 and CXCR4 axis may be a prognostic marker and may provide new targets for combined therapies in PDAC treatment.

Key words: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Cancer Stem Cell, Chemokines.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas kanseri en ölümcül tümörlerden biridir. 2030 yılına kadar kanser ile ilişkili ölümlerde ikinci sırayı alması beklenmektedir [1]. 5 yıllık sağ kalım oranı %7 kadardır. Kanser tedavisi ile ilgili hızlı gelişmelere rağmen bu istatistiklerde anlamlı bir değişiklik olmamıştır [2].

Yüksek mortalite nedenlerinden biri erken dönemlerde asemptomatik oluşu, klinik olarak belirti verdiğinde ise ilerlemiş durumda olması ve tedavi seçeneklerinin azalmış olması olabilir. Ancak hedefe yönelik tedavilerin ve immünoterapilerin etkili olduğu melanom, akciğer karsinomu ve meme karsinomu gibi diğer malign tümörlerle karşılaştırıldığında pankreas kanserinde bu yaklaşımların etkili olmadığı ve sistemik kemoterapinin hala standart tedavi olmaya devam ettiğini görmekteyiz [3]. Günümüzde pankreas kanseri tedavisinde dönüm noktası olacak bir ilerleme henüz sağlanabilmiş değildir.

Kanser biyolojisi ile ilgili bilgilerin artması ile kanser stem hücrelerinin tümörün başlatılması, ilerlemesi, rekürrens ve metastazında ve ayrıca tedaviye dirençte sorumlu hücreler olduğu anlaşılmıştır [4].

Tümör hücresinin davranışını yalnız kendi taşıdığı özellikler değil tümör dışı hücrelerden salınan moleküller de yönetir. Bu açıdan tümör mikroçevresi ile ilgili özellikler giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

Pankreas duktal adenokarsinomunda tümör hacminin %90'ına ulaşan kısmını stroma oluşturmaktadır. Tümör mikroçevresi denen bu stroma içindeki hem kanser ile ilişkili fibroblastlar ve immün hücreler gibi hücresel bileşenler, hem de kollagen ve hyalüronik asit gibi ekstraselüler matriks bileşenleri salgıladıkları moleküller ile kanser hücresi büyümesini teşvik ettikleri gibi yine moleküler faktörler aracılığı ile tümör hücresinin immün sistemden kaçışını ve metastazını kolaylaştırırlar. Tümör mikroçevresi bileşenleri yoğun fibrozis oluşturarak kemoterapötiklerin kanser hücresine ulaşmasını da bloke eder [5, 6]. Tüm bu nedenler ile pankreas karsinomunda tümör stromasını hedefleyen tedavilere yönelmek akılcı bir yaklaşım gibi durmakta ve bu tip tedavi ajanları arayışı giderek artmaktadır.

Günlük pratikte giderek daha çok karşımıza çıkan pankreas karsinomlarında klasik prognostik göstergeler dışında farklı belirteçlerin, özellikle de tümör kök hücre ve tümör mikroçevresi ile ilgili belirteçlerin çalışılması gerekliliği düşüncesinden yola çıkarak bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

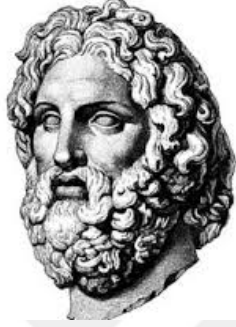
Bu grup içinde ençok rastlanan pankreas kanseri olan duktal tip adenokarsinomlar ele alınmıştır. Kanser kök hücre belirteci olarak CD133 ve tümör mikroevresinden salınan CXCL12 ve onun reseptörü olan CXCR4'n prognostik anlamı araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihsel Bilgi

Pankreas, ilk olarak M.Ö. 336 yılında Yunanlı bir anatomist ve cerrah olan Herophilus tarafından keşfedildi. Herophilus, Mısır İskenderiye'deki eski tıp okulunun kurucularından biri olup halk kitleleri önünde insan vücudunun diseksiyonlarını yapan ilk kişi idi (**Şekil 2.1**).



Şekil 2. 1 Herophilus (M.Ö 335-280) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective).

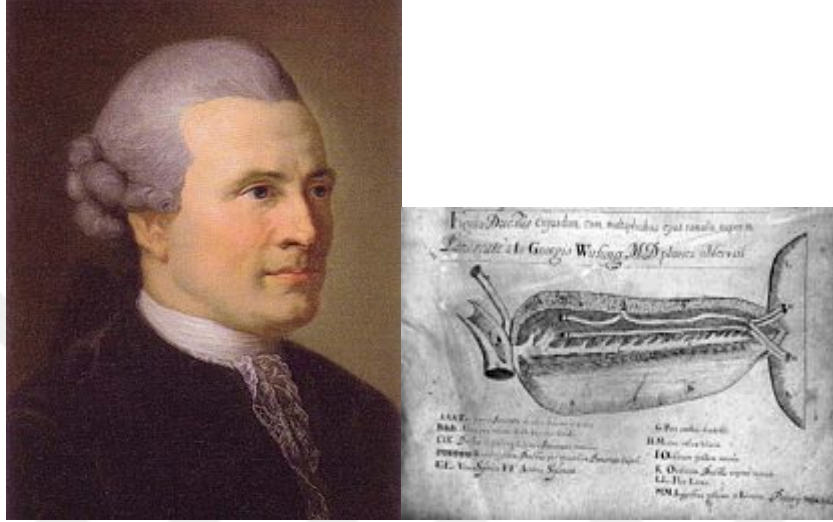
Herophilus'tan dört yüz yıl sonra, MS 1. veya 2. yüzyılda, Efes'li bir cerrah olan anatomist Ruphos “pankreas” adını kullandı. Pankreas, Yunanca “pan” (tüm) ve “kreas” (et) kelimelerinden meydana gelmektedir.

Roma da “Gladyatörler Hekimi” olan Galen (Claudius Galenus 138-201), pankreasın rolünün, arkasında yatan büyük kan damarlarını korumak için bir yastık görevi yapmak olduğunu ileri sürmüştür. Galen'in düşüncesi 1000 yıldan uzun süre kabul gördü (**Şekil 2.2**).



Şekil 2. 2 Claudius Galenus (M.S 138-201) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective).

Johann Georg Wirsung, İtalya'nın Padua kentindeki San Francisco Manastırı'nda 1642`de pankreas kanalını keşfetmişti. Wirsung, keşfettiği kanalın işlevini bilmiyordu. “Bu bir arter mi yoksa venöz bir damar mı, içinde kan görmedim” diyen Wirsung bu keşiften bir yıl sonra bir öğrencisi tarafından öldürüldü. Meslektaşları bu kanalı onun anısına “Wirsung Kanalı” olarak adlandırdılar (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3 Johann Georg Wirsung (1589-1643) (Williams, The nobel pancreas: a historical perspective)

22 yaşındaki Regnerus de Graaf (1641-1673) Leiden`de bir öğrenci idi. 1663`te bir köpeğin pankreas kanalını kanüle etti. Böylece De Graaf, tıbbi bilgiler elde etmek için ilk deneysel çalışmayı gerçekleştiren kişi oldu [7] (Şekil 2.4).



Şekil 2. 4 Regnerus de Graaf (1641-1673) (Williams, The Nobel pancreas: a historical perspective).

Paris'teki bir öğrenci olan D. Moyses, pankreasın histolojisini 1852'deki tezinde tanımlayan ilk kişi oldu. Kabaca çizilmiş olsa da ekzokrin asinus yapısını tasvir etti.

Rudolph Virchow'un başkanlığını yaptığı Berlin Patoloji Enstitüsü'nde bir zamanlar öğrenci olan Paul Langerhans 1869 yılında yaptığı tez çalışmasında, pankreas adacıklarını tanımladı ve bu yapılar daha sonra pankreastaki endokrin sistem olan "Langerhans adacıkları" olarak bilindi.

1889'da Strazburg'lu Joseph F. von Mering (1849-1908) ve Oskar Minkowski (1858-1931) köpeklerde total pankreatektominin diyabetle sonuçlandığını gösterdiler.

1921'de Toronto Üniversitesi'nde genç bir ortopedi cerrahı olan Frederick Grant Banting (1891-1941) ve tıp öğrencisi Charles Herbert Best (1899-1978) insülini keşfettiler. Yaptıkları deneyde ilk önce köpeğin pankreas kanalını bağladılar. Daha sonra, pankreas asinüslerinin dejenerasyon olması için 8-10 hafta beklediler. Daha sonra atrofik pankreas eksize edildi ve özütü (insülini) çıkarıldı. Daha sonra, bu pankreas özütünü pankreası çıkarılarak kontrolsüz diyabet oluşturulmuş bir diğer köpeğe enjekte ettiler ve köpek iyileşti. Takip eden 6 ay içerisinde, 14 yaşında kontrolsüz diyabetten ölmekte olan Leonard Thompson adlı hasta başarılı bir şekilde rafine edilmiş bir ekstraktla tedavi edildi. Bundan sonra 18 ay içinde insülin birden fazla ilaç firması tarafından pazarlandı.

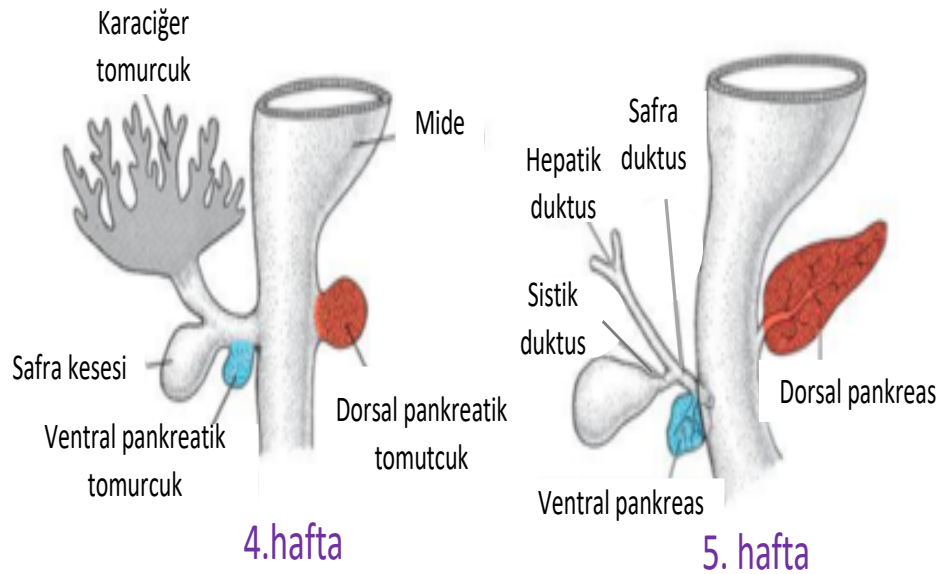
1958'de Frederick Sanger, insülinin moleküler yapısının belirlendiği için Kimya dalında Nobel Ödülü'ne layık görüldü. Sanger ayrıca 1980 yılında da "nükleik asitlerdeki bazı dizilerinin belirlenmesiyle ilgili katkıları nedeniyle" ikinci kez Nobel ödülü almıştır.

1898'den başlayarak, ampulla Vateri ve pankreas başı rezeksiyonları yapıldı: Codivilla (1898) ve Halsted (1898), Kausch (1909), Hirschel (1913), Tenani (1918) ve Whipple (1918). Bunların içinde Allen O. Whipple (1881-1963) diğer meslektaşlarından daha fazla öne çıkmış ve "Pankreas Cerrahisinin Babası" olarak tanınmıştır [8].

2.2 Pankreas Embriyolojisi

Pankreas bezinin gelişimi diğer bezlere benzer şekilde olur. İlk olarak, kanal yapısı ortaya çıkar ve daha sonra göç eden hücreler bu kanalların etrafında lobülleri

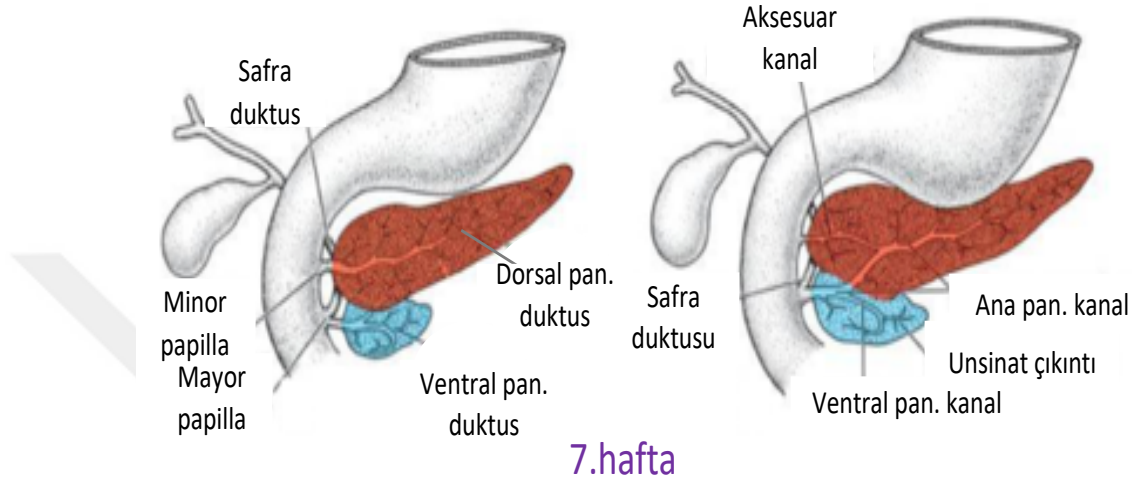
oluşturur. Gastrointestinal sistemden gelişen pankreas endodermal orjinlidir [9]. Pankreas, fetal hayatın dördüncü haftasında ön bağırsak (*foregut*) kısmında duodenumun iç yüzünü döşeyen endodermden ayrılarak beliren arka ve ön pankreas tomurcukları olarak gelişmeye başlar (ventral ve dorsal pankreas) [10]. Ventral tomurcuk, pankreas başının alt kısmı ve unsinat çıkıntısını oluştururken; dorsal pankreastan, geri kalan pankreas kısmı oluşur (pankreas başının üst kısmı, boyun, gövde, kuyruk) [11] (**Şekil 2.5**). Pankreasın geliştiği ön bağırsak (*foregut*) daha sonra uzayıp “C” şeklini alacak ve önden sağa doğru ventral pankreas duodenum ile beraber dönecektir [10]. Mide ve duodenumun rotasyonu sırasında ventral tomurcuk sağdan sola doğru kayar ve sonunda, ventral tomurcuk dorsal tomurcuğun altında ve arkasına yerleşir. Daha sonra, gebeliğin 7. haftasında, iki tomurcuğun parankim ve duktus sistemleri birleşir (**Şekil 2.6**).



Şekil 2. 5 Pankreas Embriyolojisi: Dorsal ve ventral pankreas (Douglas A. Melton, Development of the Endocrine Pancreas).

Her tomurcuğun kendi bağımsız kanalı vardır [12]. Tomurcuklar birleştikten sonra duodenum segmentindeki dorsal tomurcuk kanalının bir kısmı atrofiye uğrarken, kanalın geri kalan kısmı ventral tomurcuğun kanalı ile birleşerek ana pankreas kanalını oluşturur. Ana pankreas kanalı (Wirsung) koledok ile papilla vateriye açılır. Dorsal pankreas kanalının distalindeki kısım aksesuar kanal (Santorini) olarak kalır. Santorini

kanalı ise minor papillaya açılır. İnsanların %5-10'unda ventral ve dorsal pankreas kanalları birleşmez ve buna pankreas divisum denir [10]. Pankreas divisumu olan bireylerin çoğu asemptomatik olsa da, bu pankreas anomalisine bağlı tekrarlayan akut pankreatit, kronik pankreatit ve pankreas tipi ağrı görülebilir [13].



Şekil 2. 6 Pankreas Embriyolojisi: Dorsal ve ventral pankreas füzyonu. Safra ve pankreas kanallarının birleşmesi (Douglas A. Melton, Development of the Endocrine Pancreas).

İkinci ve üçüncü gestasyonel ayda pankreas parankimi farklılaşır [14]. Ana pankreatik kanallardan ikincil kanallar tomurcuklanır ve bunlardan pankreatik lobüller yaratarak endodermal hücrelerin implante edildiği daha küçük kanallar oluşur. Üçüncü gebelik ayında, endo ve ekzokrin kısımlara ayrılır [15]. İnsülin eksprese eden hücreler ilk ortaya çıkanlardır ve ilk trimesterde hakim endokrin hücre popülasyonu olarak kalırlar. 21. haftada, üç endokrin hücre popülasyonunun oranları yetişkin bir pankreasın bileşimine benzer [16].

İnsan pankreasında farklı hücre gelişimini düzenleyen farklı sinyal yolları mevcuttur. Multi-potent progenitör pankreas hücreleri, bu sinyal yollarıyla herhangi bir pankreas hücresi yönünde farklılaşabilir: asiner hücreler, endokrin hücreler ve duktal hücreler. Bir insan embriyosunda, yaklaşık dördüncü gebelik haftasında sonik Hedgehog (SHH) proteini, pankreas ve duodenal homeobox faktör 1 (PDX1) tespit edilebilir [17]. Beşinci gebelik haftasında, ventral ve dorsal pankreas tomurcukları pankreas gelişimi için gerekli olan çeşitli transkripsiyon faktörleri ile işaretlenir:

PDX1, SOX9, GATA bağlayıcı protein 4 ve 6 [18]. Sekizinci gebelik haftasından itibaren, pankreatik kanal hücreleri SOX9, FOXA2 ve PDX1 varlığı ile karakterize edilebilir. Endokrin hücrelerde, özellikle gelişen beta hücrelerinde, NEUROG3 ekspresyonu artar. Ayrı bir hücre çizgisinde pankreatik tomurcuk hücrelerinden farklılaşan asiner hücreler, önemli GATA4 seviyelerine sahiptir [17]. Asiner dokunun tam gelişimi, postnatal döneme kadar uzanır [19].

2.3 Pankreas Anatomisi

Yenidoğanda pankreas 2-3 gr ağırlığında iken bir yaşında 7 gr'a ulaşır. Yetişkinlerde yaklaşık 12–15 santimetre uzunluğunda ve 100 gr ağırlığında; kesit yüzü lobule ve somon renklidir. Erkeklerde kadınlara göre biraz daha büyüktür. Bezin ağırlığı 40 yaştan sonra düzenli şekilde azalarak 90'lı yaşlarda ortalama 70 gr'a kadar düşer [20].

Pankreas insanda karnın sol üst kısmında, arka duvarında, 1. ve 2. lomber vertebra hizasında yer alan, ikincil retroperitoneal bir organdır. Pankreas, sağda duodenum, solda dalak arasında retroperitoneal alanda transvers olarak uzanır. Üstte bursa omentalis, önde transvers mezokolon ve aşağıda omentum majus ile ilişkilidir [14].

Anatomik olarak, pankreas baş, unsinat çıkıntı, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere 5 kısımdan oluşur (**Şekil 2.7**).

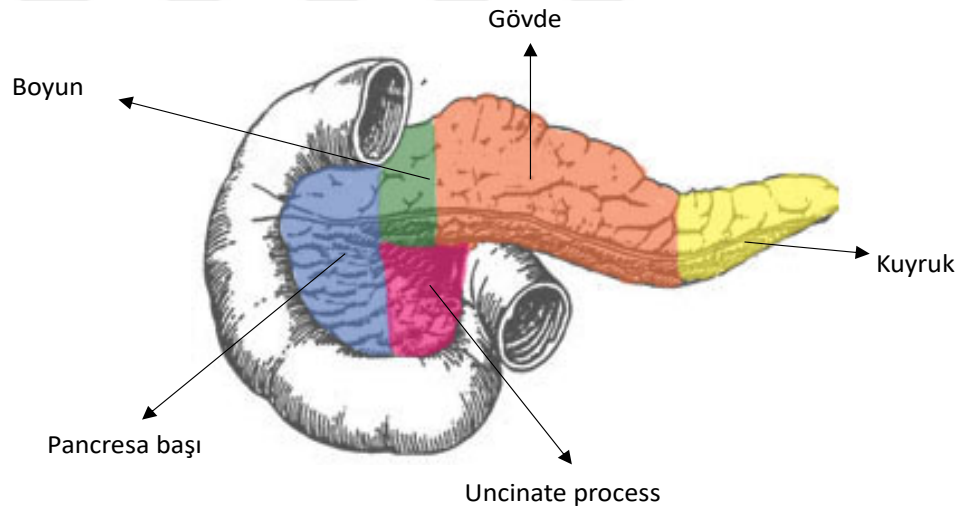
Pankreas başı (*caput*) duodenum kavisinde yerleşir, L2 düzeyinde ve orta hatta yakındır. Pankreas başının arkasında distal koledok, sağ böbreğin damarları, vena kava inferior yer alır. Yukarıda portal venden, aşağıda mezenterik vene uzanan hayali bir plan pankreas baş kısmını boyun kısmından ayırır [21].

Unsinat çıkıntı (*processus uncinatus*), pankreas başından aşağı doğru uzanan bir çıkıntı gibidir. Portal ven ve superior mezenterik damarların arkasında, aort ve inferior vena kavanın önünde yer alır. Sagittal kesitte unsinat çıkıntı superior mezenterik arter ile aort arasında, sol renal venin üzerinde, duodenumun 3. ve 4. parçasının altındadır. Uncinat çıkıntı her insanda olmayabilir veya superior mezenterik damarları tamamen çevreleyebilir [21].

Boyun (*collum*) Pankreasın görece daralmış bir kısmı olup, üstte pilor ve duodenum birinci kısmı, altta vena porta, superior mezenterik ven ve splenik ven bulunur. Genişliği ortalama 2cm'dir [21].

Gövde (corpus): Pankreasın en uzun kısmı olan gövdesi mide arkasında yerleşir. Pankreasın gövdesi superior mezenterik damarların solunda yer alır ve duodenumun 4. kıtası, Treitz ligamanı, bazı jejunal anslar, transvers kolonun sol tarafı ile komşudur. Gövdenin üst kenarı sağda çöliak aks ve hepatik arter, solda splenik damarlarla komşudur. Gövdenin ön yüzü omental bursanın arka duvarının pankreas ve mide yüzeyini ayıran çift periton tabakası ile örtülüdür. Bu tabakanın aynı zamanda transvers mezokolon ile de komşuluğu vardır ve iki tabakaya ayrılır; bir yaprağı ön yüzü, diğeri inferior yüzü kaplar. Arka yüzeyi aort, superior mezenterik arter çıkışı, diafragmanın sol krusu, sol adrenal, perirenal fasya, sol böbrek damarları, sol böbrek ve splenik ven ile komşudur [21].

Kuyruk (cauda) splenorenal ligamanın içinde yer alır. Dalak hilusuna kadar uzanır ve görece mobildir [21].

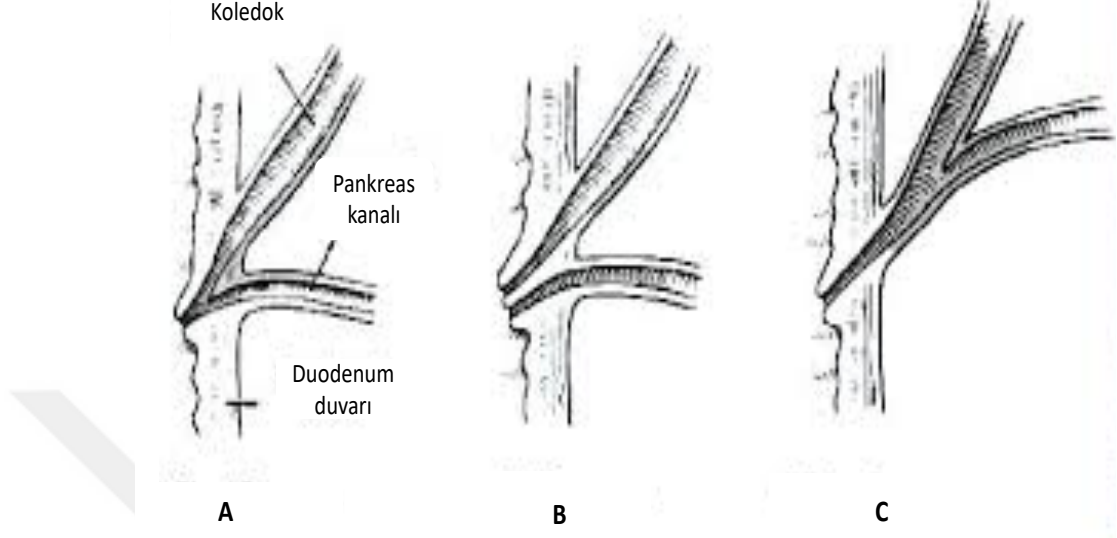


Şekil 2. 7 Pankreas anatomisi (Louisa Thompson, The Pancreas).

2.3.1 Pankreas ve safra kanalları

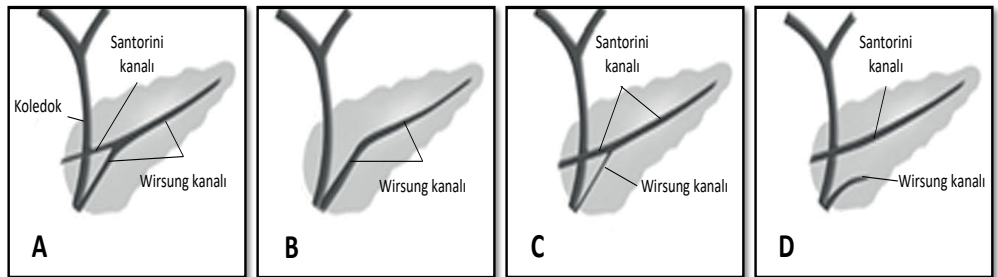
Pankreasın ana kanalı olan Wirsung, organın kuyruk kısmından başlayıp, sağa doğru gövde, boyun ve baş kısmını geçerek Papilla Vateri'ye ulaşır. Yaklaşık 15-20 cm uzunluğunda; 3-3,5 mm çapındadır ve 15-20 kanalcık, bu kanala açılır. Ana pankreas kanalı duodenuma açılmadan önce genellikle ana safra kanalı (koledok) ile birleştikten sonra (Y şeklinde açılma) ampulla Vateri'ye açılır. Bunun dışında iki

varyasyon daha bulunur. Birinde iki kanal ayrı seyrederek, ama duodenuma aynı orifisten açılır (V şeklinde açılma). Üçüncü varyasyonda ise kanallar duodenuma ayrı ayrı açılırlar (U şeklinde açılma) [22] (**Şekil 2.8**).



Şekil 2. 8 Wirsung ve koledok arasındaki ilişki (Ampulla vater varyasyonları). A: V şeklinde açılma. B: U şeklinde açılma. C: Y şeklinde açılma (Ricard J. Rizzo, Congenital Abnormalities of the Pancreas and Biliary Tree in Adults).

Santorini olarak isimlendirilen aksesuar kanal ise baş kısmını drene eder ve daha kısadır. %60 vakada her iki kanal duodenuma açılır. %30 vakada Wirsung kanalı tüm sekresyonları taşır ve Santorini kör uçla sonlanır %10 vakada Santorini tüm sekresyonları taşır, Wirsung küçük veya yoktur [23-25] (**Şekil 2.9**).

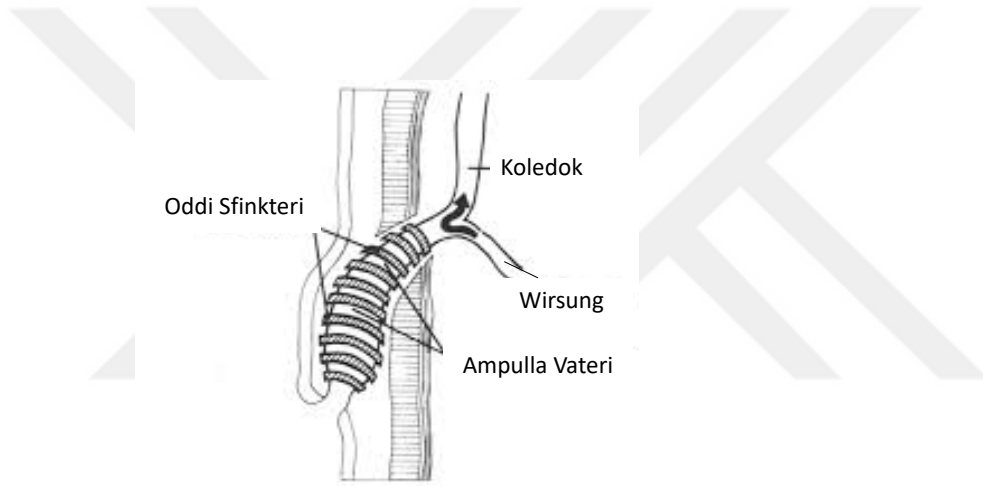


Şekil 2. 9 Wirsung ve Santorini varyasyonları. A: Her iki kanal duodenuma açılır %60. B: Wirsung kanalı tüm sekresyonları taşıyor %30. C-D: Santorini kanalı tüm sekresyonları taşır

taşıyor, Wirsung küçük veya rudment halindedir %10 (Zehra Hilal Adibelli, Anatomic variations of the pancreatic duct and their relevance with the Cambridge classification system)

Ampulla Vater (Hepatopankreatik Ampulla): Ana pankreas kanalı (Wirsung) ve ana safra kanalı (koledok) birleştikten sonra genişler sonra duodenuma açılırlar. Bu geniş kısma Ampulla Vateri denir [26].

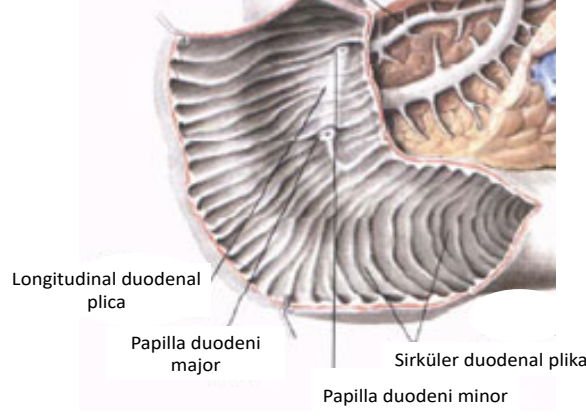
Oddi Sfinkteri: Ampulla Vateri çevresini saran düz kastan oluşan sfinkterdir. Safra kanallarındaki 15-20 cm sıvı, pankreas kanalında bunun iki katı kadar bir istirahat basıncı oluşturur (açlıkta). Yemek yiyince bu sfinkter gevşer, safra kesesi kontrakte olur (kasılır) ve safra gıdaların içine/duodenuma boşaltılır [26] (**Şekil 2.10**).



Şekil 2. 10 Ampulla Vateri çevresini saran Oddi sfinkteri (Erik Haraldsson, The Papilla of Vater).

Papilla Vater (Papilla Duodeni Major): Ampulla Vater'in açıldığı kısımda, duodenumdaki kabarıklığıdır. Diğer bir deyişle içinde Oddi sfinkteri ve Ampulla Vater'i barındırır. Duodenumun ikinci kıtasında medial (iç) yüzdedir. ERCP işleminde papilla vater bulunur, içine girilir ve kesilir (endoskopik sfinkterotomi) [27].

Papilla Duodeni Minor (Minör Duodenal Papilla): Santorini kanalının açıldığı yerde, duodenumdaki kabarıklık. Majör papillanın 1-2 cm proksimalindedir [13] (**Şekil 2.11**).



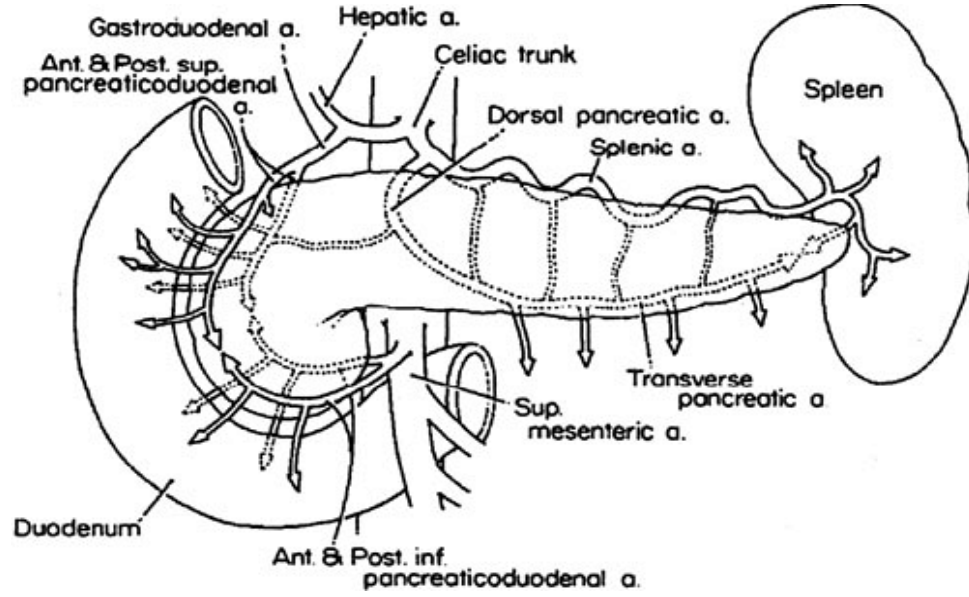
Şekil 2. 11 Papilla Vateri ve Papilla Duodeni Minor (Erik Haraldsson, The Papilla of Vater).

2.3.2 Pankreasın arterleri.

Fetal vasküler sistem iki ayrı morfogenez mekanizması ile gelişir: vaskülogenez ve anjiyogenez. Vaskülogenez, mezodermden anjiyoblastların ortaya çıkması ile başlar. Anjiyoblastlar, embriyonun ve yumurta sarısı kesesinin (*yolk sac*) belirli kısımlarına ayrı ayrı veya küçük kümeler halinde göç eder [28]. Katsumoto ve Kume kemokin reseptörü CXCR4'ün kan damarı progenitörlerinin göçünü düzenlediğini bildirmiştir [29].

Pankreas arterleri hem çölyak arter hem de superior mezenterik arterden gelir. Hepatik arterden önce sağ gastrik sonra gastroduodenal arter çıkar. Gastroduodenal arterden, superior pankreatikoduodenal arter çıkar. Hemen iki dala ayrılır (anterior ve posterior). Benzer şekilde, superior mezenterik arterden ilk dal olarak inferior pankreatikoduodenal arter çıkar. Bu da hemen ikiye ayrılır (anterior ve posterior) [30] (**Şekil 2.12**).

Bu damarlar birbirleriyle anastomoz yaparlar hatta birbirlerinin devamı gibidirler. Başka bir deyişle burada çölyak arter ile süperior mezenterik arter anastomoz yapmış olur. Bazan çölyak arter stenozunda (tromboz), retrograd olarak superior mezenterik arterden kanlanma sağlanır [31, 32].



Şekil 2. 12 Pankreasın arterleri (Jamieson NB, The prognostic influence of resection margin clearance following pancreaticoduodenectomy for pancreatic ductal adenocarcinoma).

Dalak arteri, bezin üst sınırının arkasından geçerken pankreasa birden fazla dal verir. Pankreas gövdesi ve kuyruğu, splenik arterin dalları ile beslenir [33]. İnferior pankreatik arter: Superior mezenterik arterden çıkar, pankreas alt arka kenarında (splenik artere paralel olarak) ilerler. Splenik arter ve inferior pankreatik arteri birbirine üç arter bağlar (merdiven gibi). Bunlar medialden laterale, dorsal pankreas arteri, büyük (*great*) pankreas arteri ve kaudal (*caudal*) pankreas arterleridir [30].

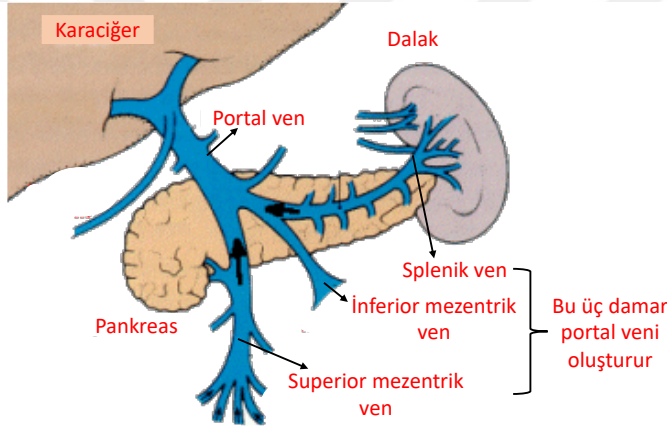
2.3.2.1 İnsülo-asiner portal sistem

Asiner dokunun adacıktan dönen venöz kan ile perfüzyonuna denir. Arteriol önce adacığın merkezine girer (β hücreleri) ve burası kanlanır, sonra adacığın çevresi kanlanır, venüllerle toplanan kan asiner dokudan geçer ve en son burası kanlanmış olur. Pankreas kanlanmasının %20-30'u bu yolla sağlanır. İnsülin zengin kan, asiner sistemin salgısının düzenlenmesinde rol alır. Yani diğer bir deyişle, pankreasın endokrin kısmı, ekzokrin kısmını düzenler [34].

Asiner sistemin kanlanmasının %70-80 gibi büyük kısmı ise direkt olarak pankreas arterleri ile sağlanır. Burada da endokrin doku bypass edilir [34].

2.3.3 Pankreasın venleri

Venöz sistem gebeliğin üçüncü haftasının sonunda arteriyel sistemi ile aynı anda oluşur [35]. Venöz kan damarları, embriyonun damar ağından ve amniyotik keseden kaynaklanır. Superior ve inferior mezenterik damarlar ve dalak veni, sağ vitellin venden gelişir. Böylece portal ven 3 damardan kaynaklanır: üst ve alt mezenterik ven ve dalak veni. Toplumun üçte birinde, alt mezenterik ven, dalak damarına (gelişmekte olan portal damarın yakınında), üçte birinde superior mezenterik damara ve geri kalanında dalak damarının ve superior mezenterik damarın birleştiği yere boşalır. Pankreas damarları karşılık gelen arterlere eşlik eder ve büyük damarlara, yani süperior mezenterik damar, dalak damarı ve portal damara akar [36, 37] (Şekil 2.13).

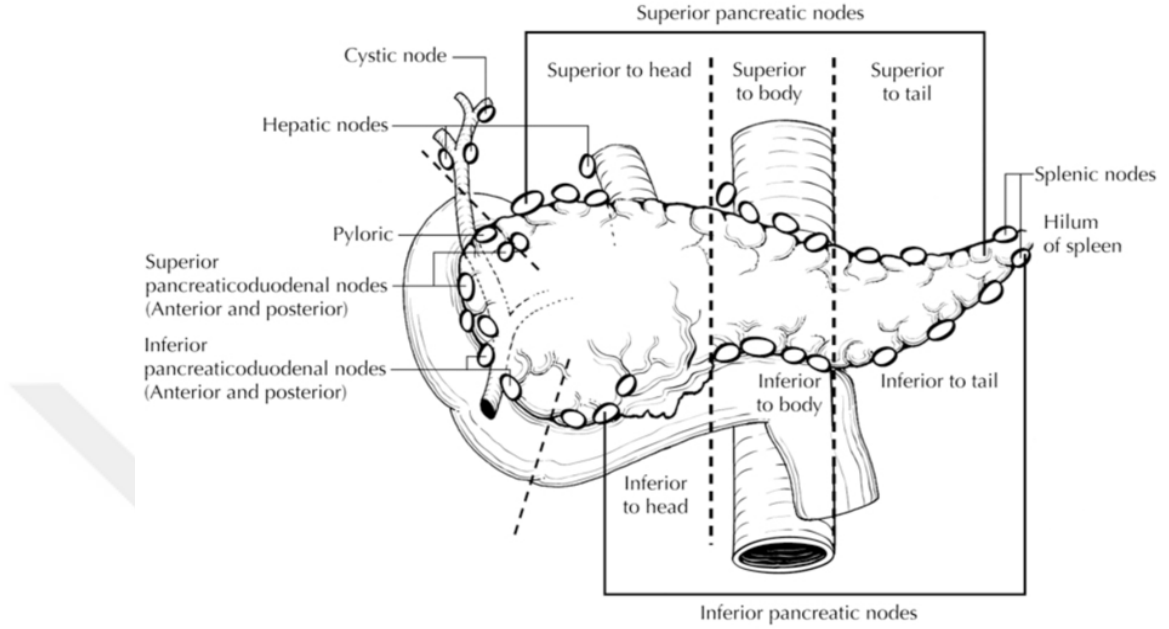


Şekil 2. 13 Pankreasın venoz drenajı (Anil Chauhan, The pancreas).

2.3.4 Pankreasın lenfatik drenajı

Pankreasta yaygın bir lenfatik ağ vardır. Lenfatik sistem parankim içinde interlobüler alandan başlayıp küçük kanalcıkları oluşturarak önce pankreas yüzeyine, buradan da bölgesel lenf bezlerine ulaşır. Lenf kanalları, sıklıkla kan damarlarına paralel olarak seyrederek. Pankreas başının ana lenfatikleri önce ön ve arka pankreatoduodenal lenf bezlerine, daha sonra ise pankreas başının alt bölümündeki lenf bezlerine, barsak lenf kanallarına ve ardından da jukstaaortik ve aort çevresi lenf bezlerine ulaşırlar. Pankreastan çıkan bazı lenfatik kanallar ise direkt olarak lomber lenfatik kanallara, sisterna siliye veya duktus torasikusa açılabilir. Bu yüzden pankreas kanserinde genellikle lenf nodu tutulumu vardır ve rezeksiyon

sonrası lokal nüks oranı yüksektir. Süperior mezenterik ven, hepatic arter, porta hepatis, transvers kolon ve splenik ven boyunca lenfatik yayılım olabilir [38, 39] (Şekil 2.14).



Şekil 2. 14 Pankreasın lenfatik drenajı (Jamieson NB, The prognostic influence of resection margin clearance following pancreaticoduodenectomy for pancreatic ductal adenocarcinoma).

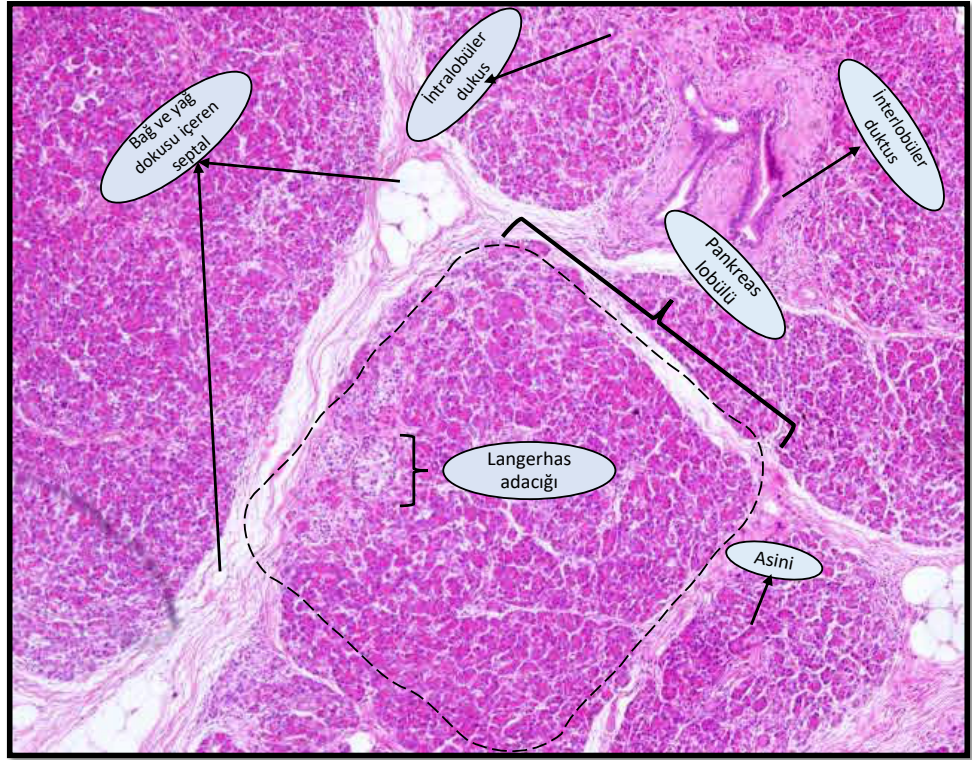
2.3.5 Pankreasın sinirleri

Pankreas sempatik ve parasempatik sistem tarafından innerve edilir. Çöliak ganglion hem sempatik hem de parasempatik innervasyon merkezidir. Sempatik sistem endokrin ve ekzokrin salgıları artırır (adacık hücreleri ve asiner hücreler); parasempatik sistem ise azaltır. Pankreasta afferent duyu sinirleri de boldur (somatik sistemin parçasıdır). Bu yüzden ilerlemiş pankreas kanseri ile akut ve kronik pankreatitte ciddi ağrı ortaya çıkar [9].

2.4 Pankreas Histolojisi

Pankreas hem ekzokrin hem de endokrin bir organdır. Tüm pankreasın %95'ini (%85'i asiner, %10'u duktal hücreler) ekzokrin pankreas, %1-2'sini endokrin pankreas, geri kalan kısmını da ekstrasellüler matriks ve damarlar oluşturur. Pankreasta yaklaşık 1 milyon adacık vardır. Bu adacıklar pankreas kanlanması %20-30'luk kısmını alır [40].

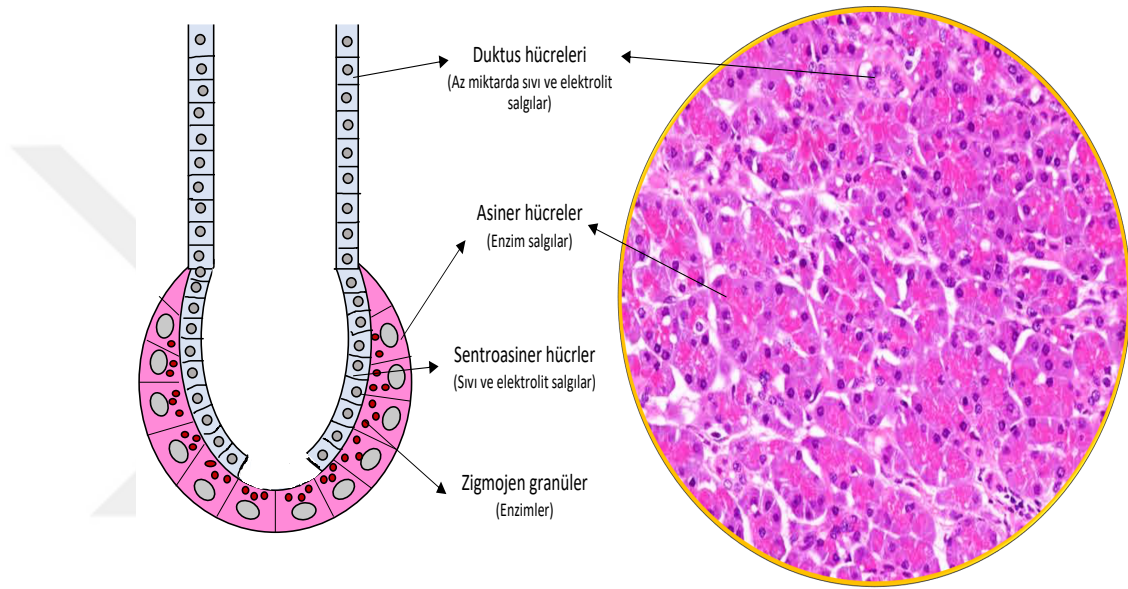
Mikroskopik olarak pankreas 1-10 mm'lik lobüller şeklinde dizilmiştir. Lobüller içindeki parankimin tamamı asini, duktus ve Langerhans adacıklarını da içeren pankreasın epitel elemanlarından meydana gelir (Şekil 2.15).



Şekil 2. 15 Pankreasın H&E (x40) kesiti (BVÜ arşivinden).

Ekzokrin pankreas histolojisi, asiner hücreler, sentroasiner hücreler ve duktus hücrelerinden oluşmaktadır. Asiner hücreler büyük, piramidal şekildedir ve yüksek derecede polarizasyon gösterir. Luminal kenarında belirgin mikrovilluslar vardır; apikal sitoplazma belirgin eozinofilik periodik asit-Schiff (PAS) pozitif zimojen granüller içerir ve bazal bölgedeki sitoplazma ise granüler endoplazmik retikulum yoğunluğundan dolayı belirgin bazofildir. Sentroasiner hücreler isimlerinden de anlaşılacağı gibi asinusların ortasında yerleşir. Sitoplazmaları daha soluk ve nükleusları ovaldir. Arada bulunan duktus (interkale –*intercalated*) duktus hücreleri ile karışık durumda olup, asinusu drene ederler. İnterkale duktusların birleşmesi ile soluk sitoplazmalı küçük küboidal hücrelerle döşeli intralobüler duktuslar oluşur. Bunlar müsin salgılayan kolumnar hücrelerle döşeli olan daha geniş interlobüler

duktuslarla devam eder. Büyük miktarda goblet hücreleri içermeleri dışında, Wirsung ve Santorini duktuslarının histopatolojik özellikleri interlobüler duktuslarla benzerlik gösterir. 20-40 asiner hücre merkezi bir lümen etrafında dizilerek asini oluşturur. Pankreasın lobülleri, kapiller damarlar içeren bağ dokusu ile ayrılan asinilerden oluşur. Asiner hücreler sindirim enzimleri sağlarken diğer bir asinus hücresi olan sentroasiner (*centroecinar*) hücreler sıvı ve elektrolit salgılar (bikarbonat transferi için karbonik anhidraz içerirler) [41] (Şekil 2.16).



Şekil 2. 16 Pankreasın asinus yapısı ve H&E (x200) kesiti (BVÜ arşivinden).

2.4.1 Histokimya

Zimojen granüller Periodik Asit Schiff (PAS) boyası ile (+) pozitif boyanır ve diastaza dirençlidirler. Asiner hücrelerde, enzimatik olarak aktif lipaz varlığında pozitif olan bütirat esteraz boyalarla ortaya çıkarılabilir [42].

2.4.2 İmmünohistokimya

Asiner hücrelerde tripsin, kimotripsin, lipaz, amilaz ve elastaz gibi pankreatik enzimler immünohistokimyasal olarak pozitifdir. CAM 5.2 antikoru (sitokeratin 8 ve 18) pozitif iken AE1, sitokeratin 7, 19 ve 20 negatiftir. Asiner hücrelerde müsün üretilmez ve pankreatik kanser ilişkili antijen (DUPAN-2), karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijen (CA19.9) gibi glikoproteinler için

immünohistokimyasal boyanma negatiftir. Kromogranin ve sinaptofizin gibi endokrin belirleyiciler de negatiftir [42].

Duktal hücreler, sitokeratin 7, 8, 18 ve 19 içerir; bunun yanısıra AE1, AE3 ve CAM 5.2 antikoları ile de immünohistokimyasal olarak boyanır. Sitokeratin 20 ile boyanma yoktur. Enzim ve endokrin belirleyicilerle de boyanma yoktur [42]

2.5 Pankreas Fizyolojisi

2.5.1 Ekzokrin pankreas salgı ve fonksiyonları

Pankreas günde ortalama 1500-2000 ml berrak, izotonik ve alkali (pH: 8.0- 8.3) ekzokrin salgı yapar. Ekzokrin pankreasta duktal sistem salgıları taşıırken, bir miktar sıvı ve elektrolit sekresyonu da yapar [43].

Asiner pankreas (ekzokrin pankreas) 3 ana enzim grubu salgılar; amilazlar, lipazlar ve geniş bir grup olan proteazlar (tripsinojen, kimotripsinojen, prokarboksipeptidaz A ve B, ribonükleaz, deoksiribonükleaz, proelastaz) [43].

Amilaz: Pankreas ve tükürük bezinden salgılanır. Amilaz nişasta ve glikojeni glukoz ve diğer moleküllere parçalar. Pankreastan aktif formda salgılanan tek enzimdir. Akut pankreatitte kan seviyesi artar [43].

Lipaz: Yağları parçalar. Gliserol ve alkol esterlerini hidrolize eder. Safra tuzlarının varlığında aktive olur. pH 7-9 arası optimal çalışır [43].

Proteaz: Bu enzimler proteinleri hidrolize ederek parçalar. Pankreastan salgılanan tripsinojen ve kimotripsinojen inaktif formda olan proenzimlerdir. Duodenumdan salgılanan başka bir enzim olan enterokinaz ile aktif formlarına dönüştürülür; tripsin, kimotripsin. pH'nın 7'nin altına düşmesi de enzimleri aktive eder [44].

Pankreasın ekzokrin salgısı, nöral ve hormonal mekanizmalarla kontrol edilir. Sinirsel uyarılardan N. Vagus sorumludur. Direkt vagal uyarı enzimden zengin düşük volümde pankreatik salgıya neden olur. N. Vagus aynı zamanda mideden asit salınımı yoluyla indirekt olarak ekzokrin salgı üzerine etki eder. Hormonal kontrolde,

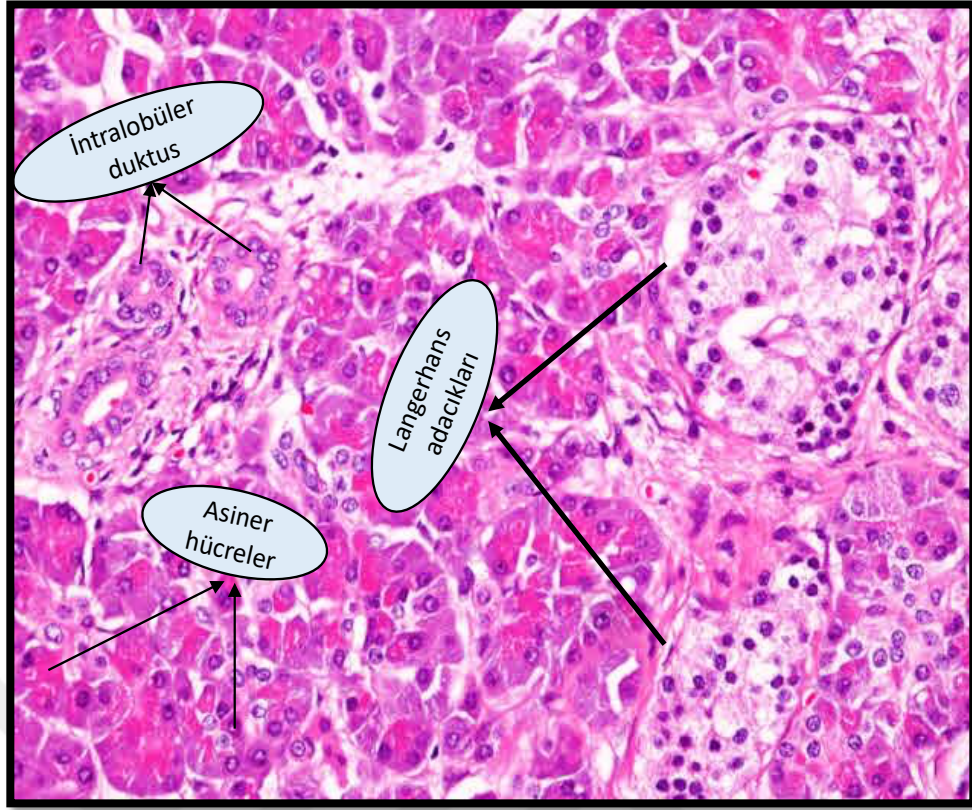
duodenumda sentez edilen sekretin ve kolesistokinin temel olarak rol alır. Bu iki hormonun dışında gastrin, pankreatik polipeptid, glukagon gibi diğer bazı hormonlar da az miktarda etkiye sahiptir [43].

Duktal sıvı ve bikarbonat sekresyonu temel olarak sekretin hormonunun kontrolündedir. Sekretin, duodenum mukozasından ince barsak lümenindeki aside yanıt olarak salgılanır. Bikarbonat sekresyonu duodenal içerik pH:4.5'in altına düştüğünde artar [43].

2.5.2 Endokrin pankreas salgı ve fonksiyonları

Pankreasın endokrin kısmı, yetişkenlerde bezin hacimsel olarak sadece %1-2'sini oluştururken yenidoğanda bu oran yaklaşık %10'dur (Şekil 2.17). İlk olarak Langerhans (1869) tarafından tanımlanan bu adacıklar yaklaşık 300 hücreden oluşur. Bugün, pankreasın endokrin kısmına genellikle Langerhans adacıkları denir. İki tip adacık bulunur. Kompakt adacıklar; %90'ını oluşturur, genellikle 75 -225 μm boyutlarındaki sınırları keskin adacıklar yanısıra 50 μm kadar küçük veya 280 μm kadar büyük adacıklar da bulunabilir. Kompakt adacıklar baskın olarak bezin gövde ve kuyruk kısmında bulunur ve baş kısmında daha azdır [40]. Diffüz adacıklar; embriyonik ventral lobdan türer ve bezin baş posteroinferior kısmı dışında başka yerde bulunmaz. Bu adacıklar kompakt adacıklardan sayıca çok daha azdır ve 450 μm kadar büyüklükte olabilirler. Salgılanan hormonlar kan dolaşımı yoluyla hedef organlarına ve dokularına taşınır. Bu hormonlar kan glukoz dengesini sağlar [45].

Langerhans adacıklarında farklı hormonlar üreten 5 çeşit hücre bulunur. (1): Glukagon üreten Alfa hücreleri (α , %15); (2): insülin üreten Beta hücreleri (β , %70); (3): somatostatin üreten Delta hücreleri (δ , %10); (4): pankreatik polipeptid üreten PP hücreleri (F, %5) ve (5): grelin üreten Epsilon hücreleri (ϵ , <%1).



Şekil 2. 17 Pankreasın Langerhans adacığını gösteren H&E (x200) kesiti (BVÜ arşivinden).

İnsülin üreten β hücreleri adacığın merkezindedir ve endokrin adacığın %70'inin oluşturur. Pankreasın değişik yerlerinde, bazı adacık hücrelerindeki oranlar da değişir. Unsinat çıkıntıda PP hücreleri fazla, α hücreleri azdır. Gövde ve kuyrukta ise tam tersi α hücreleri fazla, PP hücreleri azdır. β ve δ hücreleri tüm pankreasta homojen dağılır.

Langerhans adacıklarında üretilen diğer hormonlar; VIP/Vazoaktif İntestinal Polipeptid, serotonin, pankretostatin, CGRP/Calcitonin Gene Related Peptide, nöropeptit Y, gastrin-releasing peptittir [46].

Pankreas hormonlarının fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir:

İnsülin: 2 polipeptid zincirinden oluşan bir aminoasid-peptittir. Beta hücrelerinde sentezlenir. Tüm vücutta glukoz konsantrasyonunu uptake'i artırarak düşürür. Lipogenezi artırır, lipolizi azaltır, protein sentezini artırır [43].

Glukagon: Tek zincirli bir amino-asid-peptittir. Alfa hücrelerinde sentezlenir. Hepatik glikojenolizi artırarak kan glukoz düzeyini artırır. Bazı düz kasları gevşetir: mide, duodenum ve Oddi sfinkteri gibi [43].

Somatostatin: Tetradekapeptittir. Gamma hücrelerinde sentezlenir. İnsülin salınımını inhibe eder. Çok geniş bir inhibitör fonksiyonu vardır: gastrin, sekretin, VIP, PP, gastrik asid, pepsin, pankreatik enzimler ve glukagon salgısını azaltır. Somatostatin aynı zamanda intestinal, bilier ve gastrik motiliteyi inhibe eder [43].

Pankreatik Polipeptid: PP hücrelerinde sentezlenen bir amino-asid-peptittir. Oral alınan proteinler, vagal kolinerjik uyarılar ve hipoglisemi PP salınımını sağlar. PP, pankreasın ekzokrin salgılarını inhibe eder [43].

Sekresyonun Regülasyonu (Sefalik, Gastrik ve İntestinal fazlar): Sefalik faz görüntü, koku ve acıkma ile başlar. Gastrik faz ise gıdanın mideye geçişi ile başlar. Oluşan gastrik distansiyon ve bazı gıdalar (lipidler) enzimden zengin pankreas salgısına neden olurlar. İntestinal faz da gıdaların duodenuma geçişi ile başlar [43].

2.6 Pankreas Hastalıklarının Sınıflandırılması

Pankreas hastalıkları konjenital anomaliler, non-neoplastik ve neoplastik hastalıklar olarak sınıflandırılır [42, 47].

2.6.1 Konjenital anomaliler

1. *Anüler pankreas*: pankreasın ventral primordiyumunun uygun şekilde rotasyon yapmaması sonucunda gelişen ender görülen embriyolojik bir anomalidir. Sonuçta pankreatik dokudan oluşan bir halka duodenumu tamamen sarar.
2. *Heterotopik pankreas*: pankreas dokusunun en sık olarak duodenumda, mide, jejunumda olmak üzere çeşitli yerlerde lokalize olmasıdır.
3. *Agenezi*: çok ender olarak, pankreasın tümüyle yokluğudur. Genellikle yaşamla bağdaşmayan diğer ciddi malformasyonlarla ilişkili bir durumdur.
4. *Pankreas divizum*: insidansı %3-10 arasında olan, klinik açıdan en önemli konjenital pankreatik anomalidir. Pankreatik primordiumların fetal duktus sistemlerinin birleşmemesi durumunda ortaya çıkar. Bunun bir sonucu olarak, ana pankreatik kanal (Wirsung) çok kısadır ve organın baş kısmının küçük bir bölümünün sekresyonlarının boşaltılmasını sağlarken, pankreas büyük bir

kısmına ait sekresyonlar minör kanal (Santorini) yoluyla boşaltılır. Bu anomoli kronik pankreatite zemin hazırlar.

5. *Konjenital kistler*: anormal duktal gelişimden kaynaklanır.

2.6.2 Non-neoplastik hastalıkları

1. *Akut pankreatit*: enzim aktivasyonu, interstisyel sızmalar ve pankreasın kendi enzimleri ile kendini sindirmesi sonucu oluşan (*otodigesyon*), sık görülen ve bakteriyel olmayan, karın ağrısı, bulantı ve kusma ile kendini gösteren bir hastalıktır. Lokal ve sistemik komplikasyonlara yol açarak sepsis ve/veya şok sonucu mortalite ile sonlanan olgular az değildir.
2. *Kronik pankreatit*: parankimal yaralanma veya strese kalıcı patolojik cevaplar geliştiren genetik, çevresel ve/veya diğer risk faktörlerine sahip bireylerde pankreasta gelişen patolojik bir fibro-inflamatuvar bir sendromu olarak tanımlanır.
3. *Psödokistler*: akut veya kronik pankreatit, travma ve nadiren de büyük duktusların neoplastik tıkanması ile ilişkilidir.
4. *Gerçek kistler*: non-neoplastik glanduler epitel ile döşeli kistler genellikle konjenitaldir ve karaciğer veya böbrek gibi diğer organların benzer kistleri ile ilişkilidir.

2.6.3 Pankreasın neoplastik hastalıkları /WHO 2019

Benign epitelial tümörler ve prekürsörler (öncül lezyonlar)

1. Asiner kistik transformasyon
2. Seröz neoplaziler
3. İntraepitelial neoplaziler
4. İntraduktal papillar müsinoz neoplazi

5. İntraduktal onkokistik papillar neoplazi
6. İntraduktal tubulopapillar neoplazi
7. Müsinoz kistik neoplazi

Malign epitelial tümörler

1. Duktal adenokarsinom
2. Asiner hücreli karsinom
3. Pankreatoblastom
4. Solid psödopapiller neoplazi

Nöroendokrin tümörler

1. Non-fonksiyonel nöroendokrin neoplaziler
2. Fonksiyonel nöroendokrin neoplaziler
 - a. İnsülinoma
 - b. Gastrinoma
 - c. VIPoma
 - d. Glukagonoma
 - e. Somatostatinoma
 - f. ACTH üreten nöroendokrin tümörler
 - g. Serotonin üreten nöroendokrin tümörler
3. Nöroendokrin karsinom
4. MiNEN'ler

Bu çalışmanın konusu duktal adenokarsinom olduğu için bu malignitler içinde sadece duktal adenokarsinoma ait bilgiler verilecektir.

2.7 Pankreas Karsinomları

Pankreas tümörlerinin hücresel fenotipi pankreasın üç ana epitel tipi olan duktal, asiner ve endokrin hücrelerdir. Ekzokrin pankreas duktal adenokarsinomu (PDAK) tüm pankreas malignitelerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır [48-50].

2.7.1 Epidemiyoloji

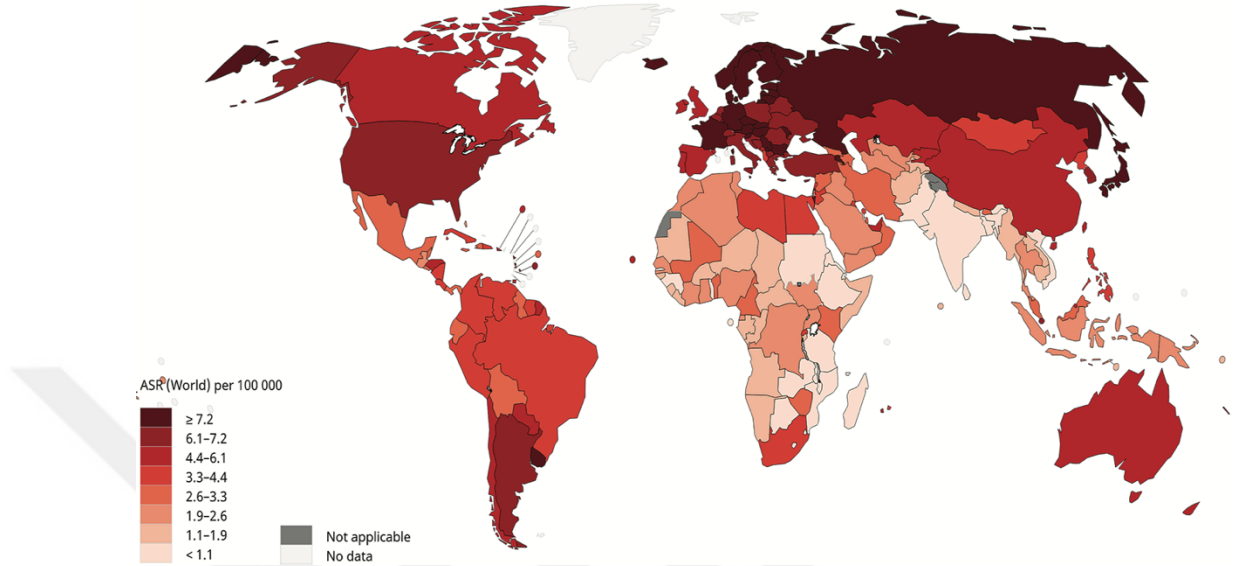
Kötü prognozu olan en yıkıcı kanserlerden biri olarak bilinen pankreatik duktal adenokarsinomun (PDAK) insidansı gün geçtikçe artmaktadır [1]. 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %7 olarak belirtilmektedir [2]. 2018 yılında dünya çapında kanserden ölüm nedenleri arasında yedinci sırada olan PDAK, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise kansere bağlı ölümün dördüncü önde gelen nedenidir. Sindirim kanseri ile ilişkili ölümlerde kolorektal kanserlerden sonra ikinci sıradadır [51]. Çin'de kansere bağlı ölüm sebepleri arasında yedinci sıradadır [52]. GLOBOCAN 2012 raporuna göre, PDAK tanısı alan 65.727 Çinlinin 63.662'si ölmüştür. Bu sayı 2012 yılında Çin'de yeni teşhis edilen PDAK vakalarının %96,86'sını oluşturmaktadır [53].

Olguların %80'i 60-80 yaşları arasındadır. Pankreas kanseri nadiren 55 yaşından önce teşhis edilir. En yüksek insidans 70 yaşın üzerindeki kişilerde bildirildiği için yaşlı popülasyonun hastalığı olarak tanımlanabilir. Her iki cinsiyet için insidans yaşla birlikte artar [2, 54].

İnsidans erkeklerde 100.000'de 5,5; kadınlarda 100.000'de 4,0 olarak bildirilmiştir. Erkeklerde pankreas kanseri görülme sıklığının nedenleri hala yeterince bilinmemektedir. Kadınlar, pankreas kanseri oluşumundan sorumlu ortamlara ve dolayısı ile daha az risk faktörüne maruz kalırlar. Ya da bu tür malign tümörlere daha az eğilimlidirler [55]. Türkiye'de 2018'da yayınlanan Sağlık Bakanlığı Türkiye Birleşik Veri Tabanına göre, 2011-2015 yılları arasında kanser istatistiklerinde PDAK 100.000 kadında 3.3-3.6; erkeklerde 5.1-6.3 oranda görülmektedir [56].

Cinsiyetler arasında pankreas kanseri insidansında küçük bir farkın yanı sıra önemli coğrafi dağılım farkı da gözlenmiştir. Erkeklerde pankreas kanseri gelişme riski Orta ve Doğu Avrupa'da ardından Uruguay ve Japonya'da yüksektir. Kadınlarda pankreas kanseri insidansının en yüksek olduğu bölgeler Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve Avustralya/Yeni Zelanda; en düşük olduğu yerler ise Doğu Afrika ve Güneydoğu Asya'dır. Ülkeler arasındaki bu farklılıkların sebebini tam olarak açıklayamamıştır. Bununla birlikte, ortamın ve/veya belirli risk faktörlerine maruz kalmanın, pankreas kanseri insidansında gözlenen coğrafi varyasyondan sorumlu olması mümkün olabilir. Örneğin, bazı bulgular bütün içiminin bu farklılıklar

üzerinde bazı etkileri olabileceğini gösterirken, diğerleri diyet tarzını ve obeziteyi göstermektedir.



Şekil 2. 18 Harita, 2018`de dünya çapında hem cinsiyetler hem de tüm yaşlar dahil olmak üzere pankreas kanseri için tahmini yaş standardize mortalite oranlarını (ASR) göstermektedir (WHO 2019).

Dünya üzerinde pankreas kanseri mortalite oranları önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Pankreas kanseri ölümlerinin yarısından biraz fazlası 2018'de Asya`da (%46,4) meydana gelirken, üçte birinden biraz fazlası Avrupa`da (%29,6) kaydedilmiştir (2).

2018 yılında en yüksek ölüm oranları Batı Avrupa (100.000 kişi başına 7,6), Orta ve Doğu Avrupa (7,3), ardından Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika`da (eşit olarak: 6,5) olarak kaydedilmiştir. En düşük oran Doğu Afrika (1,4), Güney-Doğu Asya ve Batı Afrika ülkelerinde (eşit olarak: 2,1) bildirilmiştir. Mortalite oranlarındaki farklılıklar, en yüksek ve en düşük orana sahip popülasyonlar arasında 30 kat olmuştur (100.000`de 9,9'a karşı 0,32) [55] (Şekil 2.18).

2.7.2 Sağlıkım

2014-2018 yıllarında, Birleşik Devletler Ulusal Kanser Enstitüsü her iki cinsiyette ve tüm ırklarda pankreas kanseri verileri, erken evrede teşhis edilen kişilerin

%10'unun 5 yıllık sağkalım oranının %32 olduğunu göstermiştir. Kanser evre III ise, 5 yıllık sağkalım oranı %12'dir. Hastaların yarısından fazlası (%52) IV aşamada teşhis edildiğinden 5 yıllık sağkalım oranı %3 oluyor. EURO CARE-5 Çalışma Grubu, 29 Avrupa ülkesinde 2000-2007 yılları arasında pankreas kanseri tanısı alan hastaların kanser kayıtları verilerini analiz etmiş ve 5 yıllık sağkalım oranlarının Hırvatistan'da (%10,9) ve Belçika'da (%10,5) her ikisinde de en yüksek olduğunu göstermiştir ve en düşük sağkalım oranları Malta (%0) ve Kuzey İrlanda'da (%3,02) rapor edilmiştir [55].

İngiltere'de, erkeklerde pankreas kanseri için 1 yıllık sağkalım oranı 1971-1972 döneminde %10'dan 2010-2011 döneminde %22'ye yükselmiştir. Kadınlarda, 1 yıllık sağkalım aynı dönemde %11'den %20'ye yükselmiştir. Bununla birlikte, pankreas kanseri için 5 ve 10 yıllık sağkalım oranlarının 1970'lerin başından beri fazla bir gelişme göstermemiştir [55].

2.7.3 Etyopatogenez

PDAK'ın etyolojisi ise ilgili şimdiye kadar birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bunlar değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri olarak iki kategoriye ayrılabilir [57].

2.7.3.1 Değiştirilebilir risk faktörleri: Bunlar arasında sigara, alkol, obezite, diyet faktörleri ve toksik maddelere maruz kalma yer alır.

Sigara

Sigara kullanımı pankreas kanseri için en önemli çevresel faktördür. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, sigara içiminin nedensel olarak pankreas kanseri ile ilişkili olduğunu doğrulamıştır. Pankreas kanseri riski, sigara içme süresi ve günlük içilen sigara sayısı ile artar. Risk sigara içenlerde içmeyenlere göre yaklaşık iki kat daha yüksektir [55]. 2012 yılında, Avrupa Kansere Yönelik Olası Araştırma (EPIC) çalışması, günde içilen her beş sigara için pankreas kanseri riskinin arttığını ve pasif sigara içiminin pankreas kanseri riskini %50 oranında artırabildiğini göstermiştir [58].

Alkol

Birçok çalışmaya dayanarak, yüksek alkol tüketimi pankreas kanseri riski artarken, düşük veya orta alkol alımında ise bir ilişki bulunamamıştır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, ağır alkol tüketiminin mevcut sigara içenler arasında pankreas kanseri riskinde anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur [59]. Bu da alkol ve sigara içme arasındaki çok yakın ilişkinin olduğunu düşündürmektedir.

Obezite

Obezite, pankreas kanseri dahil olmak üzere farklı kanser türleri için de artmış bir risk faktörüdür. Bazı çalışmalar obezitenin pankreas kanseri insidansını ve mortalitesini artırdığını bulmuştur [55]. Li ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, yetişkinlerde aşırı kilolu [vücut kitle indeksi (BMI): 25,0-29,9 kg/m²] veya obez olmanın (BMI \geq 30 kg/m²) pankreas kanseri için daha yüksek riski olduğunu bulmuştur [60]. Ayrıca, ileri yaşta (30-79 yaş) obezitenin genel sağkalımı düşürdüğü bulunmuştur. Amerikan Kanser Derneği (ACR) çalışmasına göre, her iki cinste, obezler arasında pankreas kanseri riski sağlıklı BMI (18,5-24,9 kg/2) kişilere kıyasla daha yüksekti (RR = 2,08) [61]. Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz, hem genel hem de abdominal şişmanlığın pankreas kanseri riskini artırdığı hipotezini doğrulamıştır [62].

Diyet faktörleri

Diyet faktörlerinin pankreas kanseri üzerinde %30-50`ye kadar etkili olduğu ve bazı gıdaların daha yüksek risk oluşturduğu, bazılarının ise koruyucu olduğunu gösteren kanıtlar vardır [55].

Kırmızı etin (özellikle yüksek sıcaklıkta pişirildiğinde), işlenmiş etlerin, kolesterolün, kızarmış yiyeceklerin ve nitrozamin içeren diğer yiyeceklerin tüketimi pankreas kanseri riskini artırabilir. 11 vaka-kontrol çalışmasını içeren bir meta-analizin sonuçları, kırmızı et alımının pankreas kanseri riskini yaklaşık %48 (%95 CI: 1,25-1,76) artırdığını göstermiştir. Ayrıca , 11 prospektif başka bir çalışmanın meta-analizi, pankreas kanseri insidansı ile yüksek kırmızı (120 g/gün) veya işlenmiş et (50 g/gün) (sırasıyla RR = 1,13 ve RR = 1,19) tüketimi arasında pozitif bir ilişki bulmuştur [55]. 2016 yılında İngiltere`de yapılan büyük bir kohort çalışmasında, pankreas kanseri için ölüm oranı, normal et yiyenlere göre düşük seviyede et tüketenlerde

yaklaşık %30-45; ayrıca vejetaryen ve veganlarda yaklaşık %50 oranda daha düşük bulunmuştur [63].

Mesleki maruziyet

Bir popülasyondaki metal işleme ve pestisitlere maruz kalmayı da içeren mesleki maruziyetlere bağlı pankreas kanserinin etiyolojik fraksiyonunun %12 olduğu tahmin edilmiştir. Mesleki maruziyetlerin ve pankreas kanserinin meta-analizi, nikel maruziyeti ile artmış bir risk olduğunu ortaya çıkartmıştır. Nikelin kanserojen mekanizmaları arasında DNA hipermetilasyonunu, DNA onarımının engellenmesi ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesiyle apoptozun indüklenmesi sayılabilir [64]. Ayrıca, az sayıda çalışma kadmiyuma ve arseniğe maruz kalma ile pankreas kanseri riski arasında bir bağlantı bulmuştur [65]. Selenyum p53 aktivitesini artırabilir, bu da DNA onarımına veya apoptoza neden olabilir [55].

2.7.3.2 Değiştirilemeyen risk faktörleri: cinsiyet, yaş, etnik köken, diabetes mellitus, ailede pankreas kanseri öyküsü, genetik faktörler, kronik enfeksiyonlar, “O” dışı kan grupları ve kronik pankreatittir.

Cinsiyet

Pankreas kanseri erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. Küresel olarak, pankreas kanseri insidansı erkekler için 100.000`de 5,5 ve kadınlar için 100.000`de 4,0`dır. Pankreas kanseri, erkeklerde daha çok, çevresel veya mesleki risk faktörlerinin yanı sıra ağır sigara içme alışkanlığı ve erkeklerde yüksek alkol alımı gibi yaşam tarzları nedeniyle daha sık görülür. Bununla birlikte, erkeklerde ve kadınlarda kanser insidansını ve mortalitesini etkileyen henüz keşfedilmemiş genetik faktörlerin olması da mümkündür [2].

Yaş

Pankreas kanserinin ağırlıklı olarak daha yaşlı bir popülasyonun bir hastalığı olduğu ve hastaların çoğunun 55 yaşın üzerinde olduğu görülmüştür. Gerçekten de pankreas kanseri gelişme riski yaşla birlikte artar ve en yüksek zirve 60 ila 80 yaş arasında gerçekleşir. Nadiren 40 yaşından önce ortaya çıkabilir ve pankreas adenokarsinomu vakalarının yarısından fazlası için ortalama yaş 71`dir. Bu geç yaş başlangıcının nedeni henüz belli değildir [2, 55].

Etnik köken

Birçok çalışma pankreas kanseri insidansında ırklar arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Afrika kökenli Amerikalılar için pankreas kanseri insidansı Kafkas ırklarından daha yüksek iken, Asyalı-Amerikalılar ve Pasifik Adalarında görülme sıklığı en düşüktür. Genel olarak, pankreas kanseri siyah insanlarda diğer ırkta gruplarından daha fazladır [55, 66]. Irklar arasında pankreas kanseri insidansındaki farklılıklar, diyet, alkol, sigara ve D vitamini yetersizliği gibi değiştirilebilir risk faktörlerine bağlanabilir. Bununla birlikte, bazı popülasyon temelli çalışmalar, pankreas kanserindeki ırksal eşitsizliklerin, bilinen ve şüphelenilen risk faktörleri tarafından tamamen açıklanmadığını bildirmiştir. Çin, Japon ve Batılı hastalar arasında onkogen mutasyonları ile biyomarker immün ekspresyonunu karşılaştıran çalışmalar, pankreas kanseri olan Asyalı hastaların KRAS ve p53 ekspresyonlarının Batılı hastalardan farklı olduğunu göstermiştir. Her ırkın pankreas kanseri insidansını etkileyebilecek genetik ve moleküler çeşitliliğe sahip olduğunu ve aynı zamanda ırksal farklılıklarda pankreas kanseri tedavisinden sonra hayatta kalma oranlarındaki farkı açıklayabileceğini düşündürmektedir [55].

Diyabet hastalığı

Her iki tip diyabet ve pankreas kanseri riski arasında ilişki çok sayıda çalışmada bildirilmiştir. Pankreas kanseri riski diyabet süresi ile azalır, ancak diyabet tanısı konduktan sonra yirmi yıldan fazla bir süre boyunca %30 artmış risk devam eder. Oral anti-diyabetik ilaçlar veya insülin kullanımı, pankreas kanseri riskini azaltır [55].

Aile öyküsü

Ailede pankreas kanseri öyküsü, pankreas kanseri gelişimi için güçlü risk faktörlerden biridir. Ailenin en az bir üyesinde genç yaşta pankreas kanseri teşhisi, bu ailelerde pankreas gelişme riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseltmektedir. Bazı çalışmalarda pankreas kanseri olan bireylerin yaklaşık %5-10'unun ailede pankreas kanseri öyküsü olduğu belirtilmiştir. Ailede en az iki birinci derece akrabada pankreas kanseri olduğunda bu risk iki katına çıkar [67]. Pankreas kanseri olan üç veya daha fazla birinci derece akrabası olan kişilerde 32 kat daha fazla yükselir [68]. Ayrıca, aile üyelerinden biri 40 yaşında tanı almışsa, birinci

veya ikinci dereceli akrabalarda yaşam boyu (80 yaşına kadar) pankreas kanser riski %15,7 dir [55].

Genetik faktörler

Genetik varyasyon veya mutasyon (Germ hattı mutasyonu), pankreas kanseri riskinin artmasında önemli bir rol oynar. Çalışmalarda kalıtsal risk faktörlerinin pankreas adenokarsinom olguların en az %5-10`una katkıda bulunduğu görülmüştür. BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, CDKN2A, APC, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, PRSS1 ve STK11 gibi genlerin kalıtsal pankreas kanseri formlarında rol oynadığı tespit edilmiştir. Pankreas kanseri ayrıca kalıtsal polipozis olmayan kolon kanseri (Lynch sendromu), ailesel atipik multipl mol melanoma sendromu, Peutz-Jeghers sendromu, kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri sendromu, ailesel adenomatöz polipozis ve Li-Fraumeni sendromu ile ilişkisi bulunmuştur [69].

BRCA1 geni 17q21.31`de yerleşir: DNA onarımını düzenleyen bir protein kompleksini kodlar, hücre döngü noktasını ve genomun stabillliğini korur. BRCA1 mutasyon taşıyıcılarında %1,3`ünde pankreas kanseri saptanmıştır. BRCA2 13q13.1 bulunur, 1995 yılında ailesel meme kanseri ile ilişkili gen olarak tanımlandı. Germ hattı BRCA2 gen mutasyonları, kalıtsal pankreas kanserinin bilinen nedenlerinin en yüksek oranını oluşturur ve ailesel pankreas kanseri olan ailelerin %5-17`sinde tanımlanmıştır. PALB2, meme kanserinde mutasyonu daha önce bildirilen ve BRCA2 için bağlayıcı bir proteindir. Aynı zamanda PALB2 pankreas kanseri duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır. Ailesel pankreas kanserli hastaların %3 kadarında germ hattı PALB2 mutasyonu saptanır [69, 70]. Ayrıca, germ-hattı CDKN2A gen mutasyonları genellikle ailesel atipik multipl mol melanomlu ailelerde görülürken, Peutz-Jeghers sendromu hastalarda germ-hattı STK11 mutasyonları ve kalıtsal pankreatitli kişilerde germ-line PRSS1 mutasyonları görülür [68].

Enfeksiyon

Helicobacter pylori (*H. pylori*) ile de pankreas kanser riski arasında ilişki bulunmuştur (tahmini %4-25`lik). Yeni çalışmaların meta-analizi, *H. pylori* ile enfekte kişilerde pankreas kanseri riskinin arttığını bildirmiştir ve bu etkinin CagA-pozitif suşna özgüdür. Bunun arkasındaki hipotezleşmiş bir mekanizma, *H. pylori* kolonizasyonunun, sigara veya diyet kaynakları tarafından taşınan N- nitrozaminlerin pankreatik kanserojen etkisini arttırmasıdır [71]. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda

H. pylori enfeksiyonu ile pankreas kanseri riski arasında herhangi bir korelasyon gözlemlenmemiştir [72]. Bazı çalışmalar, pankreas kanseri ile hepatit B ve C virüsü (HBV ve HCV) gibi bazı kronik enfeksiyonlar arasındaki ilişkiyi bildirmiştir [73].

ABO kan grubu

ABO kan gruplarının çeşitli hastalıklar ve kanser biyolojisindeki rolü 60 yılı aşan bir süredir incelenmektedir. ABO antijenlerinin, pankreas dahil çeşitli kanser türleri geliştirme riski ile ilişkili olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir [55].

Yapılan bir çalışmada kan grubu “A” bireyleri için pankreas kanseri riskinde artış gözlenmiştir [74]. ABD’de yapılan çalışmada kan grubu “O” katılımcılarla karşılaştırıldığında, kan grubu “A, AB veya B” olanların pankreas kanser geliştirme olasılığı daha yüksek bulunmuştur [75]. Dandona ve arkadaşları da çalışmalarında “O” olmayan kan grubu bireylerde pankreas kanseri gelişme riskinin daha yüksek olduğunu doğrulamıştır [76]. ABO grubu ile ilişkili genel sağkalım ile ilgili çalışmalar tartışmalıdır. Buna karşılık, Ben ve arkadaşları 1.431 Çinli hasta üzerinde yapılan çalışmada, kan grubu “O” olan hastaların medyan genel sağkalımının, “O” olmayan kan grubuna göre daha uzun olduğunu bulmuştur [73]. Değişen ABO glikosiltransferaz aktivitesinin, esas olarak hücre proliferasyonunu, tümör invazyonunu ve metastatik yayılımı etkileyerek karsinogenezde önemli bir rol oynadığı görülmektedir [77]. İlginç bir şekilde, bir meta-analiz çalışmasında “O” olmayan kan grubu, *H. pylori* kolonizasyonu ve pankreas kanseri riski arasında bir ilişki tanımlanmıştır [71]

Pankreatit ve Pankreas Kanseri

Son yıllarda, artan kanıtlar kronik pankreatitin pankreas kanseri için güçlü bir risk faktörü olduğunu doğrulamıştır [78]. Kronik pankreatitin kalıtsal ve idiyopatik gibi çeşitli nedenleri vardır, bunlar içerisinde en sık pankreatite yol açan neden alkol aşırı kullanımudur [79]. Her ne kadar kronik pankreatit vakalarının ~%69,7’i alkol kötüye kullanımına atfedilse de alkoliklerin ~%5’inde kronik pankreatit gelişir [79, 80]. Bazı çalışmalarda pankreatit hastaların bir kısmında, tekrarlıyan geri dönüşümsüz duktal hasar sonucu tümör geliştiği düşünülmektedir [78]. Dünya literatürünü gözden geçirildiğinde, 340 kalıtsal pankreatitli hastanın %5’inde pankreas kanseri meydana geldiği bildirilmiştir [81]. Bugüne kadar 14 ülkeden 112 ailede pankreas kanseri insidansını bildiren en büyük kalıtsal pankreatit çalışması olan EUROPAC çalışması,

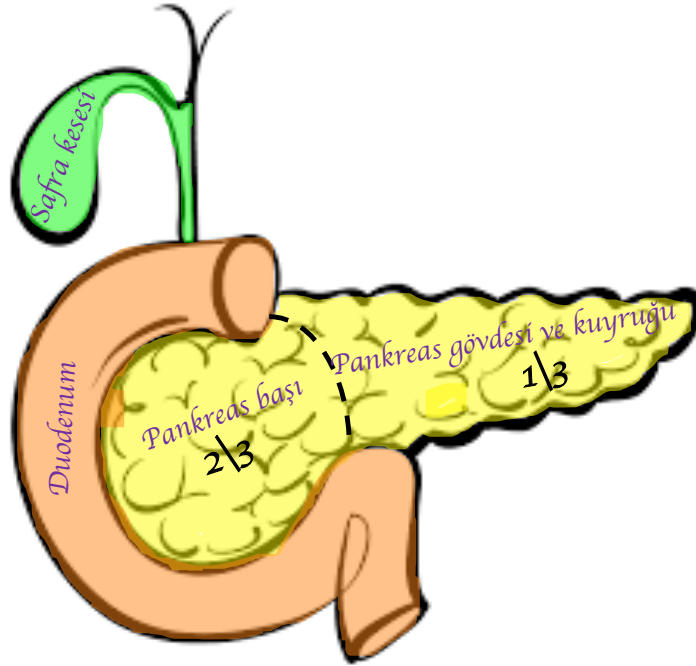
altta yatan mutasyondan bağımsız olarak kalıtsal pankreatitli hastalarda pankreas kanseri riskinin yüksek olduğunu doğrulamaktadır [82].

2.8 Pankreas Duktal Adenokarsinomu

Pankreas duktal adenokarsinom (PDAK) tüm ekzokrin pankreas kanserinin %85'ini oluşturmaktadır ve genellikle pankreasın baş bölgesinde gelişen “solid” tümördür.

2.8.1 Makroskopik görünümü

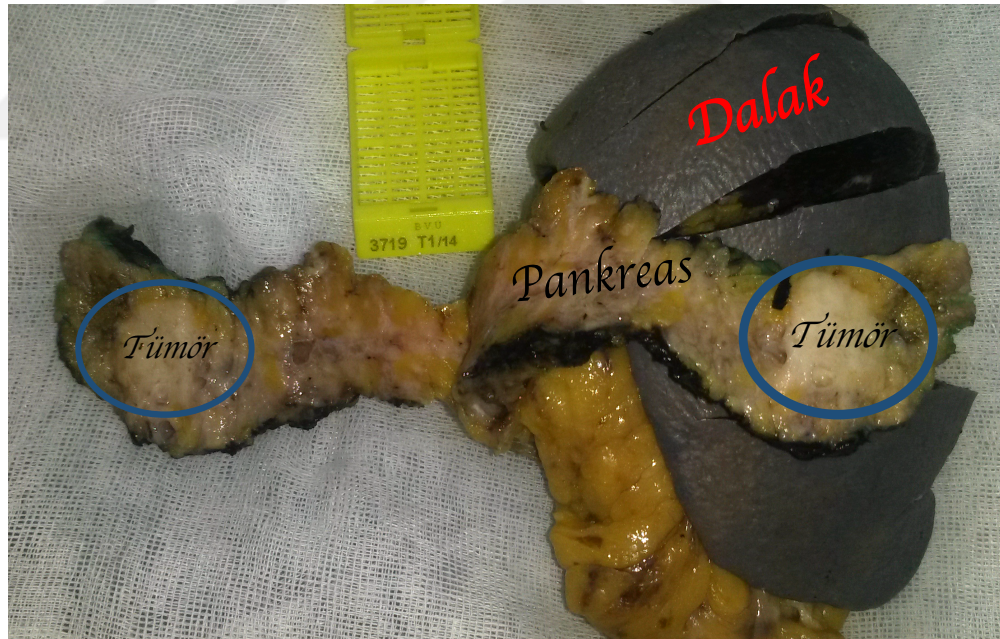
PDAK, pankreas duktus epitelinden kaynaklanan tümördür ve olguların üçde ikisinde pankreas baş kısmında, diğer üçde birinde gövde ve kuyruk bölgesinde yer almaktadır (Şekil 2.19). Büyük çoğunluğu soliterdir. Multipl tümörler olguların %20'sinde bulunur.



Şekil 2. 19 Pankreas (Dalla Rosa, An atlas of human anatomy for students and physicians)

Çoğunluğu kötü sınırlı, sert, kesit yüzleri sarı-beyaz renkte, fibröz dokudan zengin olup sklerotik görünümündedir (Şekil 2.20). Genellikle pankreas başı yerleşimli

tümörlerin çapı 2-4 cm (ortalama 3,5cm) iken, gövde ve kuyruk yerleşimli tümörler ise daha büyük boyuttadır. 2 cm`den küçük tümörlere seyrek rastlanılır ve makroskopik olarak tanımlamak zordur [83]. Tanı vakalarının %85`inde tümör yaklaşık 5 cm`e ulaştığında konulur. Nadiren kistik dejenerasyona uğrar. Pankreas başından kaynaklanana tümörlerin dörtte biri doğrudan duodenum duvarını invaze eder. Tutulmuş olan pankreatik duktuslar büyük ölçüde genişlemiştir ve nekrotik tümör tıkaçı içerebilir. Bu dilatasyon ana tümörün kitlesinden çok uzaklara kadar uzanabilir. Ekstrapankreatik yayılım siktir ve yaygın olduğunda tümörün pankreas kaynaklı olup olmadığını belirlemek zor olabilir. Nadir olgularda PDAK, heterotopik pankreas dokusunda gelişebilir. Yapılan bir çalışmada makroskopik olarak pankreas başında lokalize olan 28 olgunun sadece 14`ünün pankreas kökenli olduğu kanıtlanmış, 5`inin kökeni bulunamamış, geri kalan vakaların ampulla, safra kanalı ve duodenum orijinli olduğu tespit edilmiştir [42].



Şekil 2. 20 Pankreas duktal adenokarsinomun makroskopisi (BVÜ arşivinden).

2.8.2 Mikroskopik görünümü

PDAK, iyi, orta ve kötü diferansiye PDAK olarak derecelendirilmektedir. Duktal adenokarsinomun histoloji derecesini glandüler diferansiyasyon, münin sekresyonu, mitoz ve nükleer pleomorfizm belirler (Tablo 2.1). İntraduktal papiller

müsinöz tümörler hariç tutulduğunda olguların çok az bir kısmında papiller büyüme paterni görülür [84]. Çoğu PDAK, iyi veya orta derecede diferansiyedir.

Tablo 2. 1 PDAK`un histolojik derece sınıflandırılması (AJCC 8. baskı).

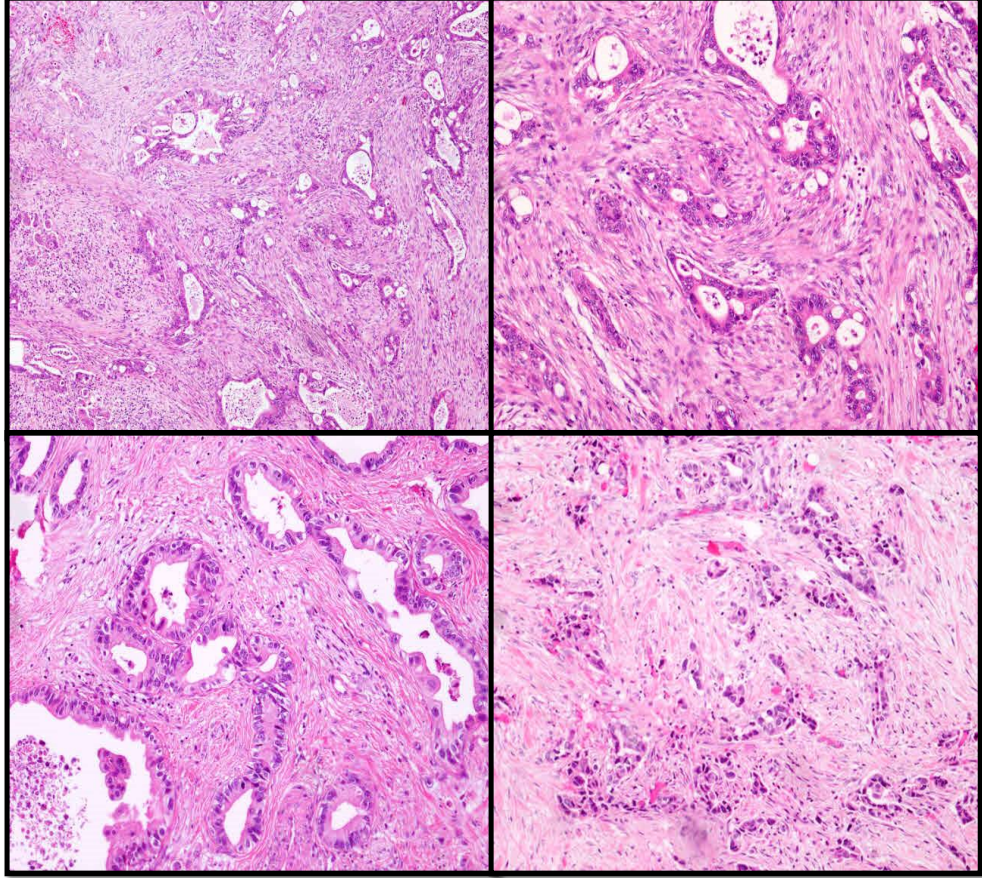
G	Histolojik derece
Gx	Değerlendirilemiyor
G1	İyi diferansye
G2	Orta derecede diferansye
G3	Kötü diferansiye

İyi diferansiye PDAK`ta mikroskopik tanı çok zor olabilir, bu durumda sitolojik detaylara yoğunlaşılması gerekir. Küçük büyütmede iyi gelişmiş belirgin glandüler yapılar vardır, lümenleri daha geniştir, bir veya birkaç sıra silindirik veya kübik epitel ile döşelidir. Hücrelerin sitoplazmaları genellikle eozinofilik, bazen de soluk veya berrak olabilir. Nukleuslar yuvarlak, oval ve normal nukleusun 3-4 katı kadar büyük olabilir. Glandların şekli ve dağılımında düzensizlik ve çevre stromada desmoplastik reaksiyon yoksa küçük büyütmede genel görüntü karsinomu düşündürmeyebilir. Büyük büyütmede glandları döşeyen epitelde malignite düşündürecek bulgular; belirgin nükleer pleomorfizm, polarite kaybı, belirgin nükleoluslar ve mitotik aktivitedir. Yüksek dereceli pankreatik intraepitelyal neoplazı ile PDAK ayırt edilmesi zordur. Yüksek derecede sitolojik atipi ile düşük seviyede yapısal atipi arasındaki eşitsizlik pankreatobiliyer bölgenin tümörleri için tipiktir. Lenfatik invazyon çok yaygın bulgudur ve olguların %90`ında perinöral invazyon vardır. PDAK`taki perinöral invazyon, intrapancreatik sınırlardan başlayıp ekstrapankreatik nöral pleksusa yayılım yapabilir ki bu cerrahi için zorlayıcı bir faktördür. Kan damarlarında, özellikle venlerde invazyon tümörlerin yarısında görülmektedir. Karsinoma in situ (yüksek derecede pankreatik intraepitelyal neoplazı)

olguların %20-30'unda karsinoma komşu duktus epitelinde, bazen ana tümör kitlesinden uzak alanlarda ve hatta cerrahi kesi noktasında izlenebilmektedir [83].

Orta derecede diferansiye PDAK'da glandüler yapı daha az tanımlanır. İnkomplet glandüler lümenler nükleer pleomorfizm kadar yaygındır. Nükleoller daha büyük ve düzensizdir, mitoz daha yaygındır. Sitoplazma parlak eozinofilik, fakat bazen bol berrak hücreler görülebilir. Neoplazi çevresinde sık sık, fokal kötü ve irregüler gland formasyonu bulunur [83].

Kötü diferansiye PDAK'ta solid alanlar ve belirgin infiltratif hücreler vardır, belirgin gland yapısı yoktur. Kötü diferansiye PDAK, iyi diferansiye PDAK hücrelerinden daha az mütin üretir, büyük bizar nükleus ile belirgin nükleer pleomorfizm ve yaygın atipik mitoz vardır. Nekroz ve kanama yaygındır [83]. Neoplastik glandlar pankreas parankimini infiltre ederek nonneoplastik duktuslar, asini ve adacıkların arasında dağınık halde izlenebilir. Bu infiltrasyon tipik şekilde belirgin desmoplastik bir reaksiyon ile ilişkilidir. Duktusu tıkayan büyüme nedeniyle, tümör çevresi pankreas dokusunda ve hatta tüm gland boyunca, az veya çok şiddette tıkaçıcı kronik pankreatit bulunur [42] (**Şekil 2.21**).

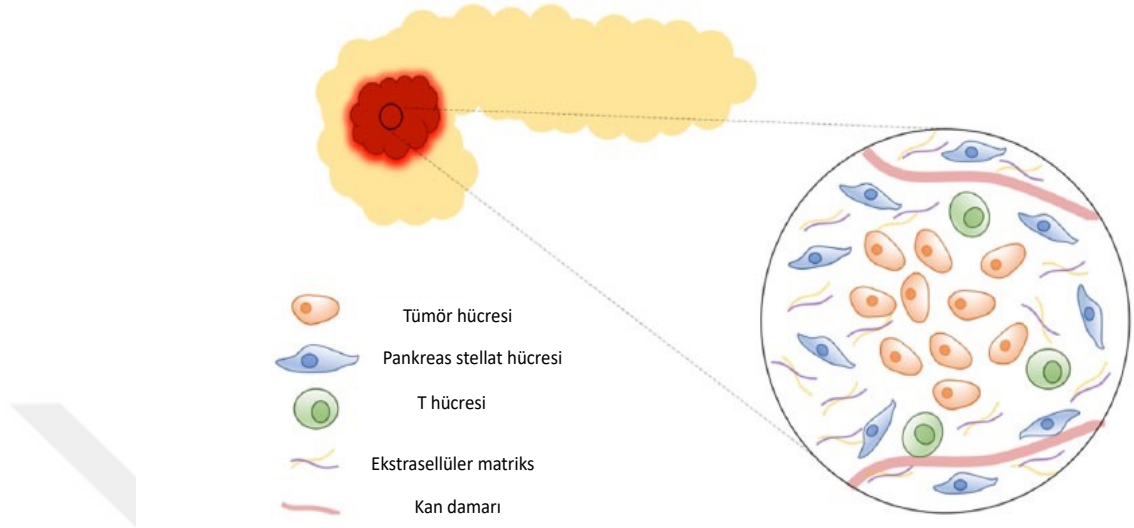


Şekil 2. 21 PDAK'un H&E kesitlerinde, yoğun fibroz stromada atipik glandüler yapılar (x40, x100, x 20) (BVÜ arşivinden).

2.8.3 Tümör stroması

Tümör mikroçevresi olarak adlandırılan PDAK stroması, tümör kitlesinin çoğunu oluşturur. Fibroblastlar (miyofibroblastlar, pankreas yıldız/stellat hücreleri), vasküler yapılar, bağışıklık hücreleri (makrofajlar, mast hücreleri, lenfositler ve plazma hücreleri de dahil olmak üzere birçok miks enflamatuvar hücre), matriks birleşenleri (tip I kollajen ve hyaluronik asit) ile neoplastik olmayan hücrelerin birikimi ile karakterize edilir (**Şekil 2. 22**). Son çalışmalar PDAK stromasının tümör büyümesini ve metastazi desteklediğini, eş zamanlı ilaçlara karşı bariyer oluşturduğunu göstermiştir [5]. Stromada üretilen, bağ dokusu büyüme faktörü gibi faktörler, tümör hücrelerinin hayatta kalmasına doğrudan katkıda bulunabilir. Ek olarak, mikroçevre muhtemelen hastalığın ilerlemesi üzerinde birçok dolaylı etkiye sahiptir. Örneğin, pankreatik adenokarsinomlar düşük mikrovasküler yoğunluğa, sınırlı perfüzyona ve bunun sonucunda intratümöral hipoksiye sahiptir. Lifli stroma bu azalmış kan akışına katkıda bulunabilir ve yüksek interstisyel basınç ilaç iletimini

bozabilir [6]. Bu nedenle pankreatik stromal bariyeri hedefleyen klinik çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 2. 22 Pankreas adenikarsinomun stroması (Kate Young, Immunotherapy and pancreatic cancer: unique challenges and potential opportunities).

Pankreatik adenokarsinomun mikro ortamının bir önemli özelliği, tümör hücreleri ile bağışıklık hücreleri arasında parakrin çapraz reaksiyonlar yoluyla tümör oluşumunu destekleyen bir enflamatuvar programın oluşturulmasıdır. Tümör stroması, anti-tümör bağışıklığın kısıtlanmasında rol oynayan immünosüpresif lökositlerden zengindir. İntatümöral efektor T hücreleri ise nadirdir [85]. Tümör mikroçevresinin bu özelliklerinin bağışıklık temelli tedaviler üzerinde önemli etkileri vardır. Dikkat çekici bir şekilde, genetik olarak tasarlanmış fare modellerini içeren çalışmalar, stromal fibroblastların bir alt grubunda ifade edilen kemokin (CXC motifi) ligand 12'nin (CXCL12) hedeflenmesinin ve tümör gerilemesine yol açtığını göstermektedir [86].

2.8.4. Histolojik alt tipi

PDAK'ın yaygın formunun yanısıra daha az yaygın olan birkaç histolojik alt tipi de bulunur. Bunlara adenoskuamöz karsinom, müsinoz kistik olmayan karsinom (kolloid karsinom), hepatoid karsinom, medüller karsinom, invaziv mikropapiller

karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom, andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid) karsinom ve osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom dahildir [83].

1) Adenoskuamöz karsinom: Hem glandüler hem de skuamoz diferansiyone sahiptir. Pankreatik karsinomların %1-4'ünü oluşturur. Adenoskuamöz karsinom tanısı koyabilmek için tümörün en az üçte birinin (%30) skuamöz diferansiyon göstermesi gereklidir. Makroskopik sert kıvamda, sarı-beyaz gri rengdedir. Genellikle santral nekroz ve kistik dejenerasyon mevcuttur.

2) Müsinöz kistik-olmayan karsinom (kolloid karsinom): Pankreas malignitelerinin %1-3'ünü oluşturur. Tümör hacminin en az %80'sini oluşturan hücre dışı müsin varlığı kesin tanı bulgusudur. Çoğu kolloid karsinom bir IPMN ile ilişkili olarak ortaya çıkar ve IPMN'ler genellikle barsak tipi papillar gösterir. Bazı hücreler taşlı yüzük tiptedir. Duktal adenokarsinomlardan daha iyi prognoza sahiptir. Cerrahi olarak rezeke edilen kolloid karsinomlu hastaların 5 yıllık sağkalımı %55'dir.

3) Hepatoid karsinom: Önemli hepatoselüler diferansiyona sahip malign bir epitelyal neoplazmdır. Hepatoid karsinom eozinofilik sitoplazmaya sahip büyük poligonal hücrelerden oluşmaktadır. Sadece birkaç vaka bildirilmiştir.

4) Medüller karsinom: Kötu diferansiye, sinsitiyal büyüme paterine sahip ve nekroza ile karakterize malign bir epitelyal neoplazmdır. Gland formasyonundan fakir, dizilim ve nest yapıları oluşturan kötü diferansiye epitelyal hücrelerden oluşur. Medüller karsinom sporatik veya Lynch sendromunda ortaya çıkabilir. Çoğu mikrosatellit (MSI+) instabilite ve KRAS geninin wildtype mevcuttur. Medüller karsinomda genellikle aile öyküsü olma olasılığı daha yüksektir. Bazı çalışmalarda bu histolojik varyantın duktal adenokarsinomlardan daha iyi prognoza sahip olduğu ileri sürülmektedir.

5) İnvaziv mikropapiller karsinom: %50'den fazlası stromal lakuna içinde asılı kalan solid hücre yuvalarından oluşan bir adenokarsinomdur. Mikropapillar paterin memede ve daha sonra ürotelyumda tarif edildiği gibi pankreasta da görülebilir. Bu paterin pankreatobilier tip adenomarsinomlarda <%5 görülür. Mikropapillar karsinomlar çok agresif tümördür.

6) Taşlı yüzük hücreli karsinom: İntrasitoplazmik müsin içeren hücrelerden oluşan çok nadir varyantlardadır ve <%1 görülür. Taşlı yüzük hücreler izole tek, müsin gölcüğünün içerisinde veya gevşek kümüler halinde görülür [87]. Metastatik tümördeki taşlı yüzük hücrelerinin primerinin kolorektal, mide veya meme olma olasılığı pankreas olma olasılığından çok daha fazladır.

7) Andiferansiye (anoplastik veya sarkomatoid) karsinom: Çok nadir görülen alt tipidir. Tipik morfoloji nedeniyle pankreas sarkomu olduğu düşünülür. Üç histomorfolojik varyant vardır: anoplastik, sarkomatoid ve karsinosarkom [88]. Sarkomatoid karsinom, baskın olarak veya tümüyle iğsi hücrelerden oluşsa da epitelyal öncülerden köken aldığına inanılır. İmmunhistikimyasal olarak çoğu genellikle vimentin ve keratin ile eksprese olur ama E-kaderinle boyanmazlar. Pankreas karsinomlarının en agresif formudur.

a. Anoplastik andiferansiye karsinom: Pleomorfik mononükleer hücreler ve eozinofil sitoplazmalı dev hücrelerden oluşur. %80 gland formasiyanundan fakirdir. Hücreler non-koeziftir ve nötrofil infiltrasyonu mevcuttur [88].

b. Sarkomatoid andiferansiye karsinom: İğsi hücreler ve heterolog elementlerden (kemik ve kırıldak) oluşuyor. Çok nadir görülen varyanttır. Miksoid matrisde değişik derecede non-koezif iğsi hücrelerle karakterizedir. Pleomorfik dev hücreler, iğsi hücreler ve tubuler komponentler olabilir [88].

c. Karsinosarkom: Sarkomatoid elemanlar (heterolog elemanlar oladabilir, olmayadabilir) ve epiteloid komponentlerden oluşan bifazik tümördür [88]

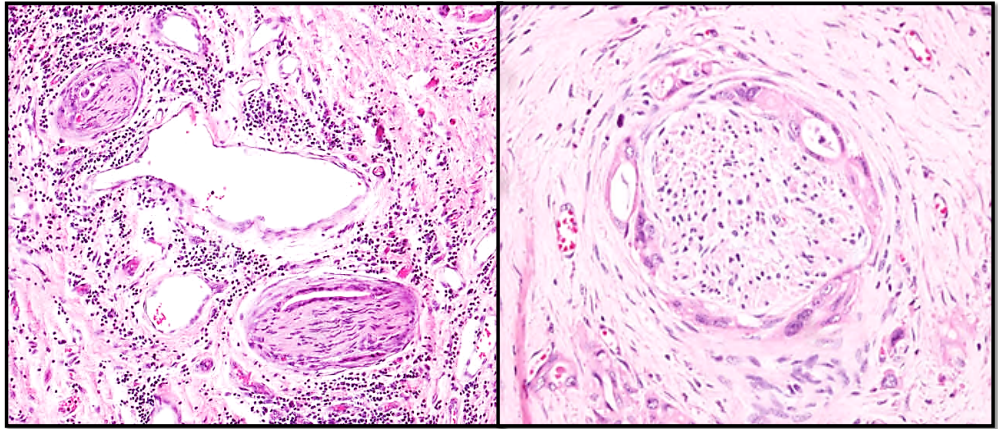
8) Osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom: Andiferansiye karsinomunun ayrı bir kategorisi olup, çok çekirdekli dev hücrelerden oluşan malign bir epitelyal neoplamdır. Bu özel neoplazim çoğunlukla pankreasda, nadir olarak bilier duktus ve diğer organlarda görülür. Üç tip hücreden oluşur: non-neoplastik osteoklast benzeri multinükleer dev hücreler, mononükleer histiosit ve neoplastik mononükleer hücre. Multinükleer hücreler histiositik markırlarla ekspre olur. Yıllarca osteoklastik benzeri dev hücrelerin malign veya reaktif olup olmadığı belli değildi. Moleküler analizler dev hücrelerin reaktif olduklarını, epiteloid hücrelerin ise neoplastik hücreler

olduğunu göstermiştir. Epiteloid tümör hücreleri ile neoplastik olmayan dev hücreler birlikte bulunur.

9) Diğer neoplaziler: Klinik olarak önemi belirsiz nadir neoplaziler bildirilmiştir. Bunların arasına onkositik karsinom, non-müsinöz, glikojenden fakir kistadenokarsinom, koriokarsinom, berrak hücreli karsinom ve silialı hücreli karsinom dahildir. Bu neoplazımların kendine özgü histolojisi, klinik ve biyolojik özellikleri iyi tanımlanmamıştır ve bu nedenle saptıplenebilirliğe dahil edilmiyor.

2.8.5 Perinöral invazyon

Sinir İnvazyonu Tanımı: Periferik sinir sistemi üç zar ile çevrilidir: Endonörium, perinörium ve epinörium. Sinir invazyonu, orta perinöriumda kanser hücrelerinin bulunması olarak tanımlanır [89] (**Şekil 2.23**).



Şekil 2. 23 PDAK`da perinöral invazyon (H&E x100) (BVÜ arşivinden).

PNİ tümör rekkürensi ile ilişkilidir, ağrı oluşumunda rol oynar ve kötü prognoz sağlar [90, 91]. Son çalışmalar, mikroçevrenin tümör büyümesi, proliferasyonun yükselmesi, apoptozun baskılanması ve hücre göçünün artması için uygun bir ortam sağladığını gösterdi [91].

2.8.6 İmmünohistokimya

PDAK`ı kronik pankreatit ve otoimmün pankreatit dahil olmak üzere non-neoplastik pankreatik hastalıklardan ayırt etmek, özellikle küçük biyopsilerde ve ince iğne aspirasyon örneklerinde zor olabilir. Çok sayıda immünomarkerin bu problemin çözümünde yararlı olduğu bildirilmiştir. PDAK, sitokeratin 7, 8, 18 ve 19 ekspresyon mevcuttur. PDAK`da sitokeratin 20 ile ekspresyon görülmez. Epitelyal membran antijen (EMA), CEA, B72.3, CA125, DUPAN-2 ve CA19-9 (+) pozitif immünboyanma gösterir. SMAD4 (DPC4) ile %55 ve p16 (CDKN2A) ile %75 nükleer kayıp görülür. Çoğu PDAK MUC1, MUC3, MUC4 ve MUC5AC (+) pozitif ama MUC2 ile (-) negatiftir. Diğer yandan tümör genellikle vimentin ve pankreatik enzim olan (tripsin, kimotripsin ve lipaz) belirteçlerle boyanmaz. Nöroendokrin belirteçler (sinaptofizin ve kromogranin) ile çok nadir boyanabilir [83, 92].

PDAK`ın bir varyantı olan kolloid karsinom farklı ekspresyon gösterir. Kolloid karsinom genellikle geleneksel bir PDAK`unun profilinden farklı olarak CDX2 ve MUC2 pozitif iken MUC1 negatiftir. Kolloid karsinomun tanınması önemlidir. Çünkü klasik bir PDAK`dan çok daha iyi bir prognoz taşır [93].

2.8.7 Ayırıcı tanı

PDAK kronik pankreatit ile ayırt edilmelidir. PDAK`un ayırıcı tanısı için en uygun kriterler tabloda listelenmiştir [83] (**Tablo 2.2**).

2.8.8 Patolojik evreleme (TNM)

Bölgesel lenf nodlarını da içeren parsiyel (pankreatoduodenektomi veya distal pankreatektomi) ve total pankreas rezeksiyonu patolojik evrelemede önemli bilgi sağlar. Pankreatoduodenektomi materyaline safra kanalı, pankreatik başı, unsinat çıkıntı, bazen distal mide ve duodenum dahildir.

Tablo 2. 2 PDAK ve kronik pankreatitin ayırıcı tanı kriterleri.

	PDAK	Kronik pankreatit
<i>Duktal özellikler</i>		
Yapısal özellikler	İrregular, rast gele dizilmiş	Organize, lobüle
Lokalizasyon	Perinöral, intravasküler, ekstrapankreatik (yağlı dokuda duktuslar)	İntrapankreatik
Konturlar	Rüptüre	Intakt duktuslar
İçerik	Nötrofiller, nekrotik debrisler	Kalkül, sekretuar tıkaçlar
<i>Sitolojik özellikler</i>		
Nükleus	Pleomorfik Mitoz Belirgin nükleol	Uniform, yuvarlak-oval Mitoz yok Küçük veya belirsiz nükleol
Nükleer polarizasyon	Çoğunlukla kayıp	Korunmuş

PDAK için AJCC/UICC TNM derecelendirme sistemi kullanılmaktadır. İlk baskı 1977`de piyasaya sürülmüş ve her 5-7 yılda bir birkaç kez güncellenmiştir. Pankreas kanseri ile ilgili TNM ise 1997`de yapılan 5. baskıda piyasaya sürüldü. Son 20 yılda 6. ve 7. baskılarda pankreas tümörleri için hiçbir değişiklik yapılmadı. Ekim 2017`de AJCC/UICC PDAK`nun T ve N sınıflandırılmasında önemli değişiklikler içeren 8. baskısı yayımlandı. 8. baskıda yüksek dereceli pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN3), yüksek dereceli displazili intraduktal papiller müsinöz neoplazi (IPMN) ve yüksek dereceli displazili intraduktal tubulopapiller neoplazi (ITPN) ve yüksek dereceli müsinöz kistik neoplazi (MCN) in situ karsinoma dahil edildi. T1-T3

aşamaları tümör boyutuna göre tanımlandı. T1 subkategoriyaya (T1a, T1b ve T1c) ayrıldı. Tümör çölyak aksiss, ana hepatik arter ve/veya superior mezenterik arteri invazyon etdiğinde T4 olarak tanımlanır ve rezeke edilemez olarak sınıflandırılır (**Tablo 2.3**).

Baş yerleşimli pankreas adenokarsinomu ampula vateri, duodenum, intrapancreatik ortak safra kanalı, periton ve pankreas çevresi yumuşak dokuya sık invazyon yapar. Gövde ve kuyruk yerleşimli pankreas adeokarsinomu ise karın, dalak, sol adrenal bez ve peritonu invaze eder. T kategorisinin boyutu ne olursa olsun, komşu dokulara ve venöz yapılara invazyon gösterebilir. Pankreasın gerçek kapsülü olmadığı için çevre dokuya invazyonu belirlemek zor olabilir. Çünkü kronik pankreatit ve tümörde çevre doku ile pankreas arasında fibrozis gelişebilir. Bu parametre bu nedenlerle T kategorisinin tanımlamasına henüz dahil edilmemiştir [47].

N sınıflandırılması: Lenf nodları lokalizasyona göre sınıflandırılmaz. Olgular N0, N1 (1-3 metastazlı LN) ve N2 (4 ve daha fazla metastazlı LN) olarak metastazlı lenf nodu sayısına göre alt gruplara ayrılır (**Tablo 2.4**). Lenf nodu evresini doğru belirlemek için en az 12 lenf nodunun histolojik olarak incelenmesi gerekir. Pankreasın baş ve boyun bölgesi tümörleri için bölgesel lenf düğümleri; ortak safra kanalı, ana hepatik arter, portal ven, pilorik, posterior ve ön pankreatikoduodenal pasajlar, superior mezenterik ven ve superior mezenterik arter çevresi lenf düğümleridir. Pankreas gövde ve pankreas kuyruğu için bölgesel lenf düğümleri ana hepatik arter, çölyak ekseni, dalak arter ve dalak hilus lenf düğümleridir [47].

Tablo 2. 3 PDAK`da T sınıflandırması (AJCC 8. baskı).

T	Kriterleri
Tx	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	İn situ karsinom (PanIN3), IPMN, ITPN ve MCN
T1	Tümör boyutu ≤ 2 cm
T1a	Tümör boyutu $\leq 0,5$ cm
T1b	Tümör boyutu $>0,5$ cm ve <1 cm arasında
T1c	Tümör boyutu 1-2 cm arasında
T2	Tümör boyutu >2 cm ve ≤ 4 cm arasında
T3	Tümör boyutu >4 cm
T4	Tümör, boyutuna bakılmaksızın çölyak aksı, superior mezenterik arter ve/veya ana hepatik arter invazyonunu içerir

Tablo 2. 4 PDAK`da N sınıflandırılması (AJCC 8. baskı).

N	Kriterleri
Nx	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez
N0	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
N1	Bir ila üç bölgesel lenf nodunda metastaz
N2	Dört veya daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz

Pankreas kanserinde hastaların tanı anında yarısında metastaz saptanır. M kategorisi metastazın olup olmamasına göre M0 ve M1 olarak belirlenir (**Tablo 2.5**). Genellikle karaciğer, peritoneal kavite ve akciğere metastaz yapar. Nadiren beyin, kemik, umbilikal deri ve gastrointestinal sisteme metastaz görülür [94].

Tablo 2. 5 PDAK`da M sınıflandırılması (AJCC 8. baskı)

M	Kriterleri
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

T1-3N2M0 grade III olarak tanımlandı ve diğer aşamalar değişmeden kaldı (AJCC 8. baskı). (**Tablo 2.6**).

Tablo 2. 6 PDAK'un prognostik evresi (AJCC 8. baskı).

T	N	M	AJCC PROGNOSTİK EVRE
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T1	N1	M0	IIB
T1	N2	M0	III
T2	N0	M0	IB
T2	N1	M0	IIB
T2	N2	M0	III
T3	N0	M0	IIA
T3	N1	M0	IIB
T3	N2	M0	III
T4	Herhangi N	M0	III
Herhangi T	Herhangi N	M1	IV

pT: primer tümör, yT : ameliyat öncesi radyoterapi veya kemoterapi almış tümör, rT : tekrarlayan tümör olarak kodlanır.

Tümör rezeksiyonu ardından yapılan incelemede rezidüel tümöre dair kanıt yok ise R0; mikroskopik olarak rezidüel tümör var ise R1 ve makroskopik rezidüel tümör varlığında ise R2 evresi olarak belirtilir.

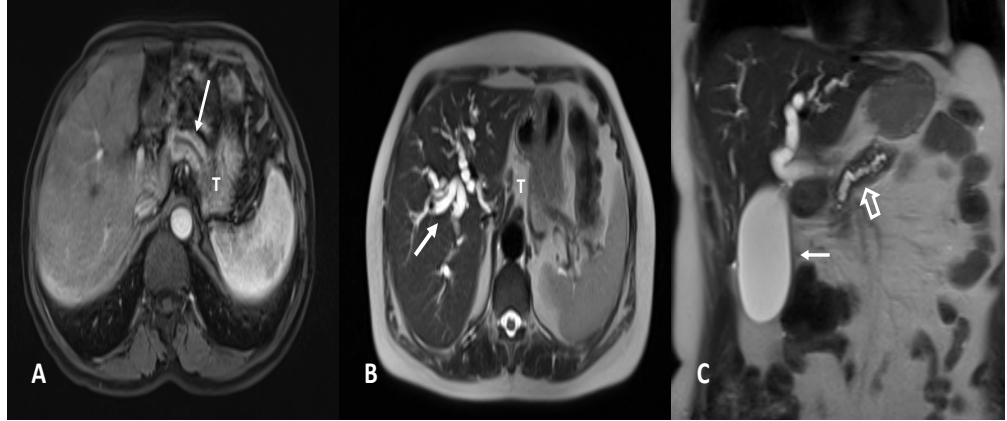
2.8.9 Prognoz

PDAK en ölümcül tümörlerdendir. Hasta tedavi olmazsa 3-5 ay, tedavi olursa 10-20 ay yaşar. Tanı konduğunda sadece %10-20 hasta rezektabldır. Cerrahi tedavi sonrası 5 yıllık sağkalım %15-25`dir. Cerrahi tedaviden 2 yıl sonra %70-90 olgu yaygın olarak pankreas yatağında ve karaciğerde nüks ve metastaz yapar. Ayrıca sık olarak periton boşluğuna ve lenf noduna metastaz yapar. Lenf nodu metastazı kötü prognostik göstergedir. Lenf nodu durumu sadece cerrahi rezeksiyon sonrası kısa süreli sağkalımı (<5 yıl) belirlemekle kalmayıp aynı zamanda uzun süreli sağkalımı (>5 yıl) öngören bir faktördür. Lenf nodu oranı, ameliyattan sonra önemli bir sağkalım prediktörüdür. Lenf nodu rezeksiyonlarının uygun şekilde evrelendirilmesi için en az 12 lenf nodu incelenmesi önerilmektedir. Gövde ve kuyruk yerleşimli karsinomlar, pankreas başında yerleşmiş karsinomlardan daha ileri aşamada ortaya çıkar. Histolojik derece güçlü prognostik bir gösterge değildir. Ayrıca damar invazyonu, sinir invazyonu ve cerrahi sınır pozitifliği prognostik göstergedir. Diğer prognostik göstergelere CA19-9, obezite, ırk, metastaz bölgesi ve SMAD4 gen durumu dahildir [83].

2.8.10 Tanı

Radyoloji: PDAK`un tanısı ve evrelemesi için BT birincil yöntemdir. Pankreas BT protokolü rutin karın BT'sinde farklı olarak çeşitli değişiklikler gerektirir. Arterleri (çölyak, ortak hepatik, peripankreatik ve üstün mezenterik arterler) ve damarları (portal, dalak ve üstün mezenterik damarlar) değerlendirmek için geç arteryel (veya parankimal) ve venöz fazlarda en az iki kontrast sonrası çekim yapılmalıdır. Parankimal faz, tümörü pankreatik parankimde hipodens bir kitle olarak gösterir. Venöz faz ise karaciğer metastazlarının saptanması için kullanılır. BT'nin PDAK için %89-97 duyarlılığa sahip olduğu bildirilse de <2 cm`den küçük lezyonların teşhisinde duyarlılık %65-75`dir. Bu açıdan EUS üstündür [95].

MRG, PDAK`un tanısı ve evrelemesi için kullanılabilir, ancak BT`den üstün yöntem değildir [95] (**Şekil 2.24**).



Şekil 2. 24 PDAK`da MR bulgusu. A: Axial kontrastli T1A imajlarda tümöre bağlı olarak genişlemiş pankreatik duktusun ani sonlanması izleniyor. B: Axial T2A imajlarda belirgin dilate intrahepatik safra yolları. C: Koronal T2A imajlarda tümöre sekonder dilate ekstra ve intrahepatik safra yolları, distandu safra kesesi (ince ok), dilate pankreatik duktus ve atrofik pankreas parankimi (kalın ok) izleniyor (BVÜ Radyoloji Anabilim Dalı arşivinden).

Endoskopik ultrasonografi: EUS, çoğu çalışmada bildirilen duyarlılığı %95`in üzerinde olan, benign veya malign pankreas lezyonlarının saptanması için en hassas nonoperatif görüntüleme testidir [96]. Eş zamanlı olarak EUS eşliğinde pankreastan biyopsisi alınabilir. EUS özellikle diğer görüntüleme yöntemleri ile tespit edilmesi zor olan küçük tümörlerin (≤ 2 cm) tanınmasında faydalıdır. Ancak EUS, yaygın infiltran karsinomu, yakın zamanda geçirilmiş akut pankreatit atağından (<4 hafta) edemeyebilir [97].

Tümör belirteçleri: karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9), pankreas kanserinin tanısında duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmasa da hastayı takip etmede yararlıdır [98].

2.8.11 Tedavi

Pankreas kanseri tanısı alan hastaların %90`ından fazlası hayatını kayıbeder. Bu hastaların yaklaşık %70`i yaygın metastaz, diğer %30`unun ölüm anında sınırlı metastazı tespit edilir [99].

Cerrahi rezeksiyon, pankreas kanseri için potansiyel olarak en iyi tedavi yöntemidir. Tümörler, çevre damarlara invazyonuna göre “rezektabl” ve “anrezektabl” olarak sınıflandırılır. Damar invazyonu olmayan tümörler “rezektabl” kabul edilir.

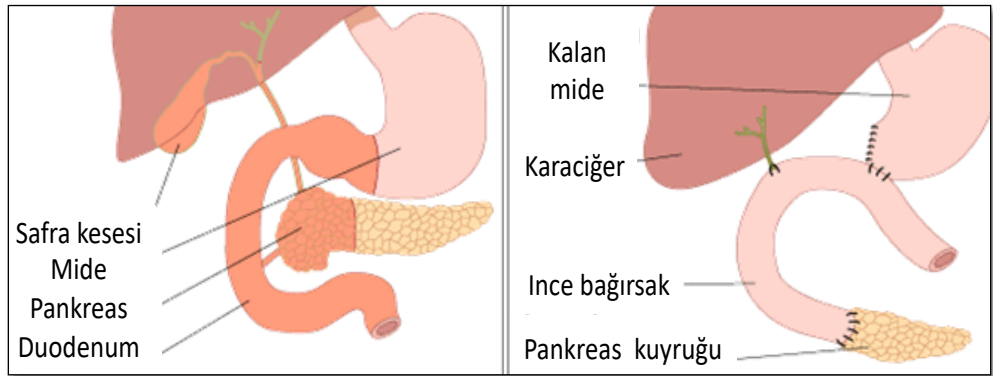
Fokal viseral arterlerin, superior mezenterik veninin kısa segmentinin ve SMV`inin portal venle kesişme noktası invazyonunda eskiden “anrezektabl” olarak kabul edilirken şimdilerde venöz rekonstrüksiyonun mümkün olması nedeniyle “sınırlı rezektabl” olarak değerlendirilmektedir [100].

Ancak PDAK`lı olgularda dikkatli bir değerlendirmeden sonra, hastaların sadece %15 ila 20`sinin cerrahi rezeksiyon için uygun aday olduğu ve bu hastaların çoğunun da cerrahi sınırdaki mikroskopik pozitif (R1) olduğu görülür [101]. Yapılan çalışmalarda hastanın sağkalım ve rekürrensinde R durumuna göre (R0 ve R1) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur [102]. Operasyondan sonra R0 hastalar için genel sağkalım 20-22 aydır [103].

Pankreasın baş ve boyun yerleşimli tümörlerini çıkarmak için pankreatikoduodenektomi, diğer adıyla Whipple operasyonu yapılır (Şekil 2.25). Gövde ve kuyruk yerleşimli tümörlerde ise genellikle splenektomi içeren distal pankreatektomi yapılır [104].

Bu hastalara cerrahi rezeksiyon ve ardından adjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi uygulanır. Adjuvan kemoterapinin değeri konusunda açık bir fikir birliği olmasına rağmen, adjuvan radyasyon tedavisinin rolü tartışmalıdır. İki Avrupa çalışmasında ise adjuvan radyasyon tedaviden fayda görmediği bildirilmiştir [105].

Sadece cerrahi ile %10 olan 5 yıllık sağkalımının; adjuvan kemoterapi ilavesiyle %25`e çıkması nedeniyle PDAK olgularında preoperatif neoadjuvan kemoterapi önerilmektedir [106, 107]. Bu nedenle cerrahi şansı olmayan metastazlı hastalara da son yirmi yıldır, gemsitabin tedavisi kullanılmaktadır. Daha yakın zamanlarda kombine tedavi protokolleri de uygulanmaktadır [108].



Şekil 2. 25 Whipple operasyonu (Hull University Teaching Hospitals, Surgery for Suspected Cancer of the Pancreas/Bile Duct).

2.9 Kemokinlerin (CXC) ve Kemokin Reseptörlerinin Kanserdeki Rolü

Sitokinler bağışıklık sisteminde görev alan düşük molekül ağırlığa (8 ve 80 kDa) sahip protein ve glikoprotein yapısında moleküller olup başta makrofajlar ve lökositler olmak üzere endotel hücreleri ve fibroblastlar tarafından sentezlenen ve salgılanan moleküllerdir. Sitokinler sadece bağışıklık sistemi hücrelerine değil, sinir sistemi ve endokrin sistem hücreleri gibi kendileri için reseptör taşıyan pek çok hücre üzerinde etkilidirler.

Kemokinler ya da kemotaktik sitokinler ile bunların reseptörleri, lökositlerin inflamasyon bölgelerine ve sekonder lenfoid organlara göçü sırasında yer alan temel mediatörlerdir. İmmün sistemdeki fonksiyonları yanısıra kemokinler tümörün başlatılması, gelişimi ve ilerlemesinde de kritik role sahiptir [109]. Lökositlerin göçü, embriyogenez, anjiyogenez, hematopoez, ateroskleroz, tümör büyümesi ve metastazı ve HIV enfeksiyonu gibi bir çok biyolojik işlemde yer alırlar [110].

Kemokinlerin, inflamasyon sırasında özellikle lökositik hücrelerin göçünü indüklediği bilinmektedir. Uzun süreli inflamasyonun, tümör hücresi gelişimi ve büyümesi için ideal olan bir mikro-ortam sağlayarak karsinogenezi desteklediği düşünülmektedir. Kemokinler, anjiyogenez, tümör-lökosit etkileşimlerinin yanı sıra doğrudan tümör transformasyonu, hayatta kalma, büyüme, invazyon ve metastazı etkileyerek tümör gelişimini dolaylı olarak etkiler. Kemokinlerin oynadığı rol, bazılarının tümör büyümesini ve ilerlemesini destekleyebileceği gibi, diğerleri ise anti-tümör immünitesini artırabileceği için oldukça karmaşıktır. Solid tümörler, tümör hücrelerine ek olarak, ayrıca fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi çeşitli stromal hücreler de içerir. Aynı zamanda tümörler nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler de dahil olmak üzere inflamatuvar hücreler tarafından infiltre edilir. Tümör hücreleri, stromal hücreler ve tümörle ilişkili lökositler tümör içindeki kemokin üretimine katkıda bulunurlar. Tümör kaynaklı kemokinler de lökositlerin tümör içine akışını yönetirler [111]. Bu şekilde kemokinler, sırasıyla pro- veya anti-tümör aktiviteleri olan hücreleri çekerek, tümör gelişimini otokrin tarzda uyarabilir veya inhibe edebilir. Tümörle ilişkili nötrofiller ve makrofajlar, matriks bozucu enzimleri ve büyüme faktörlerini salgılayarak tümör ilerlemesini destekleyebilir [112, 113].

Kemokinler düşük molekül ağırlığına sahip yaklaşık 50 farklı kemotaktik sitokinden oluşan bir gruptur. Kemokinler 8-15 kDa ağırlığında küçük monomerik proteinlerdir. Dimer veya oligomerler de oluşturabilirler [114].

Kemotaktik sitokinler fonksiyonlarına göre *homeostatik ve inflamatuvar kemokinler* olmak üzere iki gruba ayrılır. Homeostatik kemokinler belirli hücre tiplerinde ve dokularda sürekli olarak eksprese edilir. Hematopoetik ve immun sistemin gelişmesinde ve homeostazında önemli rol oynar. İnflamatuvar kemokinler ise sürekli bir şekilde eksprese edilmez. Ekspresyonları lokal pro-enflamatuvar sitokin ortamı tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir [109].

Yapısal olarak ise “**CXC, CC, CX3C** ve **C** kemokin ligandları” olmak üzere 4 temel kemokin grubu vardır [109, 115].

CXC; α (alfa) subgrup olarak da bilinir. İki sistein grubu arasında bir amino asit içerdikleri için “C-X-C” olarak adlandırılırlar. Bir kısmı CXCR2 reseptörüne bağlanarak anjiogenik, bir kısmı ise CXCR3 reseptörüne bağlanarak anjiostatik özellik gösterir.

CXCL12/STF-1 denen stromal hücre kökenli anjiogenik bir grup ise CXCR4 ve CXCR7 reseptörüne bağlanarak fonksiyon gösterir. İşlevleri arasında T lenfositlerin HIV ile infekte olmasında kofaktör olmak yanısıra; tümör hücrelerini metastaz bölgelerine yönlendirmek ve anjiogenezi desteklemek sayılabilir [109]. Bu özellikleri meme, akciğer, over, renal, prostat kansinomları ile nöroblastomda gösterilmiştir. CXCR4 eksprese eden tümörler, CXCL12 ligandı açısından zengin olan akciğer, karaciğer, lenf nodülleri ve kemik iliği gibi bölgelere metastaz yapmayı tercih ederler. Tümör hücresinin metastatik davranışını değiştiren önemli bir mekanizma hipoksidir. Oksijen konsantrasyonunun düşmesi HIF-1 α aracılığı ile tümör hücresinde CXCR4 yapımını artırır. CXCL12/SDF-1'in bazal hücreli karsinomda MMP-13 yapımını artırarak bazal membran ve ekstraselüler matriksin parçalanmasını sağladığı ve böylece tümör invazyonunda yer aldığı bildirilmiştir. Ayrıca VEGF, endotel hücrelerinde CXCR4 miktarını artırabilir. CXCR4 ile CXCL12/SDF-1 etkileşiminin kesilmesi metastazı inhibe edebilir. Tüm bu nedenler ile CXCR4 reseptörü kanser tedavisinde önemli bir terapötik hedefdir [109, 116, 117].

CC; β (beta) subgrup olarak bilinir. Kemokinler içinde en büyük grubu oluşturur. Amino terminallerinde yan yana iki sistein taşıdıkları için “C-C” olarak adlandırılmışlardır. Monosit, makrofaj, dendritik hücre, T hücresi, B hücresi, NK hücresi, bazofil, eozinofil ve mast hücreleri gibi birçok lökositik hücre için kemoatraktan moleküllerdir [109].

CX3C: δ (delta) subgrup olarak bilinir. İlk iki sistein arasında 3 amino asit içerdiği için “C-X3-C” olarak adlandırılır. CX3CL1/nörotaktin bu gruptandır [109].

C kemokinler: γ (gamma) kemokin subgrupudur. Amino terminalinde tek sistein içerdiği için “C” olarak adlandırılır. XCL1/lenfotaktin bu gruptandır [109].

2.10 Pankreas Kanseri Kök Hücreleri (KKH)

Son zamanlarda artan kanıtlar, kök hücrelerin sadece karmaşık çok hücreli organizmaların oluşumunda değil, aynı zamanda tümörlerin gelişiminde ve ilerlemesinde de belirleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir [4, 118]. Yapılan genom dizileme çalışmalarında ise çeşitli kanserlerde az sayıda hücrenin kök hücre benzeri özelliklere sahip olduğu bulunmuş, bu tür hücreler kanser kök hücreleri (KKH'ler) olarak adlandırılmıştır [119, 120]. Kök hücre hipotezi pankreas kanserinde de araştırılmıştır [121]. PDAK'larda CD133, CD24, CD44, CXCR4, EpCAM, ABCG2, c-Met, ALDH-1 ve nestin dahil olmak üzere KKH'ye özgü çeşitli belirteçler bildirilmiştir [122].

Bu çalışmada KKH olarak CD133 kullanılmıştır. Prominin-1 olarak da bilinen CD133 ilk önce normal hematopoetik kök hücrelerin bir belirleyicisi olarak keşfedildi. Daha sonra CSC'leri meme, beyin, karaciğer, kolon, prostat, pankreas ve pankreas tümörleri dahil olmak üzere çeşitli dokularda da bulundu [123-130]. CD133 sinyalleşmesinin, baş ve boyun bölgesinin skuamöz hücreli karsinomlarında EMT (epitelyal-mezenkimal geçişi) sağlayan ve kök hücre özelliklerin kazanılmasında anahtar role sahip olduğu bildirilmektedir [131]. Primer PDAK hücre hatlarında, CD133 ekspresyonu, kemoterapötik direnç, yüksek proliferasyon potansiyeli ve tümörigenez ile ilişkili bulunmuştur. Hipoksik koşullar altında KKH'lerde CD133, nestin ve SRY-box-2 ekspresyonu yükselir ve bu tip hücreler artan proliferasyon oranları ve kendi kendini yenileme potansiyeli sergiler [132]. CD44+CD24+EpCAM+ ve CD133+ PDAK hücreleri arasında %10 ila 40 oranında örtüşme olduğu bildirilmiştir [130].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olgu Seçimi ve Çalışma

Çalışmaya Ocak 2012-Aralık 2019 tarihleri arasında Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Hastanesinde, radikal cerrahi ile tedavi edilen pankreas kanserli 80 olgu dahil edildi. Olgulara ait patoloji preparatları tümör, tümör çevresi, tümörden uzak pankreas dokusu, lenf nodu metastazı açısından tekrar değerlendirildi. Gerektiğinde bloklarından tekrar kesitler alındı. TNM evreleme sistemi için 2017 AJCC 8. baskısı kullanıldı. Olgulara ait arşiv dosyaları incelendi.

Hastaların yaş ortalaması 65,3 (38-84) olan 56 erkek ve 24 kadın vardı. 80 olgu arasından 70 hastada tümör, pankreas başında ve kalan 10 hastada pankreasın diğer kısımlarda yerleşimli idi. Tüm olgular pankreas duktal adenokarsinom tanılıydı ve lezyonun maksimum çapı >4 cm olan 22 olgu yer alırken, diğer 58 olgu ise ≤4 cm idi.

Olgular 2017 AJCC 8. baskısına dayanarak iki gruba ayrıldı. I gruba IA, IB ve IIA evreleri (yani lenf nodu metastazı olmayan olguları), II gruba IIB ve III evreleri (lenf nodu metastazı mevcut olan olguları) dahil ettik. Klinik olarak hastaların uzak metastazlarını bilmediğimiz için evre IV'ü kullanmadık.

I. grupta 22 olgu mevcut idi. Bunların 13 erkek, 9 kadın ve ortalama yaş 65,3 (53-82) idi. IA'da 2, IB'de 16 ve IIA'da 4 olgu vardı.

II grupta 58 olgu mevcut idi. Bunların 43 erkek, 15 kadın ve ortalama yaş 61,9 (38-73) idi. Her iki evrede (IIB ve III) 29 olgu vardı.

Çalışmada olguların tümörlü, tümör çevresi, tümörden uzak pankreas ve metastazlı lenf nodülünün parafin blokları kullanıldı. Her bloktan mikrotomla 4 kesit alındı. Her olgunun 3 kesiti immünohistokimyasal analiz için, 1 kesiti ise hematoksilin ve eozin (H&E) boyası için kullanıldı.

3.2 İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar için CD133 (Cell Signaling Technology klon D4W4N antikoru), CXCL12 (Cell Signaling Technology klon D8G6H antikoru) ve CXCR4 (Cell Signaling Technology klon D4Z7W antikoru) antikorları kullanıldı.

Formalinle tespit edilmiş parafine gömülü dokuların dört mikrometre kalınlığındaki (4 mikron) kesitleri, 3-aminopropilksilen ile kaplı lamlar (pozitif şarjlı lam) üzerine alındı.

Daha sonra, antikor uygulamalarına geçildi:

CD133 için: üreticinin protokolünü takip ederek rabbit poliklonal Cell Signaling Technology klon D4W4N antikoru (1/100 titre; rabbit poliklonal antikor) ile Ventana BenchMark Ultra (Ventana Medical Systems Inc.) cihazında boyandı.

Boyama protokolü, 1 saat boyunca Cell Condition-2 (sitrata), pre-peroksidaz inhibisyonu ve 37°C'de 1 saat 40 dakika birincil antikor inkübasyonunu içeriyordu. CD133 (CD133) protein ekspresyonunu saptamak için UltraView Universal DAB Saptama Kiti (Ventana Medical Systems) kullanıldı. Dokulara 16 dakika boyunca Hematoksilin ve 4 dakika boyunca Bluing Reagent ile karşı boyama uygulandı.

CXCL12 için: üreticinin protokolünü takip ederek rabbit poliklonal Cell Signaling Technology klon D8G6H antikoru (1/100 titre; rabbit poliklonal antikor) ile Ventana BenchMark Ultra (Ventana Medical Systems Inc.) cihazında boyandı.

Boyama protokolü, 1 saat boyunca Cell Condition-1 (EDTA), pre-peroksidaz inhibisyonu ve 37°C'de 44 dakika birincil antikor inkübasyonunu içeriyordu. CXCL12 ekspresyonunu saptamak için UltraView Universal DAB Saptama Kiti (Ventana Medical Systems) kullanıldı. Dokulara 16 dakika boyunca Hematoksilin ve 4 dakika boyunca Bluing Reagent ile karşı boyama uygulandı.

CXCR4 için: üreticinin protokolünü takip ederek rabbit poliklonal Cell Signaling Technology klon D4Z7W antikoru (1/100 titre; rabbit poliklonal antikor) ile Ventana BenchMark Ultra (Ventana Medical Systems Inc.) cihazında boyandı.

Boyama protokolü, 1 saat boyunca Cell Condition-1 (EDTA), pre-peroksidaz inhibisyonu ve 37°C'de 44 dakika birincil antikor inkübasyonunu içeriyordu. CXCR4 ekspresyonunu saptamak için UltraView Universal DAB Saptama Kiti (Ventana Medical Systems) kullanıldı. Dokulara 16 dakika boyunca Hematoksilin ve 4 dakika boyunca Bluing Reagent ile karşı boyama uygulandı.

3.3 İstatistiksel Analiz

CXCR4, CXCL12 ve CD133 arasındaki korelasyon değerlendirilmesi için veriler IBM SPSS satatistik 22,0 paket program ile analiz edildi. Kategorik değişikliklerin dağılımına ki kare testi ile bakıldı. Tanımlayıcı istatistik olarak medyan (min-mak), frekans ve yüzde değerleri verildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

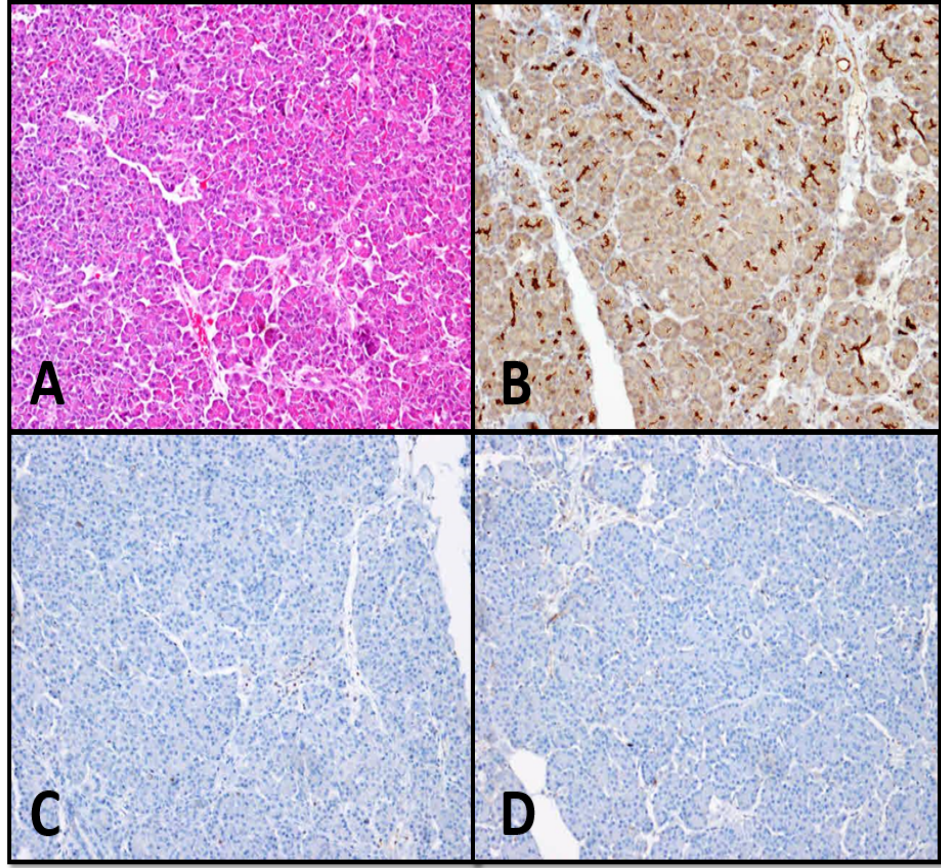
4. BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen PDAK'lı 80 olgunun klinikopatolojik özelliklerine göre dağılımları **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 1 PDAK'lı olguların bazı klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı.

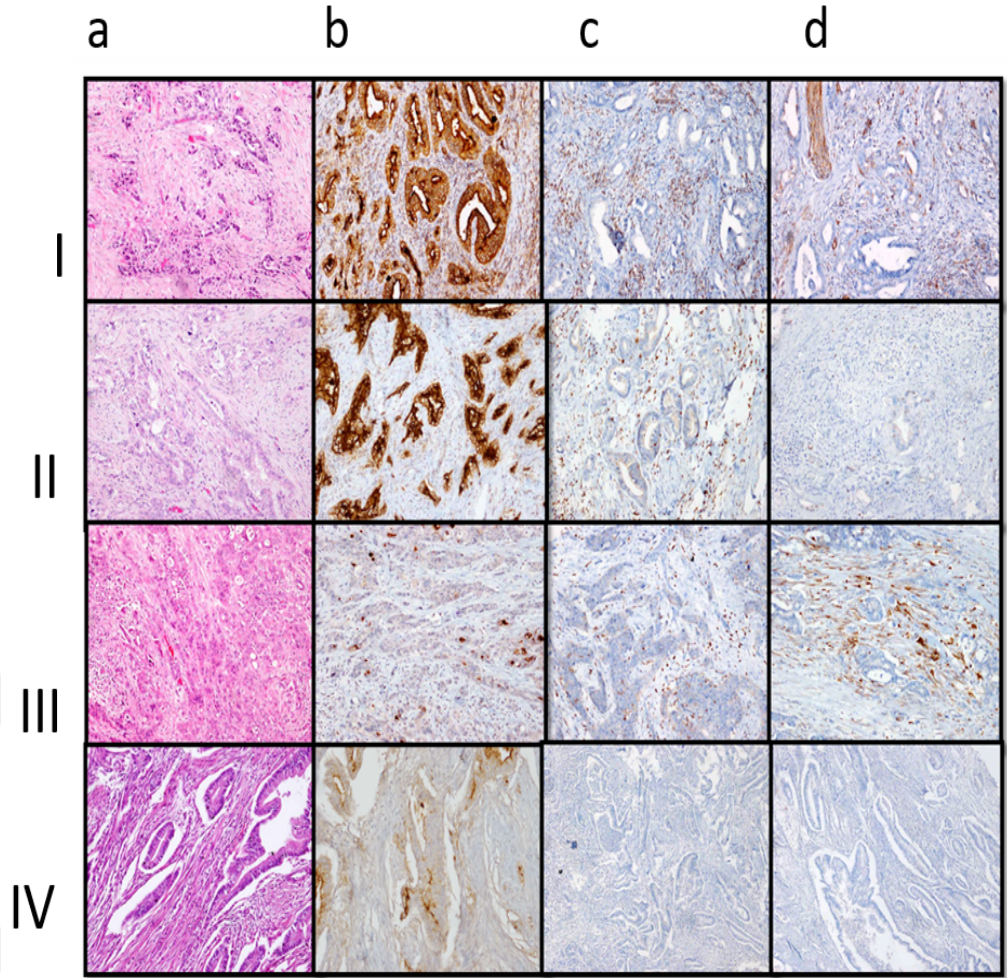
	Tüm olgular	I grup	II grup
Toplam sayı	80	22 (%27,5)	58 (%72,5)
Yaş	65,3 (38-84)	65,3 (53-82)	61,9 (38-73)
Cinsiyet			
Erkek	56 (%70)	13 (%59)	43 (%74,2)
Kadın	24 (%30)	9 (%41)	15 (%25,8)
Tümör lokalizasyonu			
Pankreas başı	70 (%87,5)	19 (%86,4)	51 (%87,9)
Gövde, kuyruk	10 (%12,5)	3 (%13,6)	7 (%12,1)
Tümör ölçüsü			
≤4 cm	58 (%72,5)	17 (%77,3)	41 (%70,7)
>4 cm	22 (%27,5)	5 (%22,7)	17 (%29,3)

Her iki grup çalışmasında tümör çevresi pankreas stromasında, tümörden uzak pankreas stromasında CXCR4 ve CXCL12 ile, tümör çevresi pankreas dokusunda ve tümörden uzak pankreas dokusunda ise CD133 ile boyanma saptanmadığı için değerlendirilme dışı bırakıldı (**Şekil 4.1**). Bu nedenle tümör, tümör stroması, metastazlı lenf nodu, metastazlı lenf nodu stroması değerlendirildi.



Şekil 4. 1 Tümör çevresi ve tümörden uzak pankreas dokusunda İmmunhistokimya ve H&E. (A) H&E (x100); (B) CD133 negatif ekspresyon (x100); (C) CXCR4 negatif ekspresyon (x100); (D) CXCL12 negatif ekspresyon (x100).

Bu çalışmada H&E boyalı kesitler ve immünhistokimya boyalı kesitler ışık mikroskopi ile incelenmiştir. Tümör stromasında ve metastazlı lenf nodu stromasında CXCR4 ve CXCL12 antikoruna tarafından boyanmış bir sitomembran ve sitoplazmaya sahip hücreler pozitif olarak tanımlandı. Tümör ve metastazlı lenf nodundaki tümör hücrelerinde CD133 ile sitomembran ve sitoplazma boyanması pozitif olarak kabul edildi. CD133 normalede gland lümenlerini boyadığı için tek başına lümenal yüzeylerin boyanması pozitif kabul edilmedi. Her alan x400 kat büyütülmüş görüş alanında değerlendirildi ve kahverengi boyanma sergileyen hücreler pozitif hücreler (hedeflenen biyobelirteçler için pozitif) olarak kabul edildi (Şekil 4.2, Şekil 4.3).



Şekil 4. 2 PADK' da H&E ve CD133, CXCL12 ve CXCR4 immunhistokimyası.

- I. (a) H&E (x100); (b) CD133 pozitif ekspresyon (x100); (c) CXCR4 pozitif ekspresyon (x100); (d) CXCL12 pozitif ekspresyon (x100).
- II. (a) H&E (x100); (b) CD133 pozitif ekspresyon (x100); (c) CXCR4 pozitif ekspresyon (x100); (d) CXCL12 negatif ekspresyon (x100).
- III. (a) H&E (x100); (b) CD133 negatif ekspresyon (x100); (c) CXCR4 pozitif ekspresyon (x100); (d) CXCL12 pozitif ekspresyon (x100).
- IV. (a) H&E (x100); (b) CD133 negatif ekspresyon (x100); (c) CXCR4 negatif ekspresyon (x100); (d) CXCL12 negatif ekspresyon (x100).

I. grupta 22 olgunun içinde CXCR4 ve CXCL12, 9 olguda (%41) tümör stromasında birlikte ekspresyon gösterdi. 3 olguda (%13,6) ise her üç biyobelirteç de (CXCR4, CXCL12, CD133) pozitif idi. CXCR4, CXCL12 ve CD133'ün tek başına eksprese olmadıkları gözlemlendi. 10 olguda (%45,5) ise hiçbir boyanma izlenmedi.

II. grupta 58 olgu içinde tümör stromasında ve tümörde 1 olguda (%1,7) CD133, 2 olguda (%3,4) CXCL12, 3 olguda (%5,2) CXCR4, 10 olguda (%17) CXCL12+CXCR4, 21 olguda (%36,2) CD133+CXCL12+CXCR4, 6 olguda (%10,3) CD133+CXCR4 ekspresyonu izlendi. 15 olguda (%26,2) hiçbir boyanma izlenmedi.

I. ve II. grup karşılaştırıldığında CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tek başlarına eksprese olma durumları ve CD133/CXCR4 birlikte ekspresyonunda istatistiksel olarak fark görülmedi. Ancak CXCL12/CXCR4 ve CD133/CXCL12/CXCR4 bir arada eksprese olmaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü (**Tablo 4.2**).

Metastazlı lenf nodlarında ve metastazlı lenf nodlarının stromasında 7 olguda (%12) CXCL12, 1 olguda (%1,7) CXCR4, 16 olguda (%27,6) CXCL12+CXCR4, 21 olguda (%36,2) CD133+CXCL12+CXCR4, 4 olguda (%6,9) CD133+CXCR4 ekspresyonu izlendi. 9 olguda (%15,6) hiçbir boyanma izlenmedi.

II. grupta tümör ile metastazlı lenf nodu karşılaştırıldığında CD133 ve CXCL12`ün tek başına ekspresyonunda istatistiksel olarak fark görülmedi. Ancak CXCR4`un yalnız ekspresyonunda, CXCL12/CXCR4, CD133/CXCR4 ve CD133/CXCL12/CXCR4 beraber ekspresyonlarında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**Tablo 4.3**).

II. grupta CD133 ekspresyonunda boyanma şiddetinde farklılıklar görüldü. 16 olguda (%55,2) zayıf membranöz boyanma saptanırken, 12 olguda (%41,4) kuvvetli ve 1 olguda (%3,4) ise kuvvetli yamasal membranöz ve sitoplazmik boyanma dikkati çekti (**Şekil 4.4**). I. grupta ise sadece 3 olguda (%13,6) zayıf boyanma izlendi. Aynı zamanda tek başına CD133 boyanması sadece II. grupta 1 olguda (%1,25) boyanma izlenmiş olup CXCL12 ve CXCR4 ile 24 hastada (%30) birlikte ekspresyonu izlendi.

Tablo 4. 2 I. ve II. grupta CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tümörde dağılımı.

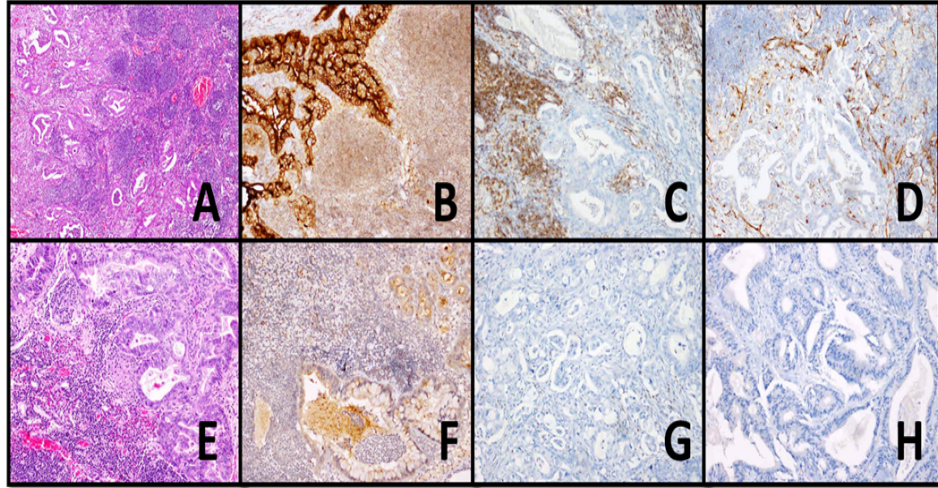
Biyobelirteç	I.grup	II.grup	Toplam	P value
CD133	n (%)	n (%)	n (%)	
0	22 (100)	57 (98,3)	79 (98,8)	
1	0 (0)	1 (1,7)	1 (1,3)	
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	0,725
CXCL12				
0	22 (100)	56 (96,6)	78 (97,5)	
1	0 (0)	2 (3,4)	2 (2,5)	0,523
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	
CXCR4				
0	22 (100)	55 (94,8)	77 (96,3)	
1	0 (0)	3 (5,2)	3 (3,7)	0,376
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	
CXCL12/ CXCR4				
0	13 (59,1)	48 (82,8)	61 (76,3)	
1	9 (40,9)	10 (17,2)	19 (23,7)	0,026
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	
CD133/ CXCR4				
0	22 (100)	52 (89,7)	74 (92,5)	
1	0 (0)	6 (10,3)	6 (7,5)	0,135
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	
CD133/CXCL12/CXCR4				
0	19 (86,4)	37 (63,8)	56 (70)	
1	3 (13,6)	21 (36,2)	24 (30)	0,049
Toplam	22 (27,5)	58 (72,5)	80 (100)	

0-negatif, 1-pozitif.

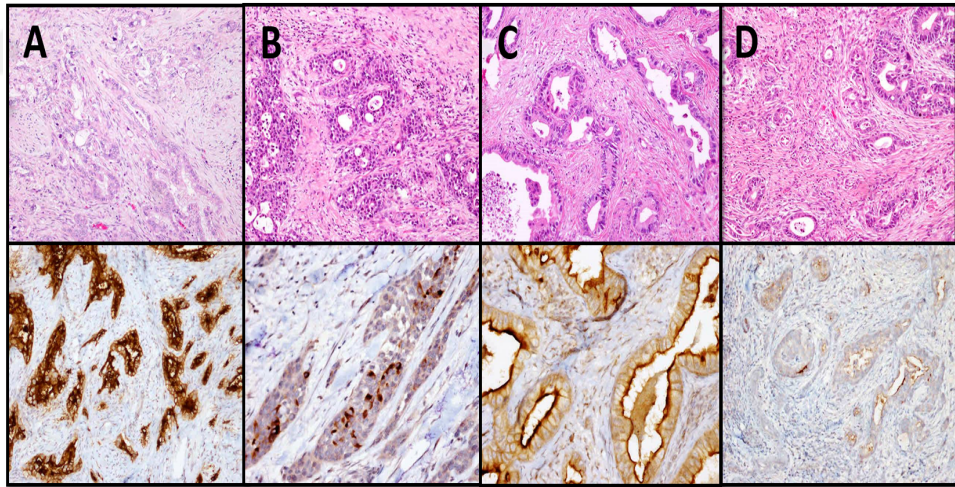
Tablo 4. 3 II. grupta CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin tümörde ve metastazlı lenf nodunda dağılımı.

II Grupta Biyobelirteçler	CXCL12 n (%)	Lenf nodülünde n (%)		Toplam n (%)	P value
Tümörde		0	1		
0	56 (96,6)	51 (91,1)	5 (8,9)	56 (100)	
1	2 (3,4)	0 (0)	2 (100)	2 (100)	0,052
Toplam	58 (100)	51 (87,9)	7 (12,1)	58 (100)	
Tümörde	CXCR4				
0	55 (94,8)	55 (100)	0 (0)	55 (100)	
1	3 (5,2)	2 (66,7)	1 (33,3)	3 (100)	0,013
Toplam	58 (100)	57 (98,3)	1 (1,7)	58 (100)	
Tümörde	CXCL12/CXCR4				
0	48 (82,75)	41 (85,4)	7 (14,6)	48 (100)	
1	10 (17,25)	1 (10)	9 (90)	10 (100)	<0,01
Toplam	58(100)	42 (72,4)	16(27,6)	58 (100)	
Tümörde	CD133/ CXCR4				
0	52 (89,6)	52 (100)	0 (0)	52 (100)	
1	6 (1,4)	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (100)	<0,01
Toplam	58 (100)	54 (93,1)	4 (6,9)	58 (100)	
Tümörde	CD133/ CXCL12/CXCR4				
0	37 (63,8)	35 (94,6)	2 (5,4)	37 (100)	
1	21 (26,2)	2 (9,5)	19 (90,5)	21 (100)	<0,01
Toplam	58 (100)	37 (63,8)	21 (36,2)	58 (100)	

0-negatif, 1-pozitif.



Şekil 4. 3 Metastazlı lenf nodlarının H&E ve CD133, CXCL12 ve CXCR4 immunhistokimyası. (A) H&E (x40); (B) CD133 pozitif ekspresyon (x100); (C) CXCR4 pozitif ekspresyon (x100); (D) CXCL12 pozitif ekspresyon (x100); (E) H&E X 100; (F) CD133 negatif ekspresyon (x100); (G) CXCR4 negatif ekspresyon (x100); (H) CXCL12 negatif ekspresyon (x100).



Şekil 4. 4 PADC'da H&E ve CD133 immunhistokimyasal bulgular. (A) H&E (x100) ve CD133 kuvvetli pozitif ekspresyon (x100); (B) H&E (x100) ve CD133 yamalı pozitif ekspresyon (x200); (C) H&E (x100) ve CD133 zayıf pozitif ekspresyon (x200); (D) H&E (x100) ve CD133 negatif ekspresyon (x100).

Bu çalışma, pankreas kanserinin ilerlemesinde CD133, CXCL12 ve CXCR4'ün rolünü aydınlatmak için 80 hastada tümör evresi ile bu biyobelirteçlerin ekspresyon profilleri arasındaki ilişkiyi analiz etmek üzere yapılmıştır. CD133, CXCL12 ve CXCR4'un birarada ekspre edilme durumu, lenf nodu metastazı varlığı

ile istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulunmuştur. CD133, CXCL12 ve CXCR4 ekspresyonu ile hasta yaşı, cinsiyet, tümör yerleşimi ve tümör boyutu arasında ise korelasyon gözlenmemiştir.

Tümör komşuluğu ve tümörden uzak stroma alanlarında CXCR4 ve CXCL12 ekspresyonu her iki grupta da gözlenmemiştir.



5. TARTIŞMA

Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAK), kötü prognoza sahip en yıkıcı kanserlerden biri olarak bilinir ve gün geçtikçe de insidansı artmaktadır [1]. 2018 yılında dünya çapında kanser ölümlerinin yedinci önde gelen nedeni olarak belirlenmiştir. 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %7'dir [2]. Ayrıca PDAK, üçüncü en yüksek yıllık ölüm oranı ile meme kanserini geçmiştir ve 2030 yılına kadar PDAK, kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedeni olacağı tahmin edilmektedir [1, 52]. Olguların %80'i 60-80 yaşları arasındadır [54]. Her iki cinsiyet için insidans oranı yaşla birlikte artmaktadır [2, 54]. Ama erkeklerde (100.000'de 5.5, 243.033 vaka) kadınlardan (100.000'de 4.0, 215.885 vaka) daha yaygındır [55].

Çalışmamızda olgular 38 ile 84 yaş aralığında dağılım göstermekte olup yaş ortalaması 65,3 olarak saptandı. Bu vakaların %83,75'i (67) 55 yaş üzerinde idi. Olguların 24 (%30)'ü kadın, 56 (%70)'si erkekti. Bizim çalışmamızda da dünya literatürü ile uyumlu olarak erkekte pankreas kanseri insidansının daha yüksek olduğu ve 55 yaş üstü daha çok rastlandığı görüldü.

Olguların üçte ikisinde tümör pankreasın baş bölgesine yerleşmiştir. Bu lokalizasyondaki tümörler sıklıkla safra ve pankreas kanalında tıkanmaya neden olur. Çalışmamızda da literatür ile uygun şekilde olgular büyük çoğunlukla pankreas başı yerleşimlidir. Toplam 80 olgu içinde %87,5 ve I. ve II. grupta sırası ile %86,4 ve %87,9 oranda pankreas başı yerleşimli bulunmuştur (**Tablo 4.1**).

Cerrahi rezeksiyon, potansiyel olarak küratif tek tedavidir. Ne yazık ki, geç tanı nedeniyle hastaların sadece %15-20'si cerrahi müdahale için uygun olmaktadır. Bu nedenle, kemoterapötik yaklaşımlar hastaların büyük çoğunluğunda PDAK tedavisinin temelidir. Ayrıca, tam bir rezeksiyondan sonra bile prognoz kötüdür. Pankreatikoduodektomi sonrası beş yıllık sağkalım, lenf düğümü negatif olgular için ~%29,7, lenf düğümü pozitif hastalar için %10,5-8,9'dur [94]. Bu iç karartıcı prognoz, hastalığın geç teşhisi, erken taramaya izin veren biyobelirteçlerin eksikliği, erken metastatik yayılım ve nihayetinde sistemik tedavilere karşı dirençin bir sonucudur. Tüm bu nedenlerle bu hastalığın tanı ve tedavisinde pankreas kanserinde invazyon ve metastazın altında yatan mekanizmaların araştırılması ve anlaşılması da önemlidir.

Son yıllarda, kanser hücrelerinde ortaya çıkan moleküler değişikliklere göre hedefe yönelik tedavilerin rasyonel tasarımına dayanan yöntemlerle melanom, akciğer ve kolorektal kanser dahil olmak üzere birçok tümör tipinin tedavisinde önemli

ilerlemeler görülmüştür [3]. Ne yazık ki, ölümcül bir hastalık olarak kalan PDAK`da benzer başarıya henüz ulaşamamıştır.

Bu konuda onaylanan ilaçlardan biri EGFR tirozin kinaz inhibitörü Erlotinib'dir. Sağkalımda sadece ılımlı bir artış sağlayan bir immünmodülatör olan gemsitabin kullanımına ise hasta yararına göre karar verilmektedir [108]. Erlotinib, gemsitabin ile birleştirildiğinde genel olarak hayatta kalmayı 5.91- 6.24 ay kadar uzatmaktadır [133]. Yakın zamanda bildirilen ümit verici bir kombine kemoterapi yaklaşımı da gemsitabine kıyasla önemli bir sağkalım yararı sağlayan FOLFIRINOX (oksaliptin, irinotekan, lökokovorin ve 5-florourasil)'dir [134]. Yine de medyan sağkalım bir yıldan azdır ve toksisite nedeniyle ancak performansı iyi durumda olan hastalar için uygundur [134, 135]. Bu nedenle, PDAK hastalarının büyük çoğunluğu için hala yeni yaklaşımlara ve tedavilere ihtiyaç vardır.

Sistemik tedavilerin başarısızlığına katkıda bulunan bir faktör, PDAK`nın karakteristiği olan bol miktarda tümör stroması içeriği olabilir. PDAK stroması çok heterojendir ve fibroblastlar, miyofibroblastlar, pankreas stellat hücreleri, bağışıklık hücreleri, kan damarları, hücre dışı matriks, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi hücrel ve hücrel olmayan bileşenlerden oluşur [5].

Pankreas tümör stromasının hücrel bileşenlerinin yaklaşık %50'si makrofajlar, miyeloid türevi baskılayıcı hücreler (MDSC`ler) ve düzenleyici T hücreleri (Tregler) dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerinden oluşur ve bu hücreler kanser hücrelerini zarar vermekten daha çok korur [136]. Parakrin etkinleşme ile tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), PDAK hücrelerinde sitidin deaminaz düzeylerini artırarak ve böylece metabolizmasını yükselterek gemsitabin direncine katkıda bulunur [137]. Aynı zamanda TAM`lar, MDSC`ler ve Treg`lerle birlikte tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçmasını teşvik eder [138, 139]. Desmoplastik reaksiyon ayrıca kemik iliği kaynaklı dendritik hücreler (BMDC`ler), kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF`ler) ve pankreatik satelat hücreler (PSC) gibi kanserli olmayan stroma bileşenlerinin çoğalmasını da sağlar. Bu hücreler büyüme faktörleri, kemokinler ve diğer sinyal moleküllerinin üretilmesinde önemli bir rol oynarlar [139].

Pankreasın stellat hücrelerinin ve PDAK hücrelerinin ortak kültürlerine büyüme faktörleri ve sitokinlerin eklenmesi ile pankreas kanseri hücresi proliferasyonunda ve göçünde bir artış izlenmiştir [140].

Tümör mikroçevresi farklı bir birleşime ve işlevselliğe de sahiptir. Pankreatik duktal adenokarsinom histolojik olarak, yaygın olarak desmoplazi olarak da

adlandırılan hücre dışı matriksin (ECM) bolluğu ile karakterizedir. Hücre dışı matriks bileşenleri arasında kolajen, fibronektin, proteoglikanlar ve hiyalüronik asit ile katalitik olarak aktif enzimler ve proteinazlar bulunur. ECM bileşenlerinin birikmesi, pankreas dokusunun normal mimarisini bozarak kan ve lenfatik damarlarda anormal bir konfigürasyona, perfüzyonun azalmasına ve verilen ilacın tümör hücrelerine erişiminin engellenmesine yol açar [141, 142].

Birçok çalışma, hipoksi durumunda, hücrelerin hem kemoterapiye hem de radyoterapiye daha dirençli olduğunu, invaziv ve metastatik potansiyellerini artırabileceğini ve sonuçta daha agresif bir hal alabileceği kanıtlamıştır [143, 144]. Hipoksik yanıtta yer alan ana yol, hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α) yoludur [145]. HIF-1 α , hücre metabolizmasını, hücre sağkalımını, göçünü ve pH'nı kontrol eden çok çeşitli gen ürünlerini indükleyebilir [146]. HIF-1 α ayrıca birçok anjiyogenik büyüme faktörü olan CXCR4'ün regülasyonunu indükler [147, 148].

PDAK'daki benzersiz TME, kısmen kanserli ve normal hücreler arasındaki karşılıklı sinyalleşme ağlarıyla yönetilir. Birçok sinyal molekülü tümör biyolojisinde önemli bir rol oynasa da sitokinler, özellikle kemokinler, muhtemelen TME'nin kurulmasında ve korunmasında en etkili araçlar arasındadır [149, 150]. Kemokinler çeşitli fizyolojik ve immün süreçleri düzenleyen ve aynı zamanda tümör hücrelerinin büyüme, proliferasyon ve metastazını da artıran moleküllerdir. Kemokinler, daha sonra CD8 T-hücresini inhibe eden ve tümör immunitisini destekleyen makrofajların tümöre alınmasından sorumludur [138]. Kemokinler ayrıca Treg`i, MDSC`yi ve kemik iliği kaynaklı fibroblastları tümör bölgelerine alır [151-154]. Kemokin ligandlarından biri olan CXCL12 için uygun reseptör CXCR4 reseptördür. Kemokin sinyalleşme ağı olan bu CXCL12/CXCR4 kompleks, tümör mikro çevresini oluşturan en belirgin kemokin moderatörlerinden biridir [155].

Kemokinler, anjiyogenik veya anjiyostatik özellikleri ile tümör büyümesini dolaylı olarak da etkileyebilir. Anjiyogenez, integrinler, anjiyopoietinler, kemokinler, oksijen sensörleri, büyüme faktörleri, hücre dışı matriks proteinleri ve diğer birçok molekül gibi çok sayıda uyarıcı ve inhibe edici sinyalin dahil olduğu karmaşık bir işlemdir [156, 157]. Anjiyostatik ve anjiyogenik faktörler arasındaki hassas bir denge mevcuttur. Tümör büyümesi, anjiyogenik ve anjiyostatik faktörler arasındaki denge anjiyogenik faktörler lehine bozulduğunda meydana gelir. Çünkü bir tümörde kan damarları gelişmezse tümör 2 mm`den fazla büyüyemez. Folkman ve arkadaşları tümöre besin ve oksijeni sağlayan ve atık ürünleri kanser hücrelerinden uzaklaştırarak

tümör büyümesini destekleyen anjiyogenezin bloke edilmesinin tedavide uygun olabileceğini belirtmişlerdir [158].

Bazı çalışmalarda, CXCR4 kemokin reseptörün CXCL12 ligandı ile etkileşmesi sonucunda, birçok kanser türünde tümör proliferasyonu, invazyonu, anjiyogenezi, metastazı ve göçünde önemli bir rol oynadığı gözlenmiştir [109, 159, 160].

Bazı çalışmalarda mast hücrelerinin pankreatik tümörlere alınması ve aktivasyonunun CXCR4'e bağımlı bir şekilde gerçekleştiği [161] ve aktive edilmiş mast hücrelerinin de PSC'leri aktive eden ve PDAK büyümesini ve hayatta kalmasını daha fazla uyarıcı IL-13'ü serbest bıraktığını bulmuşlardır [162].

Birçok çalışmada CXCR4 reseptör, birincil kemokin ligandı CXCL12 ile birlikte, pankreas kanseri gelişimi, invazyonu ve metastazında önemli rol oynadığı belirlenmiştir [163]. Bu çalışmalar bir pankreas tümör hücresinin belirli bir organa metastaz yapabileceği mekanizmanın aşağıdaki gibi olabileceğini söylemektedir. İlk olarak, tümör hücreleri primer lezyonlarda çoğalır ve hücrelerin yüzeyinde aşırı CXCR4 ekspresyonu mevcuttur. İkincisi, hedef organın yüzeyinde eksprese edilen CXCL12 ligandı ise tümör hücrelerini tümör dokusundan ayrılmasını teşvik edebilir, adezyon molekülünü aktive edebilir ve hücre dışı matrisi (ECM) çözmek için daha fazla MMP ve VEGF salgılamalarını sağlayabilir. Bunun sonucunda tümör hücreleri, tümör dolaşım sistemine geçebilir ve daha sonra yüksek CXCL12 ekspresyon seviyelerine sahip organın vasküler duvarı ile birleşebilir. Bu mekanizma ile, göç eden hücreler yeni organda çoğalmaya devam edebilir ve başka bir yere metastaz yapabilir [164, 165]. CXCR4 ve CXCL12/SDF-1 arasındaki etkileşimin kesilmesi, metastatik işlemi engelleyebilir. Bu nedenle, CXCR4 reseptörü, kanser tedavisi için önemli bir terapötik hedef olabilir.

Balkwill ve arkadaşları kanser hücrelerinin rastgele metastaz yapmadığını, belirli dokularda eksprese edilen kemokinler tarafından salınan sinyallerle, tümör hücrelerinin uzak organ bölgelerine migrasyon, implantasyon ve sonrasında büyüme ve hayatta kalmasının sağlandığını görmüşlerdir [111].

Demir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu sinyal iletim ekseninin aynı zamanda ağrı hissinin azalmasıyla PDAK'un semptomatik olmasını engelleyerek tanının gecikmesinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [166].

McCubrey ve arkadaşları bu iletim ekseninin, Bcl-2 dahil olmak üzere çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu artırarak anti-apoptotik proteinleri aktive ettiğini, pro-

apoptotik etkileri ise inhibe ederek kanser hücrelerini apoptozdan kaçırdığını bulmuşlardır [167].

Bazı çalışmalarda pankreas kanseri dokularında CXCR4'ün aşırı eksprese edildiği tespit edilmiştir ve bu da pankreas kanserinin farklılaşması, metastazı, büyümesi ve prognozu ile yakın bir ilişkili bulunmuştur [164, 168, 169].

Wu ve arkadaşları çalışmalarında pankreas kanser hücrelerinde yüksek düzeyde CXCR4 eksprese edilirken, komşu stromal hücreler ve diğer uzak organlar tarafından CXCL12 salgılandığını saptamışlardır [164].

Cui ve arkadaşları PDAK'lu 30 olguda kanserli dokularda, normal pankreas dokusunda ve lenf düğümlerinde CXCR4 ve CXCL12'nin ekspresyonunu incelemiştir. Tümör dokularındaki CXCL12 ekspresyonunun normal pankreas dokuları ve lenf düğümlerinden önemli ölçüde daha düşük, ama kanserli dokularda aksine CXCR4 ekspresyonu normal pankreas dokusundan oldukça yüksek olduğunu görmüşlerdir [168].

Wehler ve arkadaşları 103 olguda pankreas kanserinin CXCR4 ekspresyonun retrospektif olarak değerlendirdiklerinde CXCR4'ün güçlü ekspresyonu ile ileri evre pankreas kanseri arasında anlamlı derecede ilişki bulmuşlardır [169].

CXCL12'nin tümör lezyonunda araştıran az sayıda çalışma vardır ve bu çalışmalarda over, pankreas kanseri ve glioma dahil olmak üzere belirli kanser türlerinde CXCL12'nin anormal ekspresyonu olduğu belirlenmiştir [170-172].

Zhous ve arkadaşları kemokinlerin, tedavi şansı olmayan on altı olgudan oluşan malign beyin tümörlerinin büyümesinde önemli olup olmadığını araştırmış ve CXCL12'nin gliom hücreleri için hayatta kalma faktörü olduğunu bulmuşlardır [171]. Salmaggi ve arkadaşları CXCL12 ve reseptörü olan CXCR4'ün kötü prognozlu ve vaskülarize tümörler olan malign gliomlarda aşırı eksprese edildiğini göstermişlerdir [172]. Lapidot ve arkadaşlarının çalışmasında ise kemik iliğinde artan CXCL12 ekspresyon seviyelerinin azaltılması ile tümör hücresi göçünün inhibe edebileceğini ve yüksek dereceli gliomanın yüksek CXCL12 ekspresyonu nedeni ile ilerlemesinin normalden daha hızlı olduğunu bulmuştur [170]. CXCL12/CXCR4'ü araştıran Zhong ve arkadaşları 34 pankreas kanserli hastada CXCL12'nin kökeninin mezenkimal hücrelerle ilişkili olduğunu ve CXCR4/CXCL12 eksenini yoluyla tümör hücresi invazyonunda rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir [173]. Başka bir çalışmada, CXCL12'nin dendritik hücrelerin olgunlaşmasını engelleyerek tümör bağışıklık tepkisini kısıtlayabileceği öne sürülmüştür [174].

Bizim çalışmamızda I ve II grupta tümörde, tümör çevresi pankreas dokusunda, normal pankreas dokusunda ve metastazlı lenf nodunda CXCR4, CXCL12 ve CXCR4/CXCL12 ko-ekspresyonuna baktık.

CXCR4'ün tek başına ekspresyonu her iki grupta tümör çevresi ve tümörden uzak pankreas dokularında ve I. grupta tümör dokusunda izlenmedi. II. grupta ise pankreas kanseri dokularında %5,2 ve metastazlı lenf nodlarında %1,7 oranda izlendi. İstatiksel olarak ($p=0,052$) fark görülmedi.

CXCL12 yalnız ekspresyonu CXCR4 gibi tümör çevresi ve normal pankreas dokularında ve I. gruptaki tümör dokusunda izlenmedi. II. grupta ise tümörde %3,4, metastazlı lenf nodunda %12 olarak izlendi. Bu fark istatiksel olarak ($p=0,013$) anlamlı idi.

CXCR4 ve CXCL12 kompleksinin beraber ekspresyonu I. grup tümörde %41, II. grup tümörde %17, metastazlı lenf nodunda %27,6 oranda izlendi. Bu sonuçlar I. ve II. grup arasında ($p=0,026$) ve II. gruptaki tümör dokusu ile metastazlı lenf nodu arasında istatiksel olarak ($p<0,01$) anlamlıydı.

Toplam olarak baktığımızda 80 olguda CXCR4'ün yalnız ekspresyonu tümörde %3,75, metastazlı lenf nodunda %1,25 oranda; CXCL12'nin yalnız ekspresyonu tümörde %2,5, metastazlı lenf nodunda %8,75 oranda; CXCR4/CXCL12 birlikte ekspresyonu tümörde %23,75, metastazlı lenf nodunda %20 oranda izlendi.

Bu çalışmada CXCR4/CXCL12 kompleksinin tümör çevresi pankreas ve normal pankreas dokusunda izlenmeyip tümör ve metastazlı lenf nodunda ekspresyonunun saptanması yukardaki çalışmalarda olduğu gibi bu eksenin pankreas kanseri ile ilişkili olarak gelişen/aktifleşen bir proses olduğunu düşündürdü.

Aynı zamanda CXCR4/CXCL12 eksenin ekspresyonunu CXCR4 ve CXCL12'nin yalnız ekspresyonlarından yüksek olması nedeniyle kanserle ilişkisinin daha anlamlı olduğunu saptadık. Ek olarak, II. gruptaki metastatik lenf nodlarında CXCL12'inin aşırı ekspresyonu da tümör hücrelerinin migrasyonunun düzenlendiği bir mekanizma olduğunu desteklemektedir.

Yukarıda da belirtildiği gibi kemokinler ve reseptörleri, tümör oluşumunun farklı aşamalarında kritik roller oynadıklarından, kanser tedavisi için potansiyel moleküler hedefler olarak kabul edilirler. Bazı kemokinler, anjiyogenik ve tümörü teşvik eden proteinler olarak işlev görürken, diğerleri ise anjiyostatiktir ve tümör gelişimini önler. Bu bulgular, belirli bir kemokin veya kemokin reseptörünün ekspresyonuna etki edilerek tümör büyümesi, invazyon ve metastaz sürecine müdahale

etme imkanı sağlar. Özellikle, CXCR2 ve CXCR4 gibi kemokin reseptörlerini bloke eden monoklonal antikolar, deneysel test sistemlerinde tümör büyümesinin ve metastazın inhibe edilmesinde faydalı olmuştur. Mevcut kanıtlar, CXCR4 antagonistleri ile kombine edilmiş tedavilerin sağkalımı geliştirme potansiyeli taşıdığını desteklemektedir [175-177].

PDAK'un hayvan modelleri, CXCR4 antagonistlerinin makrofaj infiltrasyonunu inhibe ettiğini, tümör büyümesini azalttığını, apoptozu indüklediğini ve metastatik yayılımı baskıladığını göstermektedir [178-181]. Gerçekten de CXCR4'ün bloke edilmesi, baş ve boyun tümörlerinin büyümesini ve metastazını azaltmış ve primer beyin tümörlerinin intrakraniyal büyümesini inhibe etmiştir [182, 183]. Ayrıca, CXCR4'ün inhibitörleri, insan meme kanseri hücrelerinin ve akut lenfoblastik lösemi hücrelerinin in vitro olarak CXCL12/SDF-1 kaynaklı göçünü engellemiştir [184].

Arora ve arkadaşları ilginç bir şekilde, gemsitabinin, PDAK'da CXCL12/CXCR4 sinyal ağını arttırdığını ve reaktif oksijen türevlerinin (ROS) seviyelerini yükselttiğini bulmuşlardır. Bu durum Akt ve ERK yollarının aktivasyonuna ve sonuçta nükleer NF κ B ve HIF-1 α 'nın birikimine yol açar. HIF-1 α ise CXCR4 geninin promotör bölgesine bağlanarak CXCR4 gen ekspresyonunu teşvik eder. CXCR4 antagonistlerinin ise PDAK hücrelerini gemsitabine duyarlı hale getirdiğini görmüşlerdir [185].

Wu ve arkadaşları CXCR4/CXCL12 ekseninin pankreatik tümörü olan hastaların prognozu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ve tümörlerin tedavisi için yeni bir hedef olabileceğini düşünmüşlerdir [164].

Yukardaki çalışmalardan gördüğümüz gibi CXCR4/CXCL12 ekseninin bloke edilmesi tedavide çok yararlıdır. CXCR4 antagonisti olan AMD3100 (Plerixafor), kemik iliği nakli uygulamalarında hematopoietik kök hücrelerin mobilizasyonu için 2008 yılında FDA onayı almış olup klinik olarak kullanılmaktadır [186-188]. 2004 tarihinde Marchesi ve ark. AMD3100 uygulanmasının pankreas kanser hücrelerinin proliferasyonunu azaltabileceğini tanımladılar [189]. Gao ve arkadaşları daha sonra CXCL12 üreten PSC'lerin, pankreas kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyardığını ve AMD3100 ile yapılan tedavinin bu etkiyi ortadan kaldırdığını gösterdi [190].

5.1 Kanser Kök Hücreleri

Klasik karsinogenez modeli, pankreas gibi bir organdaki herhangi bir hücrenin mutasyonlarla kanserli bir hücreye dönüşebildiğini ileri sürer [191]. Bu model, kanserli tek bir hücreden gelişen tümör kitlesinin biyolojik olarak homojen olduğunu (stokastik büyüme) varsayar. Tamamen gelişmiş bir PDAK`daki hücrelerin tamamı veya çoğunun eşit derecede malign olduğu düşünülürse pankreas kanserini tedavi etmek için kullanılan ajanların tüm malign hücreleri öldürmesi gerektiği anlamına gelir. Ama mevcut deneylerde, pankreas kanserinde standart kemoterapiye karşı önemli direnç olduğu bulundu. Bu da tümör kitlesinin farklı hücre popülasyonlardan oluştuğunun anlaşılmasına yol açtı. Bu popülasyondaki hücrelerden bir kısmının kanser kök hücreleri (KKH) olduğu ileri sürüldü [192].

Yapılan bazı genom dizileme çalışmalarında, çeşitli kanserlerde kök hücre benzeri özelliklere sahip az sayıda hücre olduğu bulunmuş, bu tür hücrelere kanser kök hücreleri (KKH`leri) adı verilmiştir [119, 120]. KKH, Amerikan Kanser Araştırmaları Derneği`nin 2006 sempozyumunda, “hem kendini yenileyebilme ve hem de tümörü oluşturan kanser hücrelerinin heterojen soylarına dönüşebilme kapasitesine sahip tümör içindeki bir hücre” olarak tanımlanmıştır [118].

Kanser başlatan hücreler olarak da bilinen KKH`leri, PDAK dahil olmak üzere çok sayıda kanser tipinde tanımlanan biyolojik olarak farklı bir hücre popülasyonunu temsil eder [193, 194]. Lösemi, meme, beyin ve kolon kanseri gibi pankreas kanserinde de kök hücreler ve erken progenitör hücreler onkojenik dönüşümün hedefi gibi görünmektedir. KKH`nin mutasyona uğramış normal kök hücrelerden ya da progenitör hücrelerden kaynak aldığı düşünülmektedir [123]. Kanser kök hücreleri, malign hücrelerin varlığını devam ettirmek için hem kendini yenileyebilme ve hem de tümör popülasyonundaki herhangi bir hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahiptir [4, 195]. Kayali ve arkadaşları karsinogenez sırasında duktal epitelin kök hücre benzeri fenotipe sahip olan bir grubunda CXCR4 ekspresyonu saptamışlardır. Embriyogenez sırasında da pankreatik progenitör hücreler hayatta kalma ve proliferasyon için CXCR4 eksprese ederler. Bu benzerlik kanser hücresinin hayatta kalabilmesi ya da invaziv ve metastatik özelliklerinin artmasının CXCR4 aktivitesiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [196].

He, Yin ve arkadaşları KKH`lerin iki formu olduğunu ileri sürmüşlerdir: sabit ve invaziv KKH. Sabit KKH epitelyal dokuda gömülüdür ve muhtemelen benign

prekürsör lezyonlarda aktiftir. Bu sabit KKH çevre dokuya yayılamaz. İnvaziv KKH ise baskın olarak tümör-konakçı arayüzünde bulunur. Bu hücreler aynı zamanda göç eden KKH`i olarak da adlandırılır [197].

Bazı çalışmalarda PDAK`da iki farklı kök hücre popülasyonu tanımlanmıştır: CD44+/CD24+/EpCAM+ ve CD133+/CXCR4+ olanlar [121, 123]. Birincisi ksenograft fare modellerinde yüksek derecede tümörjenik ancak az sayıda transplante edilebilir tümörler oluştururken, CD133+/CXCR4+ alt popülasyonu ise yüksek invazyon ve metastaz kapasitesine sahip tümörlere yol açmıştır [198].

CD133, hematopoietik kök hücreler kadar normal dokuda da eksprese edilir [199]. CD133 yalnız KKH için bir biyobelirteç değil, aynı zamanda tümörigenez, metastaz, kemo-radyorezistans, farklılaşma, otofaji, apoptoz ve rejenerasyon gibi olaylar için de düzenleyici bir moleküldür [200]

Hipoksi, invaziv ve metastatik potansiyelleri artıran bir özellik olabileceği gibi antikanser terapötiklere direnç gösteren kanser kök hücreleri ile özdeş yavaş döngülü hücrelerin gelişimi için de uygun ortam sağlayabilir [201, 202].

Hashimoto ve arkadaşları da hipoksinin, insan pankreas kanser hücre dizilerinde CD133 ekspresyonunu artırdığını göstermişlerdir [203].

Herman ve arkadaşları pankreas tümörünün büyümesinde ve metastazında KKH`sinin önemli rolü olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında ilk etapta pankreas kanseri tanımlı hastaların tümörlü dokularından CD133 eksprese eden KKH`ler elde edildi. Bir sonraki aşamada izole pankreatik CD133+ KKH`lerin tümörjenik potansiyele sahip olduğunu gösterdiler. Bu amaç için, daha az sayıda CD133+ KKH içeren veya daha çok sayıda CD133- KKH içeren primer tümör ksenograftları, ikincil farelere transplante edildi. Gerçekten de enjekte edilen CD133+ tümör hücrelerinin az sayıda olmalarına rağmen çok hızla büyüyerek tümör oluşturdukları görüldü. Ek olarak, ikincil ksenograftlardan elde edilen CD133+ tümör hücreleri daha sonra üçüncü kuşak farelere nakledildi. İn vivo aktarım sırasında, CD133+ hücrelerin tümörjenik potansiyellerini kaybetmeyip, tersine agresifliğin arttığı ve daha hızlı tümör büyümesi gösterdiği saptandı.

Ayrıca pankreatik KKH`lerin standart kemoterapiye dirençli olduğunu göstermek için CD133+ ve CD133- hücreler standart kemoterapötik ajan olan gemsitabine maruz bırakıldı. CD133+ hücreler gemsitabine karşı dramatik ilaç direnci gösterdiler. Bu bulguların in vivo ortamda nasıl olduğunu görmek için, pankreas

kanserli farelerin gemcitabin tedavisinden sonra alınan tümör örneklerini analiz ettiklerinde tümörün KKH'lerden zenginleştiğini saptadılar.

Metastazda CD133+ KKH'lerin, hücrelerin göçüne özellikle CXCR4/SDF-1 (CXCL12) sistemi aracılığıyla yardım ettiğini göstermek için CD133+/CXCR4+ ve CD133+/CXCR4- hücreleri atimik farelere enjekte ettiler. 2 hafta sonra farelerin karaciğerlerine bakıldığında, sadece CXCR4+ gruptaki farelerde karaciğerde metastaz geliştiğini, CD133+/CXCR4- gruptaki farelerde karaciğer metastazı gelişmediğini gördüler. Buradan yola çıkarak CXCR4+ olan KKH'lerin inhibisyonu ile tümör metastazının engellenebileceğini bildirdiler [123].

Bertolini ve arkadaşları da CD133+/CXCR4+/EpCAM- akciğer kanseri başlatan hücrelerin metastazı da sürdürdüğünü ve kötü prognozla korele olduğunu göstermiştir [204].

Tu ve arkadaşları metastatik KHDAK olgularında metastatik olmayanlara göre CD133 ve CXCR4'ün yüksek oranda eksprese edildiğini buldular. Bu çalışmada CD133+/CXCR4+ hücrelerinin, CD133-/CXCR4+ olan hücrelerle ile karşılaştırıldığında daha güçlü bir göç kabiliyetine sahip olduğunu gözlemlediler [205].

Chao ve arkadaşları çalışmalarında, CD133+ kolon kanseri hücrelerin tümörjenik özelliklerinin CD133- kolon kanser hücrelerine göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Analizlerinde, CD133+ ve CD133- hücreler arasında üç ana kategoride gen ekspresyon farklılığı saptamışlardır: hücre yapışması/matriks proteinleri; matriks sindirim proteazları ve proliferasyon/metastazda yer alan hücre yüzeyi reseptörleri.

Spesifik genlerle, CD133+ hücrelerde; CD133- hücrelere göre tip I kollagen, fibronektin, kondroitin sülfat, osteonektin gibi ECM proteinleri 2-7 kat; protein degradasyonuna aracılık eden katepsin C, transmembran proteaz serin-3 gibi proteazlarda 1,65-2.15 kat artış gözlenmiştir. Gen dizisi analizlerinde CXCR4 ve ligandı olan CXCL12 ekspresyonu; CD133+ olan hücrelerde CD133- olanlara göre 4 kat fazla saptanmıştır.

CD133+/CXCR4+ ve CD133+/CXCR4- hücre gruplarına CXCL12 eklendiğinde; CD133+/CXCR4- grupta daha büyük hücre kümeleri oluşmuştur. CD133-/CXCR4- olan grupta çok küçük kümeler oluşurken CD133-/CXCR4+hücreler ise seyrek ve kültür ortamında varlıklarını sürdürmediler. Sonuç

olarak CD133+ hücrelerin yüksek tümörjenik potansiyele sahip olduğu anlaşıldı [206].

Sakai ve arkadaşları karaciğer metastazlı 92 kolorektal karsinomlu olguda klinikopatolojik verileri ve CXCR4, CXCL12 ve CD133 biyobelirteçleri immünohistokimyasal olarak değerlendirmiştir. Artmış CXCR4, CXCL12 ve CD133 ekspresyonu kolorektal karaciğer metastazının biyolojik olarak agresif davranışında ve kolorektal karaciğer metastazlarının ilerlemesinde spesifik bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, CXCR4, CXCL12 ve CD133 ekspresyon profilleri, kalan karaciğer dokusunda kanseri nüksünü ve kötü prognozu tahmin edebilir. [207]

KKH'ler kemoterapiye ve radyasyona karşı dirençli hücreler olup adjuvan tedavinin tamamlanmasından sonra da tümör nüksünden sorumlu olarak kabul edilir [208, 209]. Kendini yenileme kapasitesi yüksek, kemoterapötik direnç ve metastatik potansiyeli olan kök benzeri PDAK hücreleri aynı zamanda yüksek seviyelerde CXCR4 eksprese ederler [210-212].

Cioffi ve arkadaşları cerrahi olarak rezeke edilen 37 primer over tümöründe CXCR4, CD133 durumunu araştırmışlardır. 18'inde CXCR4+/CD133+ birlikte ekspresyon gösterdiği ve CD133+/CXCR4+ olan tümör hücrelerinin, cisplatin tedavisine daha az duyarlı olduğu saptandı. Over kanserinde CXCR4+/CD133+ ekspresyonu tümör gelişimi ve kemoterapiye direncini düzenleyen kök hücre özelliklerine sahip ayrı bir popülasyon olarak tanımlandı. Bu hücre popülasyonu potansiyel bir terapötik hedefi temsil edebileceği söylenmektedir [213].

He ve arkadaşları osteosarkomda yüksek CD133 ekspresyonun akciğer metastazı, kötü prognoz ve kısa sağkalım açısından yol gösterici olduğunu belirtmişlerdir [214].

Mardani ve arkadaşları da primer osteosarkom hastalarından alınan toplam 50 doku örneğinde, CD133 ve CXCR4 ekspresyonuna baktılar. CD133/CXCR4'ün birlikte ekspresyonu ile akciğer metastazı ve klinik gidiş arasında anlamlı bir ilişki ($p = 0.05$) saptadılar. Bu belirteçler, osteosarkomda hedefe yönelik tedaviler açısından potansiyel taşımaktadır [215].

Bizim çalışmamızda pankreas kanserlerinde I. grupta tek başına CD133 boyanması saptanmadı. II. grupta ise sadece 1 (%1,7) olguda izlendi. İstatiksel olarak ($p=0,725$) anlamlı bulunmadı. CXCR4 ve CXCL12 kompleksinin CD133 ile beraber ekspresyonuna baktığımızda I. grup tümörde %13,6; II. grupta ve metastazlı lenf nodunda benzer olup %36,2 olarak izlendi. Toplam 80 olguda ise tümörlerde %30,

metastazlı lenf nodunda %26,25 pozitiflik görüldü. Bu üç belirtecin bir arada ekspresyonu ikinci grupta yani metastazlı grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,049$). Aynı zamanda II grupta CD133+CXCL12+CXCR4 pozitifliği tümörde ve metastazlı lenf nodunda yüksek ekspresyon göstermiştir. Tümörde CD133, CXCL12 ve CXCR4 birlikte pozitif çıkan 21 (%36,2) olgunun 19'u (%32,7) metastazlı lenf nodunda da pozitif 2'si (%3,4) ise negatif çıkmıştır. Tümörde CD133, CXCL12 ve CXCR4 negatif olan 37 (%63,8) olgunun 35'i (%60) negatif, 2'si (%3,4) ise pozitif çıktı. Bu istatikselsel olarak ($p<0,01$) anlamlı idi

Bu sonuçlar, CD133, CXCR4 ve CXCL12'nin tümör ilerlemesinde, özellikle lenf nodu metastazı sürecinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca II grup tümörlerde %10,3; metastazlı lenf nodunda %6,9 oranda CD133 ve CXCR4 birlikte eksprese olmuşlardır. Bu durum istatikselsel olarak anlamlıdır ($p<0,01$).

CD133 ekspresyon durumuna bakıldığında sadece II. grupta (yani metastazlı grupta) %41,4 yaygın kuvvetli, %3,4 yamalı kuvvetli, %55,2 zayıf boyanma saptanırken, I. grupta ise %13 zayıf boyanma izlendik. Bu sonuç bize yüksek CD133 ekspresyonu ile metastazi ve kötü prognozu tahmin edebileceğimizi gösterdi.

Hastaların sistem bilgilerini taradığımızda: II. grupta 17 (%29,3) hastada metastaz geliştiği, 5 (%8,6) hastanın öldüğü, I. grupta 3 (%13,6) hastada metastaz geliştiği, 1 (%4,5) hastanın ise hayatını kaybettiği saptandı. 32 (%40) hastanın operasyon sonrası, 21 (%26,2) hastanın bir süre sonra takipten çıktığı görüldü. Takip sürelerinin farklı oluşundan dolayı (1-9 yıl) ve bir kısmı da takipten çıkmış oldukları için tüm hastaların gidişatı hakkında yorum yapmak mümkün değildir. Elde edilen bulgular CD133, CXCL12 ve CXCR4 ekseninin bir prognostik belirteç olabileceğini ve PDAK tedavisinde kombine tedaviler için yeni hedefler sağlayabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Biz çalışmamızda II. grup tümörde ve metastazlı lenf nodunda CD133, CXCL12 ve CXCR4 biyobelirteçlerin birlikte ekspresyonunun yüksek olduğunu saptadık. Bu bulgularla CD133, CXCL12 ve CXCR4 ekseninin hem bir prognostik belirteç hem de PDAK`ın tedavisi için yeni bir hedef olabileceğini düşünmekteyiz. Bu yoldaki mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.



7. KAYNAKLAR

1. Rahib, L., et al., *Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States*. *Cancer Res*, 2014. **74**(11): p. 2913-21.
2. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. *CA Cancer J Clin*, 2018. **68**(6): p. 394-424.
3. Yauch, R.L. and J. Settleman, *Recent advances in pathway-targeted cancer drug therapies emerging from cancer genome analysis*. *Curr Opin Genet Dev*, 2012. **22**(1): p. 45-9.
4. Jordan, C.T., M.L. Guzman, and M. Noble, *Cancer stem cells*. *N Engl J Med*, 2006. **355**(12): p. 1253-61.
5. Feig, C., et al., *The pancreas cancer microenvironment*. *Clin Cancer Res*, 2012. **18**(16): p. 4266-76.
6. Provenzano, P.P., et al., *Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma*. *Cancer Cell*, 2012. **21**(3): p. 418-29.
7. Williams, J.A., *The noble pancreas: a historical perspective*. *Gastroenterology*, 2013. **144**(6): p. 1166-9.
8. Busnardo, A.C., et al., *History of the pancreas*. *Am J Surg*, 1983. **146**(5): p. 539-50.
9. Henry, B.M., et al., *Development of the human pancreas and its vasculature - An integrated review covering anatomical, embryological, histological, and molecular aspects*. *Ann Anat*, 2019. **221**: p. 115-124.
10. British Inherited Metabolic Diseases Group Dietitians, G., et al., *Development of national consensus statements on food labelling interpretation and protein allocation in a low phenylalanine diet for PKU*. *Orphanet J Rare Dis*, 2019. **14**(1): p. 2.
11. O'Rahilly, R. and F. Muller, *A model of the pancreas to illustrate its development*. *Acta Anat (Basel)*, 1978. **100**(4): p. 380-5.
12. Tadokoro, H., M. Takase, and B. Nobukawa, *Development and congenital anomalies of the pancreas*. *Anat Res Int*, 2011. **2011**: p. 351217.
13. Klein, S.D. and J.P. Affronti, *Pancreas divisum, an evidence-based review: part I, pathophysiology*. *Gastrointest Endosc*, 2004. **60**(3): p. 419-25.
14. Pan, F.C. and M. Brissova, *Pancreas development in humans*. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2014. **21**(2): p. 77-82.
15. Zhou, Z., et al., *[The blood drainage of Langerhans islets with special reference to the functional and clinical significance of pancreatic exocrine part]*. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2001. **32**(3): p. 330-4, 371.
16. Jennings, R.E., et al., *Development of the human pancreas from foregut to endocrine commitment*. *Diabetes*, 2013. **62**(10): p. 3514-22.
17. Jennings, R.E., et al., *Human pancreas development*. *Development*, 2015. **142**(18): p. 3126-37.
18. Piper, K., et al., *Beta cell differentiation during early human pancreas development*. *J Endocrinol*, 2004. **181**(1): p. 11-23.
19. Carlson, B.M., *Human embryology and developmental biology*. Sixth edition. ed. 2019, St. Louis, Missouri: Elsevier. xi, 480 pages.
20. Mills, S.E., *Histology for Pathologists*. Fourth edition ed, ed. J.W. pine. 2012, Philadelphia, PA. 777-817.
21. Tsuchitani, M., J. Sato, and H. Kokoshima, *A comparison of the anatomical structure of the pancreas in experimental animals*. *J Toxicol Pathol*, 2016. **29**(3): p. 147-54.

22. Bang, S., et al., *The relationship of anatomic variation of pancreatic ductal system and pancreaticobiliary diseases*. Yonsei Med J, 2006. **47**(2): p. 243-8.
23. Adibelli, Z.H., et al., *Anatomic variations of the pancreatic duct and their relevance with the Cambridge classification system: MRCP findings of 1158 consecutive patients*. Radiol Oncol, 2016. **50**(4): p. 370-377.
24. Snell, R.S., *Clinical anatomy for medical students*. 4th edition ed. The Gastrointestinal tract 1992.
25. K L Moore, A.F.D., M R Agur., *Clinically Oriented Anatomy, 6th edn*. 2009: p. 1168.
26. Horiguchi, S. and T. Kamisawa, *Major duodenal papilla and its normal anatomy*. Dig Surg, 2010. **27**(2): p. 90-3.
27. Imamura, H., et al., *A case of double common bile duct in a deceased donor for transplantation*. Surg Radiol Anat, 2017. **39**(12): p. 1409-1411.
28. Patan, S., et al., *Vascular morphogenesis and remodeling in a model of tissue repair: blood vessel formation and growth in the ovarian pedicle after ovariectomy*. Circ Res, 2001. **89**(8): p. 723-31.
29. Katsumoto, K. and S. Kume, *Endoderm and mesoderm reciprocal signaling mediated by CXCL12 and CXCR4 regulates the migration of angioblasts and establishes the pancreatic fate*. Development, 2011. **138**(10): p. 1947-55.
30. Fiedor, P., et al., *Study of the arterial blood supply of the pancreas harvested for transplantation*. Folia Morphol (Warsz), 1989. **48**(1-4): p. 123-8.
31. Ohtani, O., *Microcirculation of the pancreas: a correlative study of intravital microscopy with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts*. Arch Histol Jpn, 1983. **46**(3): p. 315-25.
32. Bertelli, E., et al., *The arterial blood supply of the pancreas: a review. IV. The anterior inferior and posterior pancreaticoduodenal aa., and minor sources of blood supply for the head of the pancreas. An anatomical review and radiologic study*. Surg Radiol Anat, 1997. **19**(4): p. 203-12.
33. Madoff, D.C., et al., *Splenic arterial interventions: anatomy, indications, technical considerations, and potential complications*. Radiographics, 2005. **25 Suppl 1**: p. S191-211.
34. Pepper, A.R., et al., *Revascularization of transplanted pancreatic islets and role of the transplantation site*. Clin Dev Immunol, 2013. **2013**: p. 352315.
35. Azizoglu, D.B., et al., *Vascular development in the vertebrate pancreas*. Dev Biol, 2016. **420**(1): p. 67-78.
36. Michels, N.A., *Newer anatomy of the liver and its variant blood supply and collateral circulation*. Am J Surg, 1966. **112**(3): p. 337-47.
37. Mourad, N., et al., *The venous drainage of the pancreas*. Surg Radiol Anat, 1994. **16**(1): p. 37-45.
38. Cleaver, O. and Y. Dor, *Vascular instruction of pancreas development*. Development, 2012. **139**(16): p. 2833-43.
39. Gorczyca, J., et al., *Vascular system of human fetal pancreas demonstrated by corrosion casting and scanning electron microscopy*. Anat Sci Int, 2010. **85**(4): p. 235-40.
40. Tomita, T., *New markers for pancreatic islets and islet cell tumors*. Pathol Int, 2002. **52**(7): p. 425-32.
41. Bastidas-Ponce, A., et al., *Cellular and molecular mechanisms coordinating pancreas development*. Development, 2017. **144**(16): p. 2873-2888.
42. Goldblum, J.R., et al., *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. Eleventh edition. ed. 2018, Philadelphia, PA: Elsevier. 2 volumes (xiv, 2142 pages).
43. Hall, J.E., *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. elsever ed. Physiology of the pancreas. 2011, Philadelphia, PA. 939-950.

44. Mossner, J., *New advances in cell physiology and pathophysiology of the exocrine pancreas*. Dig Dis, 2010. **28**(6): p. 722-8.
45. Jeon, J., et al., *Endocrine cell clustering during human pancreas development*. J Histochem Cytochem, 2009. **57**(9): p. 811-24.
46. Fujitani, Y., *Transcriptional regulation of pancreas development and beta-cell function [Review]*. Endocr J, 2017. **64**(5): p. 477-486.
47. AJCC, S.K., Timothy M. Pawlik, Peter J. Allen, Jean-Nicolas Vauthey, *American Joint Committee on Cancer, Eighth Edition*. 2019. 337-349.
48. Ray, S., Z. Lu, and S. Rajendiran, *Clear cell ductal adenocarcinoma of pancreas: a case report and review of the literature*. Arch Pathol Lab Med, 2004. **128**(6): p. 693-6.
49. Borazanci, E., et al., *Adenosquamous carcinoma of the pancreas: Molecular characterization of 23 patients along with a literature review*. World J Gastrointest Oncol, 2015. **7**(9): p. 132-40.
50. Kim, L., et al., *Clear cell carcinoma of the pancreas: histopathologic features and a unique biomarker: hepatocyte nuclear factor-1beta*. Mod Pathol, 2008. **21**(9): p. 1075-83.
51. DeSantis, C.E., et al., *Cancer statistics for African Americans, 2016: Progress and opportunities in reducing racial disparities*. CA Cancer J Clin, 2016. **66**(4): p. 290-308.
52. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2015*. CA Cancer J Clin, 2015. **65**(1): p. 5-29.
53. Ferlay, J., et al., *Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012*. Int J Cancer, 2015. **136**(5): p. E359-86.
54. Malvezzi, M., et al., *European cancer mortality predictions for the year 2016 with focus on leukaemias*. Ann Oncol, 2016. **27**(4): p. 725-31.
55. Rawla, P., T. Sunkara, and V. Gaduputi, *Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors*. World J Oncol, 2019. **10**(1): p. 10-27.
56. Fatih KARA, H.s.I.L., Bekir KESKİNKILIÇ, *TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ 2015*. T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlık Genel Müdürlüğü, ANKARA, 2018. **34-35**.
57. Midha, S., S. Chawla, and P.K. Garg, *Modifiable and non-modifiable risk factors for pancreatic cancer: A review*. Cancer Lett, 2016. **381**(1): p. 269-77.
58. Lynch, S.M., et al., *Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium*. Am J Epidemiol, 2009. **170**(4): p. 403-13.
59. Lucenteforte, E., et al., *Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4)*. Ann Oncol, 2012. **23**(2): p. 374-82.
60. Li, D., et al., *Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer*. JAMA, 2009. **301**(24): p. 2553-62.
61. Larsson, S.C., N. Orsini, and A. Wolk, *Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies*. Int J Cancer, 2007. **120**(9): p. 1993-8.
62. Aune, D., et al., *Body mass index, abdominal fatness and pancreatic cancer risk: a systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of prospective studies*. Ann Oncol, 2012. **23**(4): p. 843-52.
63. Appleby, P.N., et al., *Mortality in vegetarians and comparable nonvegetarians in the United Kingdom*. Am J Clin Nutr, 2016. **103**(1): p. 218-30.
64. Hartwig, A., I. Kruger, and D. Beyersmann, *Mechanisms in nickel genotoxicity: the significance of interactions with DNA repair*. Toxicol Lett, 1994. **72**(1-3): p. 353-8.
65. Yorifuji, T., T. Tsuda, and P. Grandjean, *Unusual cancer excess after neonatal arsenic exposure from contaminated milk powder*. J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(5): p. 360-1.

66. Siegel, R., C. Desantis, and A. Jemal, *Colorectal cancer statistics, 2014*. CA Cancer J Clin, 2014. **64**(2): p. 104-17.
67. Greer, J.B., D.C. Whitcomb, and R.E. Brand, *Genetic predisposition to pancreatic cancer: a brief review*. Am J Gastroenterol, 2007. **102**(11): p. 2564-9.
68. Vincent, A., et al., *Pancreatic cancer*. Lancet, 2011. **378**(9791): p. 607-20.
69. Solomon, S., et al., *Inherited pancreatic cancer syndromes*. Cancer J, 2012. **18**(6): p. 485-91.
70. Jones, S., et al., *Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene*. Science, 2009. **324**(5924): p. 217.
71. Risch, H.A., et al., *Helicobacter pylori seropositivities and risk of pancreatic carcinoma*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2014. **23**(1): p. 172-8.
72. Chen, X.Z., et al., *Association of helicobacter pylori infection and chronic atrophic gastritis with risk of colonic, pancreatic and gastric cancer: A ten-year follow-up of the ESTHER cohort study*. Oncotarget, 2016. **7**(13): p. 17182-93.
73. Ben, Q., et al., *Pancreatic cancer incidence and outcome in relation to ABO blood groups among Han Chinese patients: a case-control study*. Int J Cancer, 2011. **128**(5): p. 1179-86.
74. Vioque, J. and A.M. Walker, *[Pancreatic cancer and ABO blood types: a study of cases and controls]*. Med Clin (Barc), 1991. **96**(20): p. 761-4.
75. Wolpin, B.M., et al., *ABO blood group and the risk of pancreatic cancer*. J Natl Cancer Inst, 2009. **101**(6): p. 424-31.
76. Dandona, M., et al., *Re: ABO blood group and the risk of pancreatic cancer*. J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(2): p. 135-7; author reply 137.
77. Franchini, M., G.M. Liunbruno, and G. Lippi, *The prognostic value of ABO blood group in cancer patients*. Blood Transfus, 2016. **14**(5): p. 434-40.
78. Raimondi, S., et al., *Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection*. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010. **24**(3): p. 349-58.
79. Hirota, M., et al., *The sixth nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan*. Pancreatology, 2012. **12**(2): p. 79-84.
80. Yadav, D. and D.C. Whitcomb, *The role of alcohol and smoking in pancreatitis*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010. **7**(3): p. 131-45.
81. Lowenfels, A.B., P. Maisonneuve, and D.C. Whitcomb, *Risk factors for cancer in hereditary pancreatitis*. International Hereditary Pancreatitis Study Group. Med Clin North Am, 2000. **84**(3): p. 565-73.
82. Howes, N., et al., *Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2004. **2**(3): p. 252-61.
83. WHO, *WHO Classification of Tumours, Digestive System Tumours*. Fifth Edition ed. Vol. Volume 1. 2019. 322-332.
84. Chen, J. and S.I. Baithun, *Morphological study of 391 cases of exocrine pancreatic tumours with special reference to the classification of exocrine pancreatic carcinoma*. J Pathol, 1985. **146**(1): p. 17-29.
85. Vonderheide, R.H. and L.J. Bayne, *Inflammatory networks and immune surveillance of pancreatic carcinoma*. Curr Opin Immunol, 2013. **25**(2): p. 200-5.
86. Feig, C., et al., *Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(50): p. 20212-7.
87. Yepuri, N., et al., *Poorly differentiated signet ring cell carcinoma of pancreas masquerading as chronic pancreatitis*. J Surg Case Rep, 2018. **2018**(8): p. rjy218.
88. Kasperova, B., et al., *Undifferentiated Carcinoma of the Pancreas - a Case Report*. Klin Onkol, 2018. **31**(6): p. 453-456.
89. Liu, B. and K.Y. Lu, *Neural invasion in pancreatic carcinoma*. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2002. **1**(3): p. 469-76.

90. Zhang, J.F., et al., *Influence of perineural invasion on survival and recurrence in patients with resected pancreatic cancer*. Asian Pac J Cancer Prev, 2013. **14**(9): p. 5133-9.
91. Bapat, A.A., et al., *Perineural invasion and associated pain in pancreatic cancer*. Nat Rev Cancer, 2011. **11**(10): p. 695-707.
92. Lin, F., Z.E. Chen, and H.L. Wang, *Utility of immunohistochemistry in the pancreatobiliary tract*. Arch Pathol Lab Med, 2015. **139**(1): p. 24-38.
93. Adsay, N.V., et al., *Colloid (mucinous noncystic) carcinoma of the pancreas*. Am J Surg Pathol, 2001. **25**(1): p. 26-42.
94. Cong, L., et al., *Tumor size classification of the 8(th) edition of TNM staging system is superior to that of the 7(th) edition in predicting the survival outcome of pancreatic cancer patients after radical resection and adjuvant chemotherapy*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 10383.
95. Fogel, E.L., et al., *A Multidisciplinary Approach to Pancreas Cancer in 2016: A Review*. Am J Gastroenterol, 2017. **112**(4): p. 537-554.
96. Teshima, C.W. and G.S. Sandha, *Endoscopic ultrasound in the diagnosis and treatment of pancreatic disease*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(29): p. 9976-89.
97. Dewitt, J., et al., *Comparison of endoscopic ultrasound and computed tomography for the preoperative evaluation of pancreatic cancer: a systematic review*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006. **4**(6): p. 717-25; quiz 664.
98. Hong, T.S., et al., *A phase 1/2 and biomarker study of preoperative short course chemoradiation with proton beam therapy and capecitabine followed by early surgery for resectable pancreatic ductal adenocarcinoma*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2014. **89**(4): p. 830-8.
99. Iacobuzio-Donahue, C.A., et al., *DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(11): p. 1806-13.
100. Vauthey, J.N. and E. Dixon, *AHPBA/SSO/SSAT Consensus Conference on Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: rationale and overview of the conference*. Ann Surg Oncol, 2009. **16**(7): p. 1725-6.
101. Konstantinidis, I.T., et al., *Pancreatic ductal adenocarcinoma: is there a survival difference for R1 resections versus locally advanced unresectable tumors? What is a "true" R0 resection?* Ann Surg, 2013. **257**(4): p. 731-6.
102. Raut, C.P., et al., *Impact of resection status on pattern of failure and survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma*. Ann Surg, 2007. **246**(1): p. 52-60.
103. Oettle, H., et al., *Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial*. JAMA, 2013. **310**(14): p. 1473-81.
104. Martin, R.C., 2nd, et al., *Arterial and venous resection for pancreatic adenocarcinoma: operative and long-term outcomes*. Arch Surg, 2009. **144**(2): p. 154-9.
105. Sultana, A., et al., *Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer*. J Clin Oncol, 2007. **25**(18): p. 2607-15.
106. Oettle, H., et al., *Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial*. JAMA, 2007. **297**(3): p. 267-77.
107. Gillen, S., et al., *Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages*. PLoS Med, 2010. **7**(4): p. e1000267.

108. Burris, H.A., 3rd, et al., *Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial*. J Clin Oncol, 1997. **15**(6): p. 2403-13.
109. Vandercappellen, J., J. Van Damme, and S. Struyf, *The role of CXC chemokines and their receptors in cancer*. Cancer Lett, 2008. **267**(2): p. 226-44.
110. Struyf, S., P. Proost, and J. Van Damme, *Regulation of the immune response by the interaction of chemokines and proteases*. Adv Immunol, 2003. **81**: p. 1-44.
111. Balkwill, F., *Cancer and the chemokine network*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(7): p. 540-50.
112. Mantovani, A., et al., *Chemokines in the recruitment and shaping of the leukocyte infiltrate of tumors*. Semin Cancer Biol, 2004. **14**(3): p. 155-60.
113. Opdenakker, G. and J. Van Damme, *The countercurrent principle in invasion and metastasis of cancer cells. Recent insights on the roles of chemokines*. Int J Dev Biol, 2004. **48**(5-6): p. 519-27.
114. Proudfoot, A.E., et al., *Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the in vivo activity of certain chemokines*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(4): p. 1885-90.
115. Zlotnik, A. and O. Yoshie, *Chemokines: a new classification system and their role in immunity*. Immunity, 2000. **12**(2): p. 121-7.
116. Clark-Lewis, I., et al., *Platelet factor 4 binds to interleukin 8 receptors and activates neutrophils when its N terminus is modified with Glu-Leu-Arg*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(8): p. 3574-7.
117. Strieter, R.M., et al., *The role of CXC chemokines as regulators of angiogenesis*. Shock, 1995. **4**(3): p. 155-60.
118. Clarke, M.F., et al., *Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells*. Cancer Res, 2006. **66**(19): p. 9339-44.
119. Lee, C.J., J. Dosch, and D.M. Simeone, *Pancreatic cancer stem cells*. J Clin Oncol, 2008. **26**(17): p. 2806-12.
120. Ischenko, I., et al., *Pancreatic cancer stem cells: new understanding of tumorigenesis, clinical implications*. Langenbecks Arch Surg, 2010. **395**(1): p. 1-10.
121. Li, C., et al., *Identification of pancreatic cancer stem cells*. Cancer Res, 2007. **67**(3): p. 1030-7.
122. Ishiwata, T., et al., *Pancreatic cancer stem cells: features and detection methods*. Pathol Oncol Res, 2018. **24**(4): p. 797-805.
123. Hermann, P.C., et al., *Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer*. Cell Stem Cell, 2007. **1**(3): p. 313-23.
124. Shmelkov, S.V., et al., *AC133/CD133/Prominin-1*. Int J Biochem Cell Biol, 2005. **37**(4): p. 715-9.
125. Wright, M.H., et al., *Brca1 breast tumors contain distinct CD44+/CD24- and CD133+ cells with cancer stem cell characteristics*. Breast Cancer Res, 2008. **10**(1): p. R10.
126. Addison, C.L., et al., *The CXC chemokine receptor 2, CXCR2, is the putative receptor for ELR+ CXC chemokine-induced angiogenic activity*. J Immunol, 2000. **165**(9): p. 5269-77.
127. Singh, S.K., et al., *Identification of a cancer stem cell in human brain tumors*. Cancer Res, 2003. **63**(18): p. 5821-8.
128. Ricci-Vitiani, L., et al., *Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells*. Nature, 2007. **445**(7123): p. 111-5.
129. Immervoll, H., et al., *Expression of the "stem cell marker" CD133 in pancreas and pancreatic ductal adenocarcinomas*. BMC Cancer, 2008. **8**: p. 48.

130. Hermann, P.C., M.T. Mueller, and C. Heeschen, *Pancreatic cancer stem cells-- insights and perspectives*. *Expert Opin Biol Ther*, 2009. **9**(10): p. 1271-8.
131. Chen, Y.S., et al., *CD133/Src axis mediates tumor initiating property and epithelial-mesenchymal transition of head and neck cancer*. *PLoS One*, 2011. **6**(11): p. e28053.
132. McCord, A.M., et al., *Physiologic oxygen concentration enhances the stem-like properties of CD133+ human glioblastoma cells in vitro*. *Mol Cancer Res*, 2009. **7**(4): p. 489-97.
133. Moore, M.J., et al., *Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(15): p. 1960-6.
134. Conroy, T., et al., *FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer*. *N Engl J Med*, 2011. **364**(19): p. 1817-25.
135. Goldstein, D., et al., *nab-Paclitaxel plus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer: long-term survival from a phase III trial*. *J Natl Cancer Inst*, 2015. **107**(2).
136. Clark, C.E., et al., *Dynamics of the immune reaction to pancreatic cancer from inception to invasion*. *Cancer Res*, 2007. **67**(19): p. 9518-27.
137. Weizman, N., et al., *Macrophages mediate gemcitabine resistance of pancreatic adenocarcinoma by upregulating cytidine deaminase*. *Oncogene*, 2014. **33**(29): p. 3812-9.
138. Balkwill, F.R., *The chemokine system and cancer*. *J Pathol*, 2012. **226**(2): p. 148-57.
139. Nesses, A., et al., *Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: a changing paradigm*. *Gut*, 2015. **64**(9): p. 1476-84.
140. Erkan, M., et al., *StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research*. *Gut*, 2012. **61**(2): p. 172-8.
141. Wehr, A.Y., et al., *Analysis of the human pancreatic stellate cell secreted proteome*. *Pancreas*, 2011. **40**(4): p. 557-66.
142. Mahadevan, D. and D.D. Von Hoff, *Tumor-stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma*. *Mol Cancer Ther*, 2007. **6**(4): p. 1186-97.
143. Brown, J.M. and A.J. Giaccia, *The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy*. *Cancer Res*, 1998. **58**(7): p. 1408-16.
144. Le, Q.T., N.C. Denko, and A.J. Giaccia, *Hypoxic gene expression and metastasis*. *Cancer Metastasis Rev*, 2004. **23**(3-4): p. 293-310.
145. Brahimi-Horn, M.C., J. Chiche, and J. Pouyssegur, *Hypoxia signalling controls metabolic demand*. *Curr Opin Cell Biol*, 2007. **19**(2): p. 223-9.
146. Pouyssegur, J., F. Dayan, and N.M. Mazure, *Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression*. *Nature*, 2006. **441**(7092): p. 437-43.
147. Schioppa, T., et al., *Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia*. *J Exp Med*, 2003. **198**(9): p. 1391-402.
148. Lu, X. and Y. Kang, *Hypoxia and hypoxia-inducible factors: master regulators of metastasis*. *Clin Cancer Res*, 2010. **16**(24): p. 5928-35.
149. Sarvaiya, P.J., et al., *Chemokines in tumor progression and metastasis*. *Oncotarget*, 2013. **4**(12): p. 2171-85.
150. Lippitz, B.E., *Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review*. *Lancet Oncol*, 2013. **14**(6): p. e218-28.
151. Tan, M.C., et al., *Disruption of CCR5-dependent homing of regulatory T cells inhibits tumor growth in a murine model of pancreatic cancer*. *J Immunol*, 2009. **182**(3): p. 1746-55.
152. Wei, S., I. Kryczek, and W. Zou, *Regulatory T-cell compartmentalization and trafficking*. *Blood*, 2006. **108**(2): p. 426-31.
153. Mace, T.A., et al., *Pancreatic cancer-associated stellate cells promote differentiation of myeloid-derived suppressor cells in a STAT3-dependent manner*. *Cancer Res*, 2013. **73**(10): p. 3007-18.

154. Katoh, H., et al., *COX-2 and prostaglandin EP3/EP4 signaling regulate the tumor stromal proangiogenic microenvironment via CXCL12-CXCR4 chemokine systems*. *Am J Pathol*, 2010. **176**(3): p. 1469-83.
155. Morimoto, M., et al., *Enhancement of the CXCL12/CXCR4 axis due to acquisition of gemcitabine resistance in pancreatic cancer: effect of CXCR4 antagonists*. *BMC Cancer*, 2016. **16**: p. 305.
156. Hillen, F. and A.W. Griffioen, *Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond*. *Cancer Metastasis Rev*, 2007. **26**(3-4): p. 489-502.
157. Liekens, S., et al., *Targeting platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase for cancer therapy*. *Biochem Pharmacol*, 2007. **74**(11): p. 1555-67.
158. Folkman, J., *Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors*. *Ann Surg*, 1972. **175**(3): p. 409-16.
159. Chatterjee, S., B. Behnam Azad, and S. Nimmagadda, *The intricate role of CXCR4 in cancer*. *Adv Cancer Res*, 2014. **124**: p. 31-82.
160. Zhao, H., et al., *CXCR4 over-expression and survival in cancer: a system review and meta-analysis*. *Oncotarget*, 2015. **6**(7): p. 5022-40.
161. Ma, Y., et al., *Dynamic mast cell-stromal cell interactions promote growth of pancreatic cancer*. *Cancer Res*, 2013. **73**(13): p. 3927-37.
162. Chen, H.C., et al., *Induction of metastatic cancer stem cells from the NK/LAK-resistant floating, but not adherent, subset of the UP-LN1 carcinoma cell line by IFN-gamma*. *Lab Invest*, 2011. **91**(10): p. 1502-13.
163. Sleightholm, R.L., et al., *Emerging roles of the CXCL12/CXCR4 axis in pancreatic cancer progression and therapy*. *Pharmacol Ther*, 2017. **179**: p. 158-170.
164. Wu, P.F., et al., *Role of CXCL12/CXCR4 signaling axis in pancreatic cancer*. *Chin Med J (Engl)*, 2013. **126**(17): p. 3371-4.
165. Sun, X., et al., *CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression*. *Cancer Metastasis Rev*, 2010. **29**(4): p. 709-22.
166. Demir, I.E., et al., *Early pancreatic cancer lesions suppress pain through CXCL12-mediated chemoattraction of Schwann cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017. **114**(1): p. E85-E94.
167. McCubrey, J.A., et al., *Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance*. *Biochim Biophys Acta*, 2007. **1773**(8): p. 1263-84.
168. Cui, K., et al., *The CXCR4-CXCL12 pathway facilitates the progression of pancreatic cancer via induction of angiogenesis and lymphangiogenesis*. *J Surg Res*, 2011. **171**(1): p. 143-50.
169. Wehler, T., et al., *Strong expression of chemokine receptor CXCR4 by pancreatic cancer correlates with advanced disease*. *Oncol Rep*, 2006. **16**(6): p. 1159-64.
170. Lapidot, T. and O. Kollet, *The essential roles of the chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in human stem cell homing and repopulation of transplanted immune-deficient NOD/SCID and NOD/SCID/B2m(null) mice*. *Leukemia*, 2002. **16**(10): p. 1992-2003.
171. Zhou, Y., et al., *CXCR4 is a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival*. *J Biol Chem*, 2002. **277**(51): p. 49481-7.
172. Salmaggi, A., et al., *CXCL12 in malignant glial tumors: a possible role in angiogenesis and cross-talk between endothelial and tumoral cells*. *J Neurooncol*, 2004. **67**(3): p. 305-17.
173. Zhong, W., et al., *CXCL12/CXCR4 axis plays pivotal roles in the organ-specific metastasis of pancreatic adenocarcinoma: A clinical study*. *Exp Ther Med*, 2012. **4**(3): p. 363-369.

174. Zou, W., et al., *Stromal-derived factor-1 in human tumors recruits and alters the function of plasmacytoid precursor dendritic cells*. Nat Med, 2001. **7**(12): p. 1339-46.
175. Balic, A., et al., *Chloroquine targets pancreatic cancer stem cells via inhibition of CXCR4 and hedgehog signaling*. Mol Cancer Ther, 2014. **13**(7): p. 1758-71.
176. Duda, D.G., et al., *CXCL12 (SDF1alpha)-CXCR4/CXCR7 pathway inhibition: an emerging sensitizer for anticancer therapies?* Clin Cancer Res, 2011. **17**(8): p. 2074-80.
177. Fahham, D., et al., *In vitro and in vivo therapeutic efficacy of CXCR4 antagonist BKT140 against human non-small cell lung cancer*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2012. **144**(5): p. 1167-1175 e1.
178. Eberl, M., et al., *Hedgehog-EGFR cooperation response genes determine the oncogenic phenotype of basal cell carcinoma and tumour-initiating pancreatic cancer cells*. EMBO Mol Med, 2012. **4**(3): p. 218-33.
179. Guleng, B., et al., *Blockade of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis attenuates in vivo tumor growth by inhibiting angiogenesis in a vascular endothelial growth factor-independent manner*. Cancer Res, 2005. **65**(13): p. 5864-71.
180. Lee, Y., et al., *PAUF functions in the metastasis of human pancreatic cancer cells and upregulates CXCR4 expression*. Oncogene, 2010. **29**(1): p. 56-67.
181. Thomas, R.M., et al., *The chemokine receptor CXCR4 is expressed in pancreatic intraepithelial neoplasia*. Gut, 2008. **57**(11): p. 1555-60.
182. Yoon, Y., et al., *CXC chemokine receptor-4 antagonist blocks both growth of primary tumor and metastasis of head and neck cancer in xenograft mouse models*. Cancer Res, 2007. **67**(15): p. 7518-24.
183. Rubin, J.B., et al., *A small-molecule antagonist of CXCR4 inhibits intracranial growth of primary brain tumors*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(23): p. 13513-8.
184. Juarez, J., et al., *Effects of inhibitors of the chemokine receptor CXCR4 on acute lymphoblastic leukemia cells in vitro*. Leukemia, 2003. **17**(7): p. 1294-300.
185. Arora, S., et al., *An undesired effect of chemotherapy: gemcitabine promotes pancreatic cancer cell invasiveness through reactive oxygen species-dependent, nuclear factor kappaB- and hypoxia-inducible factor 1alpha-mediated up-regulation of CXCR4*. J Biol Chem, 2013. **288**(29): p. 21197-207.
186. Brave, M., et al., *FDA review summary: Mozobil in combination with granulocyte colony-stimulating factor to mobilize hematopoietic stem cells to the peripheral blood for collection and subsequent autologous transplantation*. Oncology, 2010. **78**(3-4): p. 282-8.
187. Devine, S.M., et al., *Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma*. J Clin Oncol, 2004. **22**(6): p. 1095-102.
188. Schols, D., et al., *Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4*. J Exp Med, 1997. **186**(8): p. 1383-8.
189. Marchesi, F., et al., *Increased survival, proliferation, and migration in metastatic human pancreatic tumor cells expressing functional CXCR4*. Cancer Res, 2004. **64**(22): p. 8420-7.
190. Gao, Z., et al., *Pancreatic stellate cells increase the invasion of human pancreatic cancer cells through the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis*. Pancreatology, 2010. **10**(2-3): p. 186-93.
191. Hezel, A.F., et al., *Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma*. Genes Dev, 2006. **20**(10): p. 1218-49.
192. Dalerba, P., R.W. Cho, and M.F. Clarke, *Cancer stem cells: models and concepts*. Annu Rev Med, 2007. **58**: p. 267-84.

193. Mimeault, M. and S.K. Batra, *Recent progress on normal and malignant pancreatic stem/progenitor cell research: therapeutic implications for the treatment of type 1 or 2 diabetes mellitus and aggressive pancreatic cancer*. Gut, 2008. **57**(10): p. 1456-68.
194. Starzynska, T., et al., *An intensified systemic trafficking of bone marrow-derived stem/progenitor cells in patients with pancreatic cancer*. J Cell Mol Med, 2013. **17**(6): p. 792-9.
195. Nian, W.Q., et al., *CXCR4 positive cells from Lewis lung carcinoma cell line have cancer metastatic stem cell characteristics*. Mol Cell Biochem, 2011. **355**(1-2): p. 241-8.
196. Kayali, A.G., et al., *The stromal cell-derived factor-1alpha/CXCR4 ligand-receptor axis is critical for progenitor survival and migration in the pancreas*. J Cell Biol, 2003. **163**(4): p. 859-69.
197. He, X.C., et al., *PTEN-deficient intestinal stem cells initiate intestinal polyposis*. Nat Genet, 2007. **39**(2): p. 189-98.
198. Balic, A., et al., *Stem cells as the root of pancreatic ductal adenocarcinoma*. Exp Cell Res, 2012. **318**(6): p. 691-704.
199. Fargeas, C.A., et al., *Characterization of prominin-2, a new member of the prominin family of pentaspan membrane glycoproteins*. J Biol Chem, 2003. **278**(10): p. 8586-96.
200. Li, Z., *CD133: a stem cell biomarker and beyond*. Exp Hematol Oncol, 2013. **2**(1): p. 17.
201. Keith, B. and M.C. Simon, *Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer*. Cell, 2007. **129**(3): p. 465-72.
202. Penchev, V.R., et al., *Heterogeneity and targeting of pancreatic cancer stem cells*. Clin Cancer Res, 2012. **18**(16): p. 4277-84.
203. Hashimoto, O., et al., *Hypoxia induces tumor aggressiveness and the expansion of CD133-positive cells in a hypoxia-inducible factor-1alpha-dependent manner in pancreatic cancer cells*. Pathobiology, 2011. **78**(4): p. 181-92.
204. Bertolini, G., et al., *Microenvironment-Modulated Metastatic CD133+/CXCR4+/EpCAM- Lung Cancer-Initiating Cells Sustain Tumor Dissemination and Correlate with Poor Prognosis*. Cancer Res, 2015. **75**(17): p. 3636-49.
205. Tu, Z., et al., *CXCR4 is involved in CD133-induced EMT in non-small cell lung cancer*. Int J Oncol, 2017. **50**(2): p. 505-514.
206. Chao, C., et al., *CD133+ colon cancer cells are more interactive with the tumor microenvironment than CD133- cells*. Lab Invest, 2012. **92**(3): p. 420-36.
207. Sakai, N., et al., *CXCR4/CXCL12 expression profile is associated with tumor microenvironment and clinical outcome of liver metastases of colorectal cancer*. Clin Exp Metastasis, 2012. **29**(2): p. 101-10.
208. Mizukami, T., et al., *Immunohistochemical analysis of cancer stem cell markers in pancreatic adenocarcinoma patients after neoadjuvant chemoradiotherapy*. BMC Cancer, 2014. **14**: p. 687.
209. Xu, L., *Cancer stem cell in the progression and therapy of pancreatic cancer*. Front Biosci (Landmark Ed), 2013. **18**: p. 795-802.
210. Demetter, P., et al., *Molecular changes in pancreatic cancer: implications for molecular targeting therapy*. Acta Gastroenterol Belg, 2012. **75**(2): p. 210-4.
211. Tan, L., et al., *Holoclone forming cells from pancreatic cancer cells enrich tumor initiating cells and represent a novel model for study of cancer stem cells*. PLoS One, 2011. **6**(8): p. e23383.
212. Weekes, C.D., et al., *Stromal cell-derived factor 1alpha mediates resistance to mTOR-directed therapy in pancreatic cancer*. Neoplasia, 2012. **14**(8): p. 690-701.

213. Cioffi, M., et al., *Identification of a distinct population of CD133(+)CXCR4(+) cancer stem cells in ovarian cancer*. *Sci Rep*, 2015. **5**: p. 10357.
214. He, A., et al., *CD133 expression predicts lung metastasis and poor prognosis in osteosarcoma patients: A clinical and experimental study*. *Exp Ther Med*, 2012. **4**(3): p. 435-441.
215. Mardani, A., et al., *Clinical Significance of Cancer Stem Cell Markers CD133 and CXCR4 in Osteosarcomas*. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020. **21**(1): p. 67-73.

