

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**PANKREASIN İNFİLTRATİF DUKTAL  
ADENOKARSİNOMLARINDA NERVE GROWTH FACTOR VE  
GLIAL CELL - DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR  
EKSPRESYONUNUN PERİNÖRAL İNVAZYON VE  
PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Mustafa KIZMAZ**

**UZMANLIK TEZİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon  
Birimi tarafından 1891-TU-09 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ISPARTA-2011**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, üzerimde emeği bulunan, değerli hocalarım Prof. Dr. F. Nilgün Kapucuoğlu, Doç. Dr. Sema Bircan, Doç. Dr. Nermin Karahan ve Yrd. Doç. Dr. Şirin Başpınar'a, tez çalışmamda konunun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar yardım ve destek veren tez danışmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İ. Metin Çiriş'e teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Kemal Kürşat Bozkurt, Dr. Tuba Devrim, Dr. Gülcan Yavuz, Dr. Eylem Çaloğlu, Dr. Raşit Akdeniz'e teşekkür ederim.

Tezimi 1891-TU-09 proje numarası ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Tez çalışması sırasında immünohistokimyasal boyamaların hazırlanmasında yardım ve emeğini esirgemeyen Sayın Vasfi Baran başta olmak üzere tüm laboratuvar personeline teşekkür ederim.

Sabır ve desteğini esirgemeyen eşim Saime Banu Kızmaz'a, kızlarım Nisa İrem ve Azize Sinem'e, beni yetiştirerek bugünlere gelmemi sağlayan annem Fatma Kızmaz ve babam İsa Kızmaz'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1. Pankreasın Anatomisi.....	2
2.2. Pankreasın Embriyolojisi .....	5
2.3. Pankreasın Histolojisi.....	6
2.4. Pankreas Kanseri.....	8
2.4.1. İnsidans .....	8
2.4.2. Etyopatogenez.....	9
2.4.3. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Öncüleri.....	9
2.4.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Genetik.....	12
2.5. Pankreas Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması .....	12
2.5.1 Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom .....	13
2.5.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Varyantları.....	14
2.5.3. Pankreas İnfiltraif Duktal Adenokarsinom Makroskopik Görünümü.....	15
2.5.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Görünümü ....	16
2.5.5. Tümör Yayılımı, Evrelemesi ve Derecelendirmesi.....	18
2.6. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Perinöral İnvazyon.....	21
2.6.1. Sinir İnvazyonu Tanımı .....	21
2.6.2. Sinir İnvazyonu İnsidansı.....	21
2.6.3. Sinir İnvazyonu Mekanizmaları.....	22
2.6.3.1. Sinir İnvazyonunda Lenfovasküler Faktörler.....	22
2.6.3.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom ve Sinirler Arasındaki Özel Afinite.....	23
2.6.4. Sinir İnvazyonu ve Klinikopatolojik Faktörler Arasındaki İlişkiler .....	23
2.6.4.1. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Malignitesi.....	23

2.6.4.2. Tümör Boyutu .....	23
2.6.4.3. Lenf Nodu ve Damar Tutulumu .....	23
2.7. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda İmmünohistokimya .....	24
2.8. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Büyüme Faktörleri .....	24
2.8.1. Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor (GDNF).....	24
2.8.2. Nerve Growth Factor (NGF).....	26
2.9. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Prognoz .....	29
2.9.1. Prognostik Faktörler.....	29
2.10. Kronik Pankreatit .....	30
2.11. Pankreatik Ağrı .....	31
2.11.1. Pankreatik Ağrıda Nöro-İmmün Etkileşimler .....	31
2.11.2. Nöro-Kanser Etkileşimler .....	33
<b>3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>34</b>
3.1. Olgu Seçimi ve Çalışma.....	34
3.1.1. Ağrı skorlaması .....	34
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme .....	34
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	36
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>57</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>65</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>66</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>67</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>PDAK</b>	: Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom
<b>PanIN</b>	: Pankreatik intraepitelyal neoplazi
<b>PNİ</b>	: Perinöral invazyon
<b>NGF</b>	: Nerve growth factor
<b>GDNF</b>	: Glial cell – derived neurotrophic factor
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>NT</b>	: Nörotrofin
<b>TrkA</b>	: Tirozin kinaz reseptör A
<b>PBS</b>	: Fosfatla tamponlanmış salin
<b>DAB</b>	: Diaminobenzidin
<b>CDKN2A</b>	: Siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A
<b>DPC4</b>	: Pankreatik kanser lokus 4 delesyon
<b>BDNF</b>	: Brain –derived neurotrophic factor
<b>P75NGFR</b>	: Protein 75 Nerve growth factor reseptör
<b>GFR<math>\alpha</math></b>	: Glial cell-derived neurotrophic factor family receptor alfa
<b>TP53</b>	: Tümör protein 53

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Pankreasın anatomisi. ....	2
<b>Şekil 2.</b> Pankreasın duktal anatomisi. ....	3
<b>Şekil 3.</b> Pankreasın lenfatik drenajı. ....	4
<b>Şekil 4.</b> Normal pankreasın histolojisi. Lobüler görünüm (HEX40). ....	7
<b>Şekil 5.</b> a) PanIN-1A b) PanIN-1B c) PanIN-2 d) PanIN-3 histomorfolojik görünüm (HEX400). ....	10
<b>Şekil 6.</b> Normal duktal epitelin PanIN'lerden PDAK'a doğru aşamalı olarak sitogenetik ilerlemesi ....	11
<b>Şekil 7.</b> Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom, iyi diferansiye (HEX100). ....	17
<b>Şekil 8.</b> Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda perinöral invazyon. ....	21
<b>Şekil 9.</b> Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomlu olguların, evrelerine göre yüzde dağılımları.....	39
<b>Şekil 10.</b> Altmış yaş üstü ve altındaki pankreas kanserli olgularda sağkalım. ....	41
<b>Şekil 11.</b> Pankreatektomi yapılan olgular ile rezeksiyona uygun olmayan (inoperatif) olgular arasındaki sağkalım ilişkisi.....	41
<b>Şekil 12.</b> Tümör derecelendirmesi ile sağkalım arasındaki ilişki. ....	42
<b>Şekil 13.</b> Ağrı skoru ile sağkalım arasındaki ilişki. ....	43
<b>Şekil 14.</b> Normal pankreasta NGF ile nükleer ve zayıf sitoplazmik boyanma (DABX200). ....	44
<b>Şekil 15.</b> Tümörlü bir olguya ait pankreasta NGF ile normal pankreas lobülünde yaygın nükleer pozitiflik ve PanIN'de zayıf sitoplazmik pozitiflik (DABX100). ....	45
<b>Şekil 16.</b> Yüksek derece PanIN (PanIN-3)'de NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX400). ....	45
<b>Şekil 17.</b> İyi diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX100). ....	46
<b>Şekil 18.</b> Orta derecede diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer ve zayıf sitoplazmik pozitiflik. *Periferik sinir lifi (DABX200). 46	46
<b>Şekil 19.</b> Perinöral invazyon gösteren tümörde NGF ile fokal nükleer ve zayıf sitoplazmik boyanma. *Perinöral invazyon (DABX100). ....	47
<b>Şekil 20.</b> Kötü diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX400). ....	47
<b>Şekil 21.</b> Normal pankreasda GDNF ile yaygın sitoplazmik pozitiflik (DABX100).48	48
<b>Şekil 22.</b> Düşük derece PanIN (PanIN-1) ve normal duktuslarda GDNF ile pozitiflik (DABX100). ....	48
<b>Şekil 23.</b> Yüksek derece PanIN (PanIN-3)'de GDNF ile şiddetli sitoplazmik pozitiflik (DABX400). ....	49

- Şekil 24.** Orta derecede diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda GDNF ile şiddetli sitoplazmik pozitif boyanma. \*Perinöral invazyon (DABX100). 49
- Şekil 25.** Kötü diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda GDNF ile zayıf sitoplazmik pozitif boyanma görülmektedir. İnflamatuar hücrelerde pozitif boyanma (DABX400). ..... 50
- Şekil 26.** PDAK'ta NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile sağkalım ilişkisi. .... 55
- Şekil 27.** Nontümöral pankreas lobülünde NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile sağkalım arasındaki ilişki. .... 55

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> PanIN histolojik spektrumu .....	11
<b>Tablo 2.</b> Pankreas tümörlerinin genel özellikleri .....	14
<b>Tablo 3.</b> PDAK için Adsay ve ark. önerdiği modifiye edilmiş 2000 yılı WHO derecelendirme şeması .....	19
<b>Tablo 4.</b> Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom TNM sınıflandırması .....	20
<b>Tablo 5.</b> GDNF ve NGF histolojik skorlama sistemi.....	36
<b>Tablo 6.</b> PDAK'lı olguların bazı klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı.....	38
<b>Tablo 7.</b> PDAK'lı olguların izlem, evre, histopatolojik derece ve ağrı skorunun karşılaştırılması.....	40
<b>Tablo 8.</b> Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomlu olguların ağrı skorlarına göre dağılımı.....	42
<b>Tablo 9.</b> NGF ile PDAK, PanIN ve normal pankreas dokusunda ortalama boyanma skorları.....	43
<b>Tablo 10.</b> GDNF ile PDAK, PanIN ve normal pankreas dokusunda ortalama boyanma skorları.....	44
<b>Tablo 11.</b> PDAK'ta NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile tümör evresinin karşılaştırılması.....	50
<b>Tablo 12.</b> PDAK'lı olgularda GDNF panIN boyanma şiddeti ile tümör evresinin karşılaştırılması.....	51
<b>Tablo 13.</b> PDAK evresi ile PanIN GDNF boyanma şiddeti ve yaygınlığının karşılaştırılması.....	51
<b>Tablo 14.</b> PDAK derecesi ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	52
<b>Tablo 15.</b> PDAK derecesi ile PanIN'de NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	52
<b>Tablo 16.</b> PDAK derecesi ile GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	52
<b>Tablo 17.</b> Tümör boyutu ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.....	53
<b>Tablo 18.</b> PDAK'lı olgularda tümör boyutu ile tümöre komşu PanIN'de GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.....	53
<b>Tablo 19.</b> PDAK olgularında ağrı skoru ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.....	54
<b>Tablo 20.</b> PDAK olgularında ağrı skoru ile GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.....	54



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreasın infiltratif duktal adenokarsinomu (PDAK), pankreas kanseri olarak bilinir (1). PDAK, dünyada en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 8. sıradadır (2). Olguların çoğu ileri yaştadır. Sigara içme, kronik pankreatit ve diabetes mellitus PDAK gelişme riskini artırır. PDAK, pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanIN'ler) olarak adlandırılan noninvaziv displastik intraduktal lezyonlardan köken alır. PDAK'ın mortalitesi oldukça yüksektir (1). PDAK retroperitoneal alana, komşu sinirlere, komşu lenf nodlarına ve karaciğere erken dönemde metastaz yapar ve kötü prognozludur (1,3). Perinöral invazyon (PNİ), lokal rekürrens ve tümöre bağlı ağrının en önemli nedenlerindendir (4).

Tüm kanserler gibi PDAK'ta esas olarak genetik bir hastalıktır. Kanser ile ilişkili genlerde kalıtsal ve akkiz mutasyonlar gösterir. PDAK'ta sıklıkla çok sayıda gende değişiklik olur ve genetik değişikliklerin yapısı diğer malignitelere görülenlerden farklıdır (1).

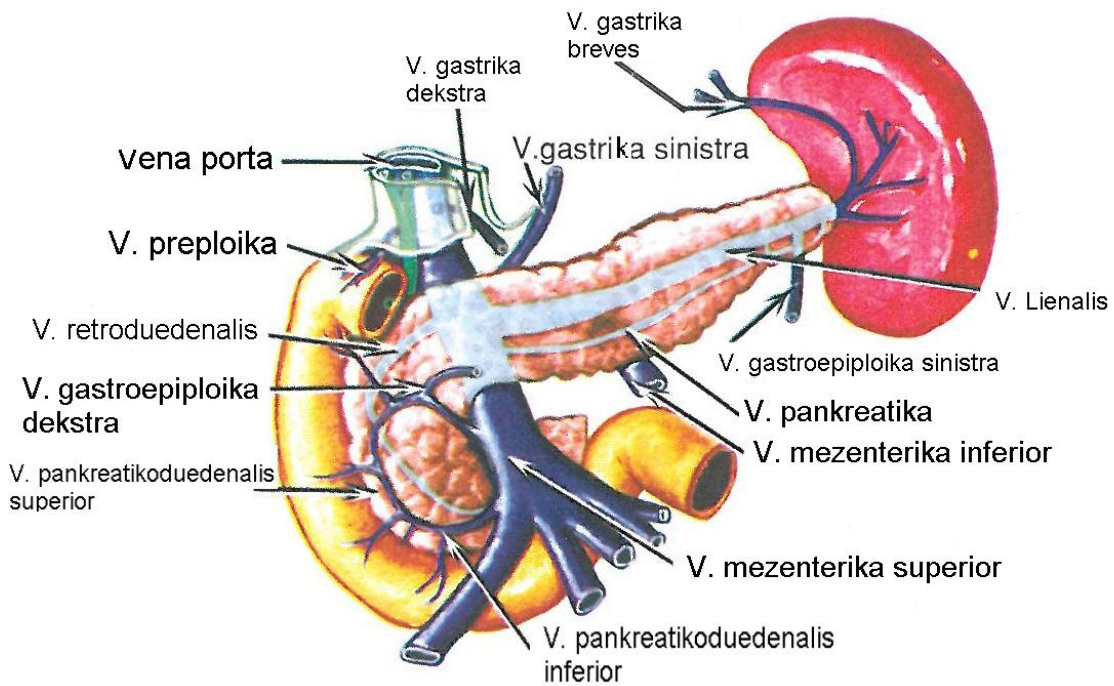
Büyüme faktör molekülleri, tümörlerde sağkalım ve diferansiyasyonu etkileyebilir (5). Büyüme faktörü olan Nerve growth factor (NGF) ve Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), PDAK'ta aşırı eksprese edilir. GDNF ekspresyonu ağı ile NGF aşırı ekspresyonu ise PNİ ile yakından ilişkilidir (6,7).

Biz bu çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda PDAK tanısı konulan 33 olguya ait tümör örneklerinde, immünohistokimyasal yöntem kullanarak, NGF ve GDNF'nin PDAK ve öncü lezyonlarındaki ekspresyonu ve bu belirleyicilerin klinikopatolojik özellikler ve prognoz üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pankreasın Anatomisi

Pankreas retroperitoneal alanda duodenum ve dalak arasında transvers olarak uzanır (1,,8,9,10,11). Önde sağdan sola doğru; transvers kolon ve transvers mezokolon, bursa omentalis ve mide ile komşudur. Arkada sağdan sola doğru; koledok, v. porta hepatis ve v. lienalis, v. kava inferior, v. mezenterika superior, aort, sol böbrek ve dalak hilusu yer alır (8,9,10) (Şekil 1).



Şekil 1. Pankreasın anatomisi.

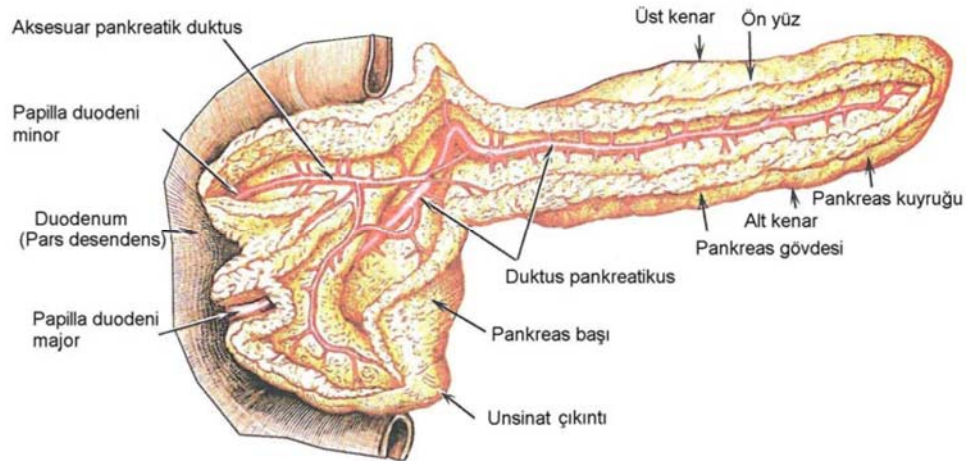
Yetişkinlerde pankreas genellikle 15-20 cm uzunluğundadır ve 70-120 gr ağırlığındadır (1,8,10,11,12). Erkeklerde kadınlara göre biraz daha büyüktür (8,12). Yenidoğanda pankreas 2-3 gr ağırlığındadır ve 1 yaşında 7 gr'a ulaşır. Bezin ağırlığı 40 yaştan sonra düzenli şekilde azalarak 90'lı yaşlarda ortalama 70 gr'a kadar düşer (12).

Normal pankreas pembe-ten rengi ile sarıdır ve dış yüzü hafif lobüle görünümündedir (8,11,12,13). Parankim içine uzanan septumlarla lobüllere ayrılmış görünümündedir (10). Ön yüzey pürüzsüz ve periton tabakası ile kaplıdır diğer

yüzeyleri ise ince, gevşek fibröz bağ doku ile kuşatılmıştır. Ayrı bir kapsülü bulunmaz (12).

Pankreas baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört anatomik birimden meydana gelir (8,12). Bununla birlikte birçok kaynak baş, gövde ve kuyruk şeklinde ele almaktadır (1,10). Organın büyük kısmını baş kısmı oluşturur. Vasküler sulkus, pankreatikoduodenektomi örneklerinde pankreasın yönünü belirlemede yardımcıdır (8,12).

Pankreasın ana duktusu olan Wirsung, kuyrukta başlar gövde ve boyundan geçerek baş kısma doğru uzanarak papilla duodeni majör'e açılır. Wirsung duktusunun çapı ortalama 3 mm'dir (1.8-9 mm). Ampulla Vateri'ye doğru gidildikçe genişleyerek 4.5 mm'ye ulaşır (12). Aksesuar pankreatik duktus (Santorini duktusu) pankreasın dorsal taslağına aittir ve sıklıkla erişkinlerde duodenum ile olan ilişkisini kaybeder. Santorini duktusu pankreas başında bulunur ve proksimal ucu Wirsung duktusu ile birleşir. Distal ucu kapanmamış ise papilla duodeni majörün 2 cm yukarısında papilla duodeni minör denilen küçük bir mukoza kabartısı üzerine açılır. Normalde Wirsung ve Santorini duktusu arasında çok sayıda anastomoz vardır (8,12,13) (**Şekil 2**).



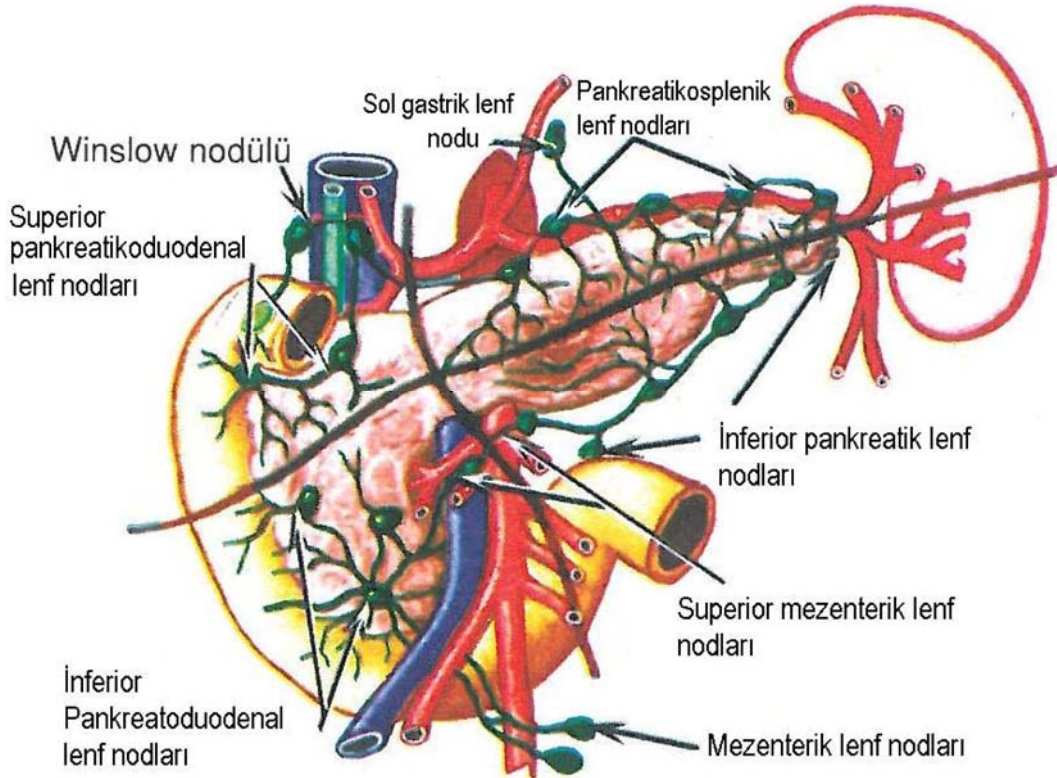
**Şekil 2.** Pankreasın duktal anatomisi.

Pankreas ve safra duktuslarının duodenum içindeki kısımları ince düz kas fasikülleri ile çevrelenmiştir (Oddi sfinkteri) ve bunlar çevreleyen duodenumun hem muskularis mukoza hem de muskularis propriası ile devam eder (10,12).

Arterleri: A. lienalis pankreasın gövde ve kuyruk kısımlarını, a. pankreatikoduodenalis superior ve inferior da baş kısmını besler (8,9,14).

Venleri: Çoğu v. lienalis'e olmak üzere, v. porta hepatis ve v. mezenterika superior'a açılır (8,9,11,14).

Lenf drenajı: Asinuslar çevresinden başlayan lenfatik kapillerler, kan damarları ile birlikte uzanır ve büyük bölümü superior pankreatik lenf nodu, inferior pankreatik lenf nodu ve splenik lenf noduna bir kısmı da pankreatikoduodenalis superior lenf nodu, pankreatikoduodenalis inferior lenf nodu ve superior mezenterik lenf noduna açılırlar (8,9,11,14) (Şekil 3).



Şekil 3. Pankreasın lenfatik drenajı.

Sinirleri: Pankreastaki sinir ağında sempatik, parasempatik, duyu ve motor sinir demetleri vardır (8,9,14,15).

Sempatik (postganglionik) ve parasempatik (preganglionik) lifler pleksus çölyakustan ayrılarak pleksus splenicus içinde pankreasa gelirler. Postganglionik olan sempatik lifleri n. splanknikustan, preganglionik olan parasempatik lifleri ise n. vagustan gelir. Parasempatik lifler pankreas dokusu içinde dağılmış durumdaki

ganglionlarda nöron değiştirir. Parasempatik etki salgıyı artırır, sempatik etki ise salgıyı azaltır. Pankreastan kaynaklanan ağrı duyusu impulsları n. splanknikus içinde medulla spinalise gider. Süt salgılanmasında olduğu gibi, pankreasın salgı yapmasını da kısmen hormonlar kontrol eder (8,11,14). İçeriğin salınımını uyaran nöral uyarı vagal sinir yoluyla oluşur (10). Pankreas ağrısı n. splanknikus majör bölgesine yansır. Bu ağrı bütün epigastrik bölge ile bel bölgesinin üst çeyreğinde hissedilir (11).

## 2.2. Pankreasın Embriyolojisi

Pankreas gelişimine duodenumun iç yüzünü döşeyen endodermden ayrılan iki tomurcuk halinde başlar (8,10,13,14). Dorsal ve ventral olmak üzere iki taslakтан gelişir. Dorsal ve ventral taslaklar, intrauterin hayatın 7. haftasında birleşirler (1,8,10,13,14).

Dorsal pankreas tomurcuğu dorsal mezenter içinde, ventral pankreas tomurcuğu ise koledok yakınındadır. Duodenum sağa doğru rotasyon yaparak C şeklini alırken, ventral pankreas tomurcuğuda koledokun duodenuma açıldığı noktayla birlikte arkaya doğru hareket eder. Bu hareketiyle ventral tomurcuk dorsal tomurcuğun hemen altına ve arkasına gelir. Bir süre sonra dorsal ve ventral pankreas tomurcuklarının parankim ve duktus sistemleri birleşir (8,10,16). Ventral tomurcuktan unsinat çıkıntı ve pankreas başının arka ve alt kısmı oluşur. Pankreas başının önü, kuyruğu ve gövde kısımları da dorsal tomurcuktan gelişir (8,10,13,16).

Pankreas endodermal kökenlidir (10,17). Sindirim enzimleri üreten pankreatik ekzokrin hücreler, sindirim enzimlerini taşıyan pankreatik duktal hücreler, insülin, glukagon ve somatostatin üreten Langerhans adacıklarındaki pankreatik endokrin hücreler, pankreatik tomurcuğun endoderminden diferansiye olur (18). Pankreasın büyümesinde ve diferansiyasyonunda mezoderm tabakası içerisindeki bağlantılar ve mezodermde eksprese edilen birkaç büyüme düzenleyici transkripsiyon faktörü önemli rol oynar (17,18).

Wirsung duktusu dorsal pankreas duktusunun distali ve ventral pankreas duktusunun tümünün birleşmesiyle meydana gelir (16,18). Dorsal pankreas duktusunun proksimal kısmı ya tümüyle oblitere olur veya aksesuar pankreas

duktusu (Santorini) adı verilen küçük bir duktus halinde kalır. Ana pankreas duktusu, koledokla birlikte duodenuma majör papilladan, eğer varsa aksesuar duktusta minör papilladan açılır (1,16,18). İnsanların %10'unda ise dorsal ve ventral duktuslar hiç birleşmez ve duodenuma ayrı ayrı açılırlar (8,16). Fetal yaşamın 3. ayında pankreas parankiminden gelişen Langerhans adacıkları organın tümüne dağılır. İnsülin salgısı 5. ay civarında başlar. Glukagon ve Somatostatin salgılayan hücreler de parankimal hücrelerden gelişir (16). Bezin bağ dokusu pankreas tomurcuğunun çevresindeki visseral mezodermden köken alır (16,18).

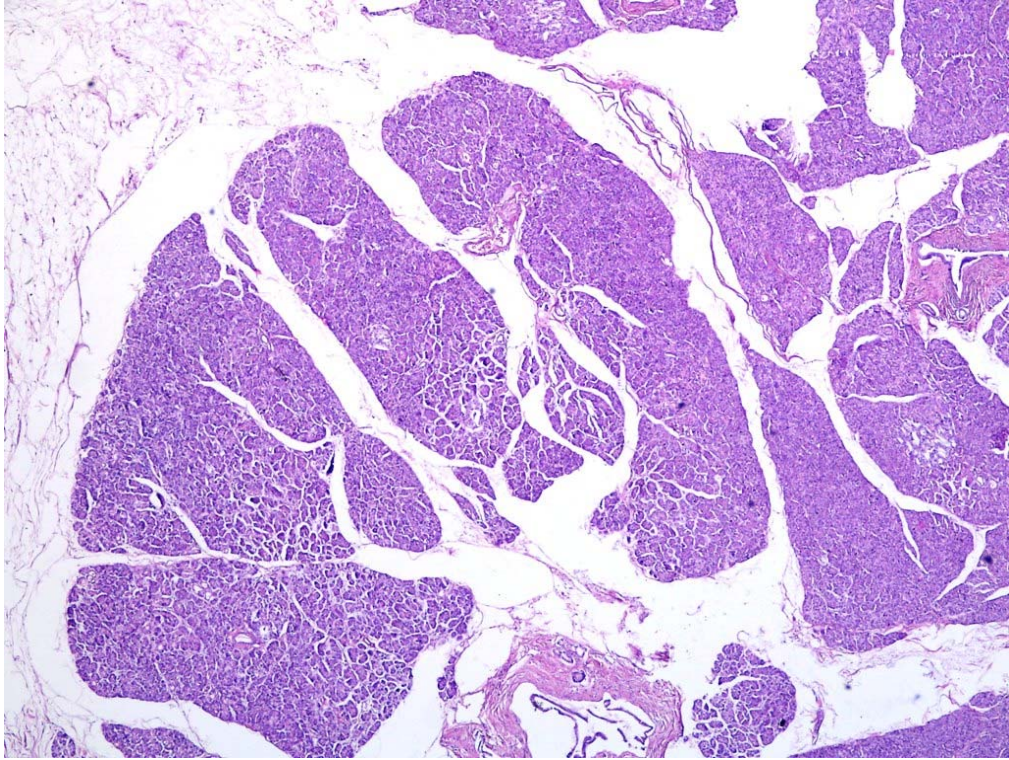
### 2.3. Pankreasın Histolojisi

Pankreas sindirim enzimleri ve hormonlar üreten iki bileşenden oluşan karışık dış salgı ve iç salgı bezidir (8,19). Enzimler asinüsler halinde düzenlenmiş dış salgı kısmının hücreleri tarafından depolanır ve salınır. Hormonlar Langerhans adacıklarından sentezlenir (13,19).

Yetişkinde pankreasın %95'inin (%85'i asiner, %10'u duktal hücreler) ekzokrin hücrelerden oluştuğu, endokrin hücrelerin ise sadece %1-2'lik pankreas hacmini kapladığı tahmin edilmektedir (1,20).

Mikroskopik olarak pankreas 1-10 mm'lik lobüller şeklinde dizilmiştir. Lobüller arasındaki parankimin tamamı asini, duktus ve Langerhans adacıklarını da içeren pankreasın epitel elemanlarından meydana gelir (12).

Asiner hücreler, geniş bazofilik sitoplazmalı, nükleusu bazalde yerleşmiş, polaritesi yüksek hücrelerdir. Asinilerin çoğu küresel olarak düzenlenmiş, tek asiner hücrelerden oluşur (1,10,12,13) (**Şekil 4**).



**Şekil 4.** Normal pankreasın histolojisi. Lobüler görünüm (HEX40).

Zimojen granülleri Periodik Asit Schiff (PAS) boyası ile (+) pozitif boyanır ve diastaza dirençlidirler. Asiner hücrelerde, enzimatik olarak aktif lipaz varlığında (+) pozitif olan bütirat esteraz boyalarla ortaya çıkarılabilir (12). Asiner hücrelerde tripsin, kimotripsin, lipaz, amilaz ve elastaz gibi pankreatik enzimler immünohistokimyasal olarak pozitifdir, CAM 5.2 antikoruna (sitokeratin 8 ve 18) (+) pozitif iken AE1, sitokeratin 7, 19 ve 20 negatiftir. Asiner hücrelerde müsin üretilmez ve pankreatik kanser ilişkili antijen (DUPAN-2), karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijen (CA19.9) gibi glikoproteinler için immünohistokimyasal boyanma negatiftir. Son olarak, kromogranin ve sinaptofizin gibi endokrin belirleyicilerde negatiftir (12).

Duktal sistem beş kısma ayrılır: Sentroasiner hücreler, interkalat duktuslar, intralobüler duktuslar, interlobüler duktuslar (büyük ve küçük) ve ana duktuslar (12,13). Duktal hücreler, sitokeratin 7, 8, 18 ve 19 içerir; bu nedenle bazı sitokeratinlere karşı olan antikorların yanında, AE1, AE3 ve CAM 5.2 antikorları ile immünohistokimyasal olarak boyanır. Sitokeratin 20 ile boyanma yoktur. Enzim ve endokrin belirleyicilerle de boyanma yoktur (12).

Pankreasın endokrin kısmı, yetişkenlerde bezin hacimsel olarak sadece %1-2'sini oluşturur, fakat yenidoğanda bu oran yaklaşık %10'dur. İki tip adacık bulunur. Kompakt adacıklar; %90'ını oluşturur, genellikle 75 -225 µm boyutlarındaki sınırları keskin 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. Diffüz adacık; Embriyonik ventral lobdan türer ve bezin baş posteroinferior kısmı dışında başka yerde bulunmaz. Bu adacıklar kompakt adacıklardan sayıca çok daha azdır ve 450 µm kadar büyüklükte olabilirler (12).

## **2.4. Pankreas Kanseri**

Pankreas tümörlerinin hücresel fenotipi pankreasın üç ana epitel tipi olan duktal hücre, asiner hücre ve endokrin hücrelerdir. Çoğu ekzokrin pankreas karsinomu, duktal hücre fenotipi gösteren neoplazmlar sınıfına girer ve bu nedenle PDAK olarak adlandırılır. "Pankreas kanseri", "pankreas karsinomu" veya "pankreas adenokarsinomun"dan bahsedildiğinde kastedilen bu tümör ve varyantları olan adenoskuamöz karsinom, andiferansiye karsinom (anaplastik veya sarkomatoid), müsinöz kistik olmayan karsinom (kolloid karsinom), taşlı yüzük hücreli karsinom, osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinomdur (21,22). PDAK'ların çoğundaki duktal hücre yapısı ve duktal hücrelerin proliferasyon gösterebilmeleri, tümörün duktal orijinli olduğunu düşündüren sebeplerdendir (20).

### **2.4.1. İnsidans**

PDAK, dünyada en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 8. sıradadır (2). PDAK en ölümcül kanserlerden biridir (22,23). Olguların %80'i 60-80 yaşları arasındadır. Olguların yalnızca yaklaşık %10'u 50 yaş altındadır (1,22). 40 yaşın altında çok nadir görülür (21). Daha genç yaşta ortaya çıkan PDAK, erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülürken, ileri yaşlarda kadın erkek arasındaki fark ortadan kalkar ve görülme oranları eşitlenir (10,21). Gelişmiş ülkelerde PDAK'ın yaş uyumlu yıllık görülme sıklığı 100.000 kişide 3,1 ile 20,8 olgu arasında değişmektedir (21). Amerika Birleşik Devletleri'nde



yapılan ortak çalışmada 2004'te 30.000 kişide, 2006'da 32.300 kişide PDAK nedeniyle ölüm, 2006'da 33.730 yeni PDAK olgusu bildirilmiştir. PDAK'ın kadınlarda oranı giderek artmaktadır (1,13,22). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı 2005 yılı kanser istatistiklerine göre PDAK 100.000 kişide 1,6-2 arasında görülmektedir. En sık görülen kanser türleri içerisinde pankreas kanseri 12. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 11. sıradadır (24). Isparta ilinde en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sıradadır (25). Olguların üçte ikisinde pankreasın baş bölgesinde tümör tutulumu meydana gelerek safra kanalında ve sıklıkla pankreas kanalında da tıkanmaya neden olur (21).

#### **2.4.2. Etyopatogenez**

PDAK'ın etiolojisi çoğunlukla bilinmemektedir. İlişkili olduğu bulunan risk faktörleri arasında sigara kullanımı, beslenme ile yüksek yağ alımı ve kronik pankreatit, özellikle kalıtsal pankreatit yer alır (13,21,22,26).  $\beta$ -naftilamin veya benzin maruz kalmış işçilerde PDAK olguları bildirilmiştir (13). Sigara içenlerde risk içmeyenlere göre 2 kat fazladır (1,22). Ailesel olgular nadirdir, ancak PDAK "ailesel kanser" olarak bilinir ve genellikle PDAK ile ilgili güçlü bir aile öyküsü olan olguların kendileri de belirgin derecede yüksek risk altındadır (21).

Günümüzde *BRCA2* kalıtsal mutasyonları, ailevi PDAK'ların yaklaşık %20'sinde tespit edilmiştir ve kromozom 4q32-34 üzerinde otozomal dominant yatkınlık lokusu haritalanmıştır (21). PDAK ile ilişkili diğer genetik sendromlar arasında ailevi atipik multipl mol melanom sendromu, telenjektatik ataksi ve Peutz-Jeghers sendromu sayılabilir (13,21,27).

#### **2.4.3. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Öncüleri**

PDAK'ın, pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanIN'ler) olarak adlandırılan mikroskopik, invaziv olmayan neoplastik epitelyal proliferasyonlardan geliştiği artık bilinmektedir. PanIN'ler küçük çaplı pankreas duktuslarından (genellikle çapı <5 mm) gelişir ve histolojik olarak üç tip olarak sınıflandırılır; PanIN-1, PanIN-2 ve PanIN-3. Bu mikroskopik duktal epitelyal proliferasyonlar, düşük-dereceli PanIN'den (PanIN-1) Orta dereceli PanIN (PanIN-2), yüksek dereceli

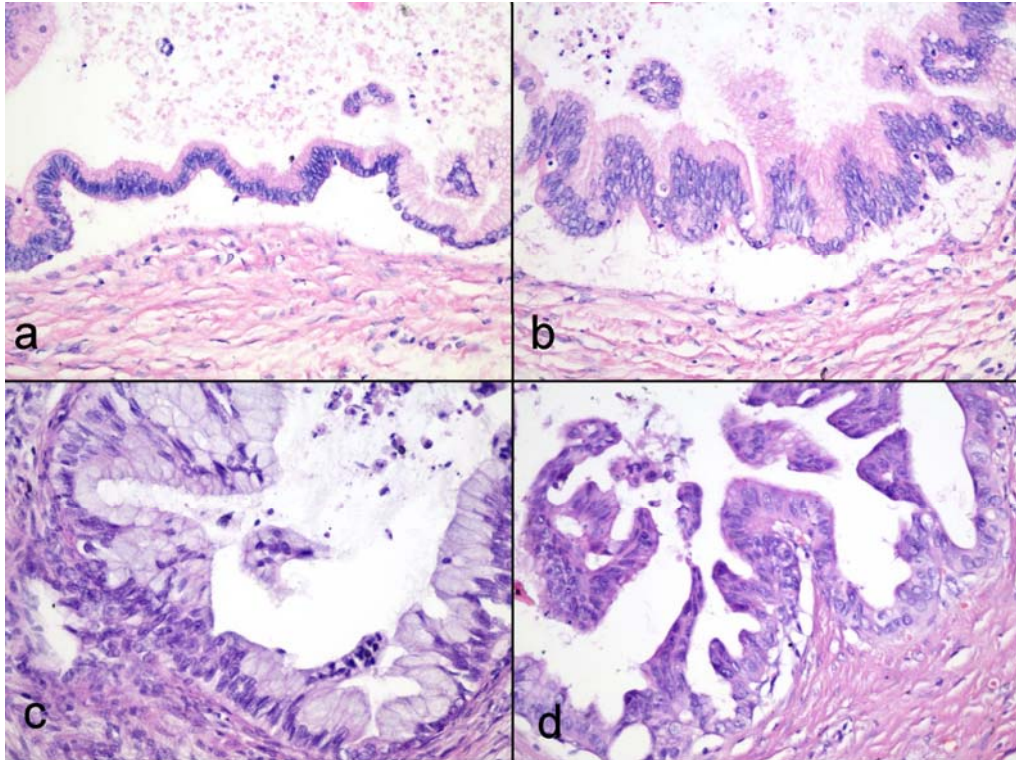
PanIN'e (PanIN-3) ve daha sonra kolorektal kanserlerdeki adenom-karsinom sekansına benzer olarak pankreas kanserine ilerler (22).

**PanIN-1A:** Bazalde lokalize nükleusları olan uzun kolumnar hücrelerden oluşan flat epitelyal lezyonlar ve bol miktarda supranükleer müsin bulunur (**Şekil 5a**). Çoğu PanIN-1A olgularının neoplastik doğası tam olarak ortaya konamamıştır, bu epitelyal değişiklikler "lezyon" terimi ile adlandırılabilir (PanIN/L-1A).

**PanIN-1B:** Papiller, mikropapiller veya bazal psödostratifiye yapıya sahip epitelyal lezyonlardır, ancak diğer yönleriyle PanIN-1A'ya benzer (**Şekil 5b**).

**PanIN-2:** Flat olabilen ancak çoğunlukla papiller müsinöz epitelyal lezyonlardır (**Şekil 5c**). Bu lezyonlarda az da olsa PanIN-3'tekine benzer bazı nükleus anormallikleri olmalıdır.

**PanIN-3:** Şiddetli hücresel atipisi olan genellikle papiller veya mikropapiller lezyonlardır. Bu lezyonlar sitonükleer seviyede karsinoma benzeyebilir ancak bazal membran invazyonu yoktur (21) (**Şekil 5 d**) (**Tablo 1**).



**Şekil 5. a)** PanIN-1A, **b)** PanIN-1B, **c)** PanIN-2, **d)** PanIN-3 histomorfolojik görünüm (HEx400).

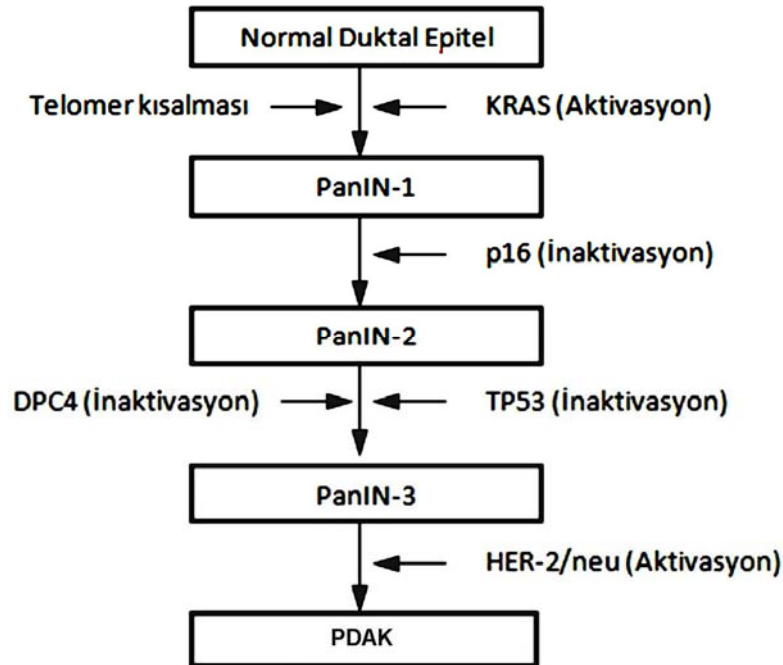
**Tablo 1.** PanIN histolojik spektrumu (22).

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

\*TP53: Tümör Protein 53

\*DPC4: Pankreatik kanser Lokus 4 delesyon .

PanIN’de tümöre ilerlemenin bir dizi sıralı polikromozomal genetik mutasyon sonucu geliştiği düşünülmektedir. PanIN’lerin PDAK’a ilerlemesindeki erken, orta ve geç dönem genetik olaylar sırasıyla şunlardır; K-ras aktivasyonu, p16/CDKN2A tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu, TP53 ve DPC4/SMAD4 tümör baskılayıcı genlerin mutasyonla fonksiyon kaybıdır (22) (Şekil6).

**Şekil 6.** Normal duktal epitelin PanIN’lerden PDAK’a doğru aşamalı olarak sitogenetik ilerlemesi (22).

K-ras ile duyarlanmış hücrelerin olduğu farelerde pankreasda PanIN ve metaplazi gelişiminin arttığı gösterilmiştir (28). Genetiği değiştirilmiş farelerde yapılan deneylerde pankreatik duktuslarda PanIN oluşabilmesi için K-ras aktivasyonunun gerekli olduğu gözlenmiştir (29). Asiner neoplazmlarda K-ras'da genetik değişiklik yoktur (30).

#### **2.4.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Genetik**

PDAK'ta, diğer kanserlerde olduğu gibi kromozomal değişikliklerden nokta mutasyonlarına kadar çok çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikler %10 olguda saptanmıştır (13,22,27). Artmış PDAK riskinin 5 genetik sendromla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bunlar BRCA2 kalıtsal mutasyon ile ailesel meme kanseri, p16 genindeki kalıtsal mutasyon ile ailesel atipik multipl mol melanom sendromu, STK11/LKB1 genindeki kalıtsal mutasyon ile Peutz-Jeghers sendromu, DNA tamir genlerinden birindeki mutasyon ile herediter nonpolipozis kolorektal kanser, katyonik tripsinojen genindeki kalıtsal mutasyon ile herediter pankreatittir (13,27). PDAK olgularında çeşitli kromozomal değişikliklerin saptandığı bildirilmektedir. Bu değişiklikler içerisinde en sık görülenler kromozom 1,4,6,9,12,17,18,21,Y ve nadir olarak da diğer kromozomal kayıplardır (13,27). PDAK'ların çoğu (%90) K-ras onkogen aktivasyonu gösterir (13,20,21,22). Jones ve ark. (31) yaptıkları çalışmada K-ras geninin, 24 PDAK olgusunun neredeyse tamamında (>%95) nokta mutasyon ile aktive olduğunu tespit etmiştir.

PDAK'ta mutasyonu saptanan en önemli tümör baskılayıcı genler CDKN2A/p16/MTS1 (%95), TP53 (%50-75), MADH/SMAD4/DPC4 (%55) genidir. (20,27). Çok daha düşük sıklıkla değişime uğrayan genler, MKK4 geni, TGF- $\beta$  reseptörleri R1 ve R2 genleri, BRCA2 geni ve LKB1/STK11 genidir (21,22).

#### **2.5. Pankreas Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması**

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerdiği "ekzokrin pankreas tümörlerinin sınıflaması" aşağıda verilmiştir (32).

### **Duktal Adenokarsinom**

Müsinöz non-kistik karsinom

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Adenoskuamöz karsinom

Andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid) karsinom

Osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom

### **İntraduktal papiller müsinöz neoplazm**

Non-invaziv, düşük derece displazi, orta derece displazi (borderline) veya yüksek derece displazi (karsinoma in situ)

İntraduktal papiller müsinöz neoplazm içinden gelişen invaziv karsinom

Duktal karsinom veya müsinöz non-kistik karsinom

### **Müsinöz kistik neoplazm**

Non-invaziv, düşük derece, orta derece veya yüksek derece displazi

Müsinöz kistik neoplazm içinden gelişen invaziv karsinom

### **Asiner hücreli karsinom**

Asiner hücreli kistadenokarsinom

Mikst asiner-endokrin karsinom

### **Solid psödopapiller tümör**

### **Pankreatik endokrin neoplazm**

### **Seröz kistadenom**

### **Seröz kistadenokarsinom**

## **2.5.1 Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom**

PDAK ve varyantları genellikle pankreasın baş bölgesinde gelişen “solid” karsinomlardır. Pankreasın diğer “solid” tümörleri arasında, asiner hücre karsinomu, pankreatoblastoma ve endokrin tümörler bulunur. Bunlar daha nadir bulunur ve

sadece %4'ü teşkil eder. Solid neoplazmların ana grubunun aksine, pankreas tümörlerinin kistik grubu, sadece borderline formları değil malign formları da dahil daha iyi prognoz ile karakterizedir. Seröz ve müsinöz kistik tümörler, solid psödopapiller tümörler ve intraduktal papiller müsinöz tümörler ile birlikte tüm ekzokrin epitelyal tümörlerin yaklaşık %6'sını oluşturur (21) (**Tablo 2**).

Hem müsinöz kistik tümörler hem de intraduktal papiller müsinöz tümörler biyolojik davranışları nedeniyle benign tümörler, borderline tümörler (veya malignite potansiyeli belirsiz tümörler) ve malign tümörler olarak sınıflandırılır. Ekzokrin pankreasın sarkomlar ve malign lenfomalar gibi primer epitelyal olmayan tümörleri oldukça nadirdir (21).

**Tablo 2.** Pankreas tümörlerinin genel özellikleri (21).

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

<sup>a</sup> Pediatrik olgularda ve tedavi (ameliyat, kemoterapi) sonucunda daha iyi prognoz

<sup>b</sup> Altıtipi bağlı olarak.

### 2.5.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Varyantları

PDAK'ın yaygın formunun yanısıra daha az yaygın olan birkaç histolojik alttıpe de bulunur. PDAK'la yakın ilişkili pankreatik karsinomlar; Müsinöz kistik

olmayan karsinom (kolloid karsinom), adenoskuamöz karsinom, andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid), taşlı yüzük hücreli karsinom ve osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom (22).

**1) Müsinöz kistik-olmayan karsinom (kolloid karsinom):** Pankreas malignitelerinin %1-3'ünü oluşturur. Tümör hacminin en az %50'sini oluşturan hücre dışı müsin varlığı kesin tanı bulgusudur (22,33). İyi diferansiyedir (30).

**2) Adenoskuamöz karsinom:** Pankreatik karsinomların %3-4'ünü oluşturur (30). Adenoskuamöz karsinom tanısı koyabilmek için tümörün en az üçte birinin skuamöz diferansiasyon göstermesi gereklidir (22).

**3) Taşlı yüzük hücreli karsinom:** Çok nadir görülür (33). Metastatik tümördeki taşlı yüzük hücrelerinin primerinin kolorektal, mide veya meme olma olasılığı pankreas olma olasılığından çok daha fazladır (22).

**4) Andiferansiye (anaplastik veya sarkomatoid) karsinom:** Dev hücreli karsinom ve sarkomatoid karsinomu içerir. Sarkomatoid karsinom, baskın olarak veya tümüyle iğsi hücrelerden oluşsa da epitelyal öncülerden köken aldığına inanılır (22). Pankreas karsinomlarının en agresif olanıdır (30).

**5) Osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinom:** Epiteloid tümör hücreleri ile neoplastik olmayan dev hücreler birlikte bulunur (22).

### **2.5.3. Pankreas İnfiltraif Duktal Adenokarsinom Makroskopik Görünümü**

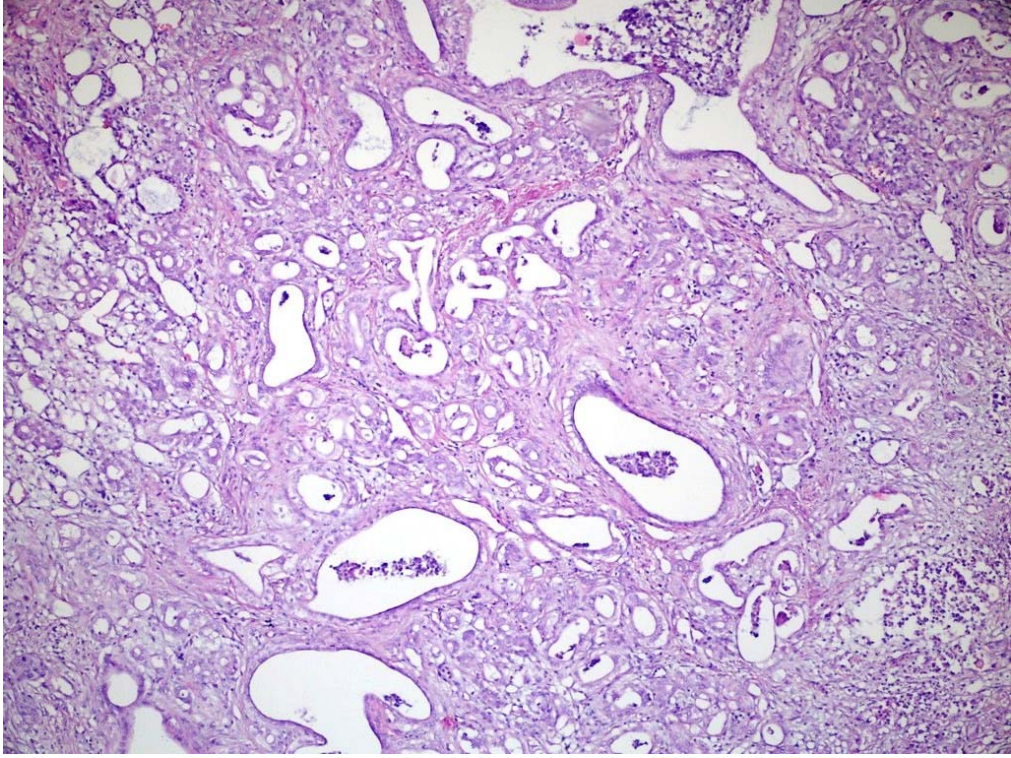
PDAK, pankreas baş kısmında ve diğer bölümlerinde yerleşmiş solid, sınırları belirgin olmayan, fibröz dokudan zengin, sert, sarımtırak, gri, genellikle çapı 2- 5 cm arasında olan tümörlerdir. Tanı genelde vakaların %85'inde tümör yaklaşık 5 cm'e ulaştığında konulur (10,13,21). Hemoraji, nekroz, kistik değişiklikler veya diffüz büyüme görülebilir (13,21). Nadir olgularda PDAK, heterotopik pankreas dokusunda gelişebilir (21). PDAK, olguların 2/3'ünde pankreas baş kısmından, 1/3'ünde ise gövde ve kuyruktan gelişir. Olguların %20'sinde multipl tümör vardır (13). Pankreas başından kaynaklanan tümörlerin 1/4'ünde duodenum duvarı invazedir. Etkilenmiş pankreas duktusları çoğunlukla dilate olmuştur ve nekrotik tümörle doludur. Bu

dilatasyon tümör dokusundan uzakta da olabilir. Ekstrapankreatik yayılım sıktır ve eğer bu çok yaygınsa karsinomun pankreas orijinli olup olmadığını anlamak zordur (13). Yapılan bir çalışmada PDAK makroskopik olarak pankreas başında lokalize olan 28 olgunun sadece 14'ünün pankreas kökenli olduğu kanıtlanmış, 5'inin kökeni bulunamamış, geri kalan vakaların ampulla, safra kanalı ve duodenum orijinli olduğu tespit edilmiştir (13).

#### **2.5.4. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom Mikroskopik Görünümü**

PDAK, iyi, orta ve kötü diferansiye PDAK olarak derecelendirilmektedir (34). Olguların çok az bir kısmında papiller büyüme paterni görülür (13). İyi diferansiye PDAK, belirgin gland yapısı, kübik-kolumnar, yuvarlak, oval uniform nükleuslu ve dağınık kromatinli minimal nükleer pleomorfizm gösteren neoplastik hücrelerden oluşur (**Şekil 7**). Orta diferansiye PDAK, glandüler yapı daha az tanımlanır, inkomplet glandüler lümen nükleer pleomorfizm kadar yaygındır, nükleoller daha büyük ve düzensizdir, mitoz daha yaygındır. Kötü diferansiye PDAK'ta solid alanlar ve belirgin infiltratif hücreler vardır, belirgin gland yapısı yoktur. Kötü diferansiye PDAK, iyi diferansiye PDAK hücrelerinden daha az münin üretir, büyük bizar nükleus ile belirgin nükleer pleomorfizm vardır, atipik mitoz yaygındır (34).





**Şekil 7.** Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom, iyi diferansiye (HEX100).

İyi diferansiye PDAK'ta mikroskopik tanı çok zor olabilir, bu durumda sitolojik detaylara dikkat edilmelidir. Küçük büyütmede belirgin glandüler yapılar vardır, lümenleri daha geniştir, bir veya birkaç sıra silindirik veya kübik epitel ile döşelidir. Glandların şekli, dağılımı ve bunları çevreleyen desmoplastik stromadaki düzensizlikler haricinde PDAK'ı düşündürecek çok fazla bulgu yoktur. Büyük büyütmede glandları döşeyen epitelde malignite düşündürecek bulgular; belirgin nükleer pleomorfizm, polarite kaybı, belirgin nükleol ve mitotik aktivitedir. Olguların %90'ında PNI vardır. PDAK'taki PNI, intrapancreatik sinirlerden başlayıp ekstrapancreatik nöral pleksusa yayılım yapabilir ki bu cerrahi için zorlayıcı bir faktördür. PDAK'ların yarısında kan damarları, özellikle ven invazyonu görülmektedir (13).

Orta ve kötü diferansiye PDAK'larda, histolojik yapı ilerleyici şekilde düzensiz hale gelir, glandüler yapı belirgin değildir ve mukus salgısı azalmıştır. Hücre ve nükleus değişik boyutlardadır. Mitotik figürler dikkat çekicidir (21).

Çoğu PDAK, iyi veya orta derecede diferansiyedir. Zaman zaman tümörler köpüksü gland yapısı, papiller uzantılar, büyük-duktus tipi morfoloji, mikropapiller

yapı veya berrak hücre fenotipi gösterirler. Neoplastik glandlar pankreas parankimini infiltre ederek nonneoplastik duktuslar, asini ve adacıkların arasında dağınık halde izlenebilir. Bu infiltrasyon tipik şekilde belirgin desmoplastik bir reaksiyon ile ilişkilidir. Hücrelerin nükleusları genellikle polarizedir ve belirgin nükleoller bulunur. Duktusu tıkayan büyüme nedeniyle, tümör çevresi pankreas dokusunda ve hatta tüm gland boyunca, az veya çok şiddetli tıkayıcı kronik pankreatit bulunur. Tümör çevresi dokunun orta büyüklükteki duktuslarında sıklıkla duktus epitelinin yerini, genellikle papiller yapılar ile birlikte, uzun kolumnar müsinöz hücrelerin aldığı görülür. Bu lezyonlar tümöre özgü değildir (21).

#### **2.5.5. Tümör Yayılımı, Evrelemesi ve Derecelendirmesi**

Rezeke edilmiş PDAK'ın standart şekilde ele alınması ve doğru şekilde evrenmesi için öneriler mevcuttur. PDAK, retroperitoneal dokulara ve primer büyüme bölgesine bağlı bir topografi ile, çeşitli lokal peripankreatik lenf nodu gruplarına erken yayılma gösterir. Bölgesel lenf nodlarının (hepatoduodenal ligamentten trunkus çölyakusa kadar) tutulumu olguların %50'sinde görülür ve "bitişik bölgesel" para-aortik lenf nodlarının tutulumu yaklaşık %10'unda görülür. Hematojen yol ile gerçekleşen karaciğer metastazları sıktır. Akciğerlere, plevra ve kemiğe metastazlar sadece ilerlemiş tümör evrelerinde, özellikle gövde ve kuyruk tümörlerinde görülür. Beyin metastazlar yaygın değildir (21).

PDAK için yaygın olarak DSÖ 2000 histopatolojik derecelendirme sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemde glandüler diferansiyasyon, müsin üretimi, mitoz, nükleer özellikler kullanılmaktadır (32). Adsay ve ark. (35) bu derecelendirme sistemine skora ekleyerek modifiye DSÖ 2000 derecelendirme şemasını oluşturmuştur. Literatürde son yıllarda Adsay ve ark. modifiye derecelendirme şeması sıkça kullanılmaktadır (35). Derecelendirme verisi, biyolojik olarak en anlamlı ayrımın G1/G2 ve G3 arasında olduğunu göstermektedir. Derecelendirme, proliferatif indeksten daha kullanışlı bir değerlendirme olarak görünmektedir (32) **(Tablo 3)**.

**Tablo 3.** PDAK için Adsay ve ark. (35) önerdiği modifiye edilmiş 2000 yılı DSÖ derecelendirme şeması (32).

<b>Derece (Skor aralığı)<sup>a</sup></b>	<b>Glandüler diferansiyasyon</b>	<b>Müsin Üretimi</b>	<b>Mitoz<sup>b</sup></b>	<b>Nükleer özellikler</b>
I (1-1.6)	İyi diferansiye(1)	Yoğun (1)	≤5 (1)	Hafif pleomorfizm, polar sıralanma (1)
II (1.7-2.3)	Orta diferansiye duktus benzeri yapı ve tübüler glandlar (2)	Düzensiz (2)	6-10 (2)	Orta derecede pleomorfizm (2)
III (2.3-3)	Az diferansiye glandlar, mukoepidermoid ve pleomorfik yapı (3)	Az (3)	>10 (3)	Belirgin pleomorfizm ve büyük nükleus (3)

<sup>a</sup> Tümör heterojen ise en yüksek tümör derecesi verilmelidir.

<sup>b</sup> Rastgele seçilen 10 büyük büyütme alanındaki (x40) mitoz sayısı.

PDAK'ın patolojik evrelendirmesi TNM sınıflandırmasına dayanır. pT primer tümörün boyutu ve çevre doku invazyonunun olup olmamasına göre değerlendirilir (21) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Pankreas infiltratif duktal adenokarsinom TNM sınıflandırması (21).

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

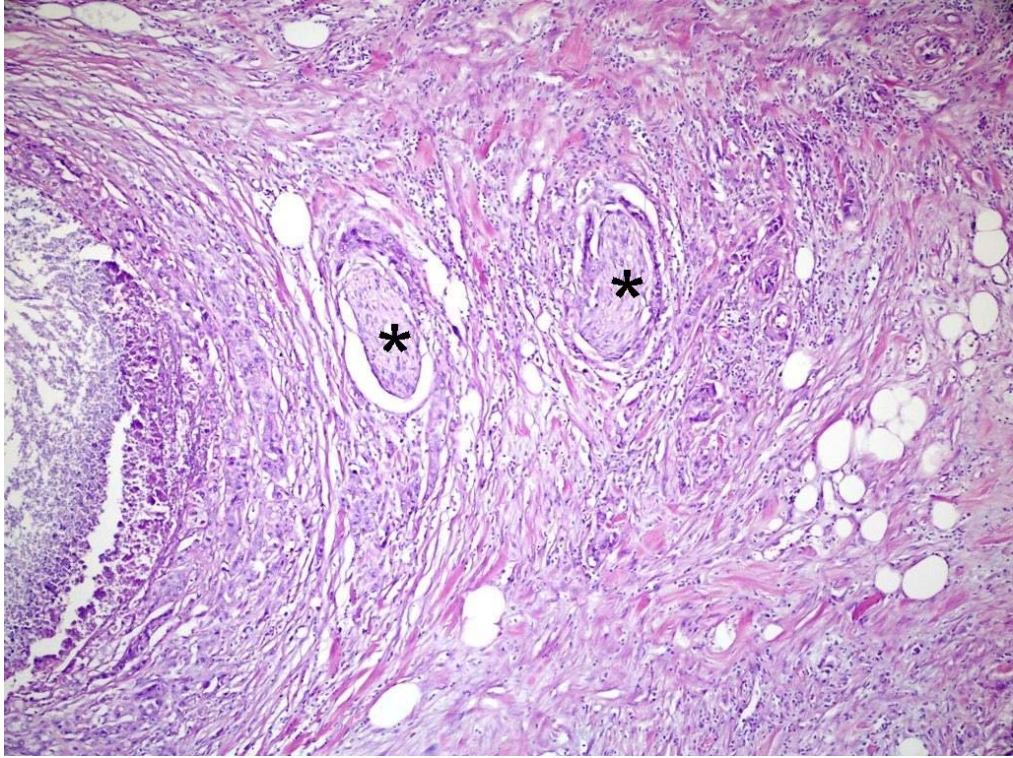
pN0 bölgesel lenfadenektomi, normal 10 veya daha fazla lenf nodunun histolojik olarak incelenmesini gerektirir.

<sup>#</sup> Tümör rezeksiyonu ardından R0 evresi (rezidüel tümöre dair kanıt yok) R1 veya R2 evresinden (R1 – mikroskopik olarak rezidüel tümör var; R2 – makroskopik rezidüel tümör var) ayrıt edilir.

## 2.6. Pankreas İnfiltatif Duktal Adenokarsinomda Perinöral İnvazyon

### 2.6.1. Sinir İnvazyonu Tanımı

Periferik sinir sistemi üç zar ile çevrilidir: Endonöryum, perinöryum ve epinöryum. Sinir invazyonu, orta perinöryumda kanser hücrelerinin bulunması olarak tanımlanır (36) (Şekil 8).



\*Tümörün periferik sinir liflerini sardığı görülmektedir (HEX100).

Şekil 8. Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda perinöral invazyon.

### 2.6.2. Sinir İnvazyonu İnsidansı

PDAK'ın sinir invazyonu insidansı %45-%100 arasında değişir. Pankreas başı yerleşimli PDAK'ta pleksus invazyonu distal safra yolu kanserinden ve papilla vateri karsinomundan daha sık izlenmektedir. Çalışmalar pankreas başı yerleşimli PDAK olgularındaki sinir pleksus invazyonunun en sık görüldüğü bölgenin sinir pleksusunun ikinci kısmı olduğunu, pankreas gövde veya kuyruk yerleşimli PDAK olgularında ise splenik pleksus olduğunu göstermiştir. Bu farklılıkların muhtemel nedeni PDAK'ın retroperitoneal sinir liflerine yakın olmasıdır (36). Nakao ve ark.

(37) 80'i (%69) ekstrapankreatik sinir plexus tutulumu gösteren 129 olgudan 116'sında (%90) intrapankreatik sinir invazyonu gözlemlenmiştir. Ekstrapankreatik sinir plexusuna invazyon insidansı, intrapankreatik sinir invazyonu insidansındaki artışla birlikte artmaktadır (37).

### **2.6.3. Sinir İnvazyonu Mekanizmaları**

PDAK'da PNI dört şekilde olabilir. Bunlar kanser hücrelerinin perinöral boşluğa doğrudan ilerlemesi, sinir fasikülünün ikiye ayrıldığı yerde dallanma, kanser ucundan yayılım ve perinöryumun hasarlı yerlerinden geçerek invazyondur. PDAK olgularındaki yüksek sinir invazyonu insidansının nedeni belli değildir. Kısmen, pankreatik ve çölyak arter sinir plexusunun anatomik yakınlığı ile açıklanabilir. Diğer yandan, PDAK'ın sinir invazyonunun bir diğer muhtemel açıklaması olarak 'nörotropizm' bildirilmiştir. Perinöral boşluk anatomik veya yapısal olarak lenfatik kanallardan farklı olduğu için çoğunlukla bunun kanser infiltrasyonu için bağımsız bir yol olduğu düşünülmektedir. Kanser hücreleri, sinirin çevresindeki boşlukta en az direnç olan yolu takip ederek yayılabilir. Sinir sonuna yakın, sinirlerde bulunan kan damarları tarafından çevrelenen yerler ve retiküler lifle birleştiği yerler olmak üzere perinöryumun 3 bölgede yetersiz olduğu düşünülmektedir. Primer kanserden uzakta bulunan tümör hücreleri perinöryum ile sınırlandırılmıştır, sürekli şekilde büyüyerek dallanan sinirleri takip etmektedir. Perinöral boşlukta proliferen olan kanser hücreleri nadiren perinöryumun dışına sızdığı için belirgin sinir invazyonu, kanser hücrelerinin perinöral boşlukta retansiyonuna bağlı gelişen bir olaydır (36).

#### **2.6.3.1. Sinir İnvazyonunda Lenfovasküler Faktörler**

Takahashi ve ark. (38) PNI'nin tutulmuş sinirlere vasküler dağılım ve bu sinirlerin çevresindeki lenfatik sistemin yapısı ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Tümörlerin uzaktaki sinirlere lenfatikler yoluyla, yani sinirlerin çevresinde uydu lenfojenöz odaklar oluşturup, ikinci aşama olarak, perinöral boşluklara girerek ulaştığı ileri sürülmüştür (39). PDAK'ın a. mezenterika superior boyunca yayılma biçimlerinin üç-boyutlu çalışması: Tümörün sinir invazyonu ve lenf nodu metastazı ile yayılması şeklinde iki tip yayılma olduğunu ortaya koymuştur. Bu morfolojik

özellikler a. mezenterika superiordaki lenfatik akışın öncelikli olarak pleksusun dışından olduğuna işaret etmektedir (36).

#### **2.6.3.2. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinom ve Sinirler Arasındaki Özel Afinite**

PDAK ile sinirler arasındaki özel afinite (nörotropizm) kavramı Kenmotsu ve ark. (40) tarafından geliştirilmiştir. Bu yazarlar sinir invazyonu olan ilerlemiş pankreas kanserinin S-100, sinaptofizin, P-maddesi, enkefalin ve sinir hücre adezyon molekülü (NCAM) gibi çok sayıda nöroendokrin belirleyici eksprese ettiğini bildirmiştir (40).

#### **2.6.4. Sinir İnvazyonu ve Klinikopatolojik Faktörler Arasındaki İlişkiler**

##### **2.6.4.1. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomun Malignitesi**

İyi diferansiye PDAK'ta sinir invazyonu yönünde güçlü bir eğilim olduğu bildirilmiştir ancak doku tipleri, infiltrasyon paterni ve proliferasyon veya interstisyel bağ doku ve sinir invazyon derecesi arasındaki ilişkilerde tutarlı eğilim olmadığını bulmuştur (36).

##### **2.6.4.2. Tümör Boyutu**

Tümör boyutu ve sinir pleksus invazyonu bulunması arasında istatistiki önemde korelasyon bulunamamıştır, ancak sinir pleksus invazyonunun ve retropankreatik invazyonun insidansı tümör büyüklüğünden bağımsız olarak pankreas kanseri olgularında yüksektir (36).

##### **2.6.4.3. Lenf Nodu ve Damar Tutulumu**

Kayahara ve ark. (41) pankreas gövde ve kuyruk PDAK'ı olan olgularda, lenf nodu tutulumu ve sinir pleksusu invazyonu arasında istatistiki önemde korelasyon olduğunu, fakat pankreas başı PDAK'ı olan olgularda bu korelasyonun olmadığını

bulmuşlardır. Takahashi ve ark. (42) lenfatik invazyon derecesi ve sinir pleksus invazyonu arasında istatistiki önemde bir ilişki bulamamış fakat nodal metastaz bulunması ve retroperitoneal pleksus tutulumu arasında istatistiki olarak fark olduğunu bulmuşlardır. Lenf damar invazyonu arttıkça, ekstrapankreatik sinir pleksusuna invazyon daha belirgin olmaya başlamıştır ancak lenf damarı tutulumu ve intrapankreatik sinir invazyonu arasında korelasyon bulunamamıştır (36).

### **2.7. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda İmmünohistokimya**

PDAK, sitokeratin 7, 8, 18 ve 19, epitelyal membran antijen (EMA), CEA ve hatta CA19-9 veya DUPAN-2 antikorlar ile (+) pozitif immünboyanma gösterir. Ayrıca apomusin, müsin 1 (MUC1) için (+) pozitifdir. Diğer yandan tümör genellikle müsin 2 (MUC2)'ye karşı antikorlarla, pankreatik enzimler (örneğin tripsin) ve nöroendokrin belirleyicilerle boyanmaz (21).

### **2.8. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Büyüme Faktörleri**

PDAK'ta eksprese edildiği tespit edilen çeşitli büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri arasında epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR), insan epidermal büyüme faktör reseptör 2 (Her-2/neu) sayılabilir. EGFR ve Her-2/neu (CerbB2), mitojenik ve büyüme faktörü sinyal-iletimi aktiviteleri içerir ve PDAK'larda yaygın şekilde aşırı eksprese edilir (21). Anjiyogenik faktör vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), PDAK'larda değişen oranlarda eksprese edilir (21,43).

Tümör invazyonunda büyüme faktörlerinin katkısı ile ilgili bir takım çalışmalar bulunmaktadır. Bunlar, safra kesesi ve mide kanser hücrelerinde hepatosit büyüme faktörü (HGF), mide ve kolorektal kanserde epidermal büyüme faktörü (EGF), PDAK ve kolorektal kanserde temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF) ve mide ve kolorektal kanserde VEGF'dir (44).

#### **2.8.1. Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor (GDNF)**

GDNF, bir nörotrofik faktördür. Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ailesinin bir üyesidir (45,46,47). İlk olarak 1993'te dopaminerjik nöronların



büyümesi ve diferansiyasyonunda etkili olan ve rat gial B49 hücreleri tarafından salgılanan bir protein olarak tanımlanmıştır (45,46,48). GDNF'nin enterik sinir sisteminin gelişiminde, böbrek morfogenezinde ve spermatogenezin düzenlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (45,48,49).

GDNF ailesinin dört üyesi vardır; GDNF, Neurturin, Persephin ve Artemin (45,47,48,50,51). GDNF ailesinin bu alt tipleri  $\alpha$  reseptörüne bağlandığı yere göre GFR $\alpha$ 1 (GDNF), GFR $\alpha$ 2 (Neurturin), GFR $\alpha$ 3 (Artemin) ve GFR $\alpha$ 4 (Persephin) olarak adlandırılır. Hücre içi sinyal yolları ortaktır ve bu yollar hücre büyümesi, diferansiyasyon, hücre gelişimi, apoptozu etkiler (45,50).

GDNF sinyalleri primer olarak Ret/GFR  $\alpha$ 1 reseptör kompleksi ile ifade edilir (46,49).

Nöronların gelişimi ve diferansiyasyonunda GFR $\alpha$ 1 ve Ret reseptörleri yolu ile GDNF sinyallerinin önemi vardır (52). GDNF ailesinin üyeleri çok bileşenli reseptör kompleks aracılığı ile sinyal verir. GDNF family receptor  $\alpha$  (GFR $\alpha$ )'nın bağlandığı ligand glikozil fosfatidilinositol (GPI)'dür. Bu ligand, tirozin kinaz Ret reseptör ile ilişkilidir (45,46,48,51). Bu ligand spesifitesi, GFR $\alpha$  nın dört farklı koreseptörü ile sağlanır. GDNF, GFR $\alpha$ 1'e yüksek, GFR $\alpha$ 2'ye düşük afinite ile bağlanır (45). GDNF/Ret sinyali enterik sinir sistemi, dopaminerjik nöronlar, motor nöronların gelişimi, proliferasyonu, migrasyonu ve yayılım süreci için gereklidir. Kısaca GDNF santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminde pek çok nöronun gelişimi için gerekli olan bir nörotrofik faktördür (46,50,52,53).

GDNF, fosfatidilinositol-3-kinaz üzerinden enterik sinir sistemi öncüllerinin gelişimini indükler (46,53). Santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminde pek çok hücrede GDNF, Ret, GFR $\alpha$ 1 ekspresyonu vardır (52). GDNF artışı ağrı artışına neden olur (7).

PDAK'ın invazyon ve metastaz yapabilmesinde Ret/GFR $\alpha$ 1 reseptör kompleksi yolu ile GDNF sinyallerinin önemli olduğu ortaya koyulmuştur (46,52). GDNF'nin peripankreatik nöral ganglia hücrelerinde eksprese edildiği ve dokuların PDAK hücrelerince invazyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (48,54).

GDNF aile ligandları; GDNF, Neurturin, Artemin ve Persephin, yaygın sinyal bileşeni, Ret reseptör tirozin kinaz ve ligand spesifitesi sunan GPI bağlantılı

reseptörlerin GFR $\alpha$  ailesinin bir üyesinden meydana gelen çok bileşenli reseptörler kullanır (55). Gelişiminin erken safhalarında Artemin superior servikal ganglion (SCG) sempatik öncü hücre göçünü etkiler (56) ve SCG nöroblast proliferasyonunu destekler (57). Gelişiminin daha sonraki safhalarında ise GDNF ve Neurturin kültürde sempatik nöronların gelişimini destekler (58,59,60,61,62).

### 2.8.2. Nerve Growth Factor (NGF)

NGF; Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), NT-3, NT-4/5, NT-6, NT-7'nin dahil olduğu Nörotrofin (NT) ailesinin ilk keşfedilen üyesidir (15,63,64). NT'ler, polipeptid yapılı büyüme faktörleri ailesindedir (65). NGF, nöronal fenotipi etkileyerek nöroblast proliferasyonunda dorsal kök ganglionu maturasyonunda, akson büyümesinde, periferel efektör doku ile bu dokuyu inerve eden sinirler arasında mesajcı olarak rol oynayan trofik bir proteindir (15,64,66,67). Nörotrofik faktörler sinirlere özel büyüme faktörleri olarak tarif edilmiştir fakat son yıllarda yapılan çalışmalar nörotrofik faktörlerin sinir sistemi dışında da bulunduğunu ve kanser hücre proliferasyonunda etkili olduğunu göstermiştir (54).

NGF, hücre yüzeyinde tirozin kinaz aktivitesi olan tirozin kinaz reseptör A (TrkA)'ya yüksek afinite ile tirozin kinaz aktivitesi olmayan protein 75 nerve growth factor reseptör (p75 NGFR)'üne düşük afinite ile olmak üzere iki çeşit reseptöre bağlanır (15,63,64,68,69). Pek çok büyüme faktörü ve bunların tirozin kinaz reseptörleri pankreas kanserinde aşırı eksprese edilmekte ve pankreas kanser hücrelerini stimüle etmektedir (68). p75 NGFR'ü, tüm nörotrofinlere düşük afinite ile bağlanan bir transmembran proteindir. p75 NGFR'ün nörotrofin kaynaklı kaskadı nasıl aktive ettiği tespit edilememiştir. Üç tane tirozin kinaz (Trk) reseptörü belirlenmiştir: TrkA, TrkB ve TrkC. Bu reseptörler NT'ler tarafından aktive edilen transmembran tirozin kinazlardır (15,70).

NT ailesinin üyeleri Trk reseptörlerine karşı yüksek derecede spesifite gösterir. TrkA reseptörüne NGF, TrkB reseptörüne BDNF, NT-4 ve NT-5 bağlanırken, TrkC'ye NT-3 bağlanır (15,70). NGF ve onun yüksek afiniteli reseptörü TrkA'nın, embriyonik ve postnatal hayatta periferel ve santral sinirlerin gelişimi,

yaşamını sürdürmesi, diferansiyasyonu ve nörotransmitter düzenlenmesinde önemli role sahip polipeptid ailesi olduğu rapor edilmiştir (15,54,64,65,68).

NGF, hücre diferansiyasyonuna aracılık etmesine rağmen paradoksal olarak hücre ölümüne sebep olduğu tespit edilmiştir. NGF'nin nörotrofin çekilmesi sonucu apoptozu kolaylaştırdığı düşünülmüştür. TrkA ekspresyonu yapamayan hücrelerde p75'e bağlanan NGF ve diğer nörotrofinlerin apoptoza sebep olan sinyalleri başlattığı düşünülmüştür (63,66,69). NGF nin apoptoza etkisi sinir ve immün hücrelerde görülür. Ekzojen NGF verilmesi NGF duyarlı nöronların sayısını artırırken, anti-NGF verilmesi nöron hücre ölümüne neden olur (65). Periferal dokularda NGF nin kaynağının, sinirlerin inerve ettikleri hedef dokular olduğu tahmin edilmektedir. Düz kas hücreleri, fibroblastlar, astrositler ve diğer hücreler kültür ortamında NGF sentezler (64,71). NGF'nin, nöral krest kökenli duysal ve sempatik nöronların gelişimi, yaşamını sürdürmesi ve diferansiyasyonunda önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (15). NGF'nin obstrüktif, inflamatuvar ve büyüme ile ilgili hastalıklarda rolü vardır (64,65,67,71).

Genelde kronik pankreatit örneklerinde yüksek NGF immünreaktivitesi vardır. Orta derece NGF immünboyanma arter, ven duvarı, fibroblast ve inflamatuvar hücrelerde varken, orta dereceden yüksek dereceye kadar boyanma ise metaplastik duktal hücrelerde, dejenere asiner hücrelerde, tübüler yapılara dönüşen asiner hücrelerde görülür. Kronik pankreatit dokularında sıklıkla bulunan genişlemiş pankreatik sinirler zayıf-orta derece NGF immünreaktivitesi gösterirler. Yapılan çalışmalarda artrit, sistit, inflamatuvar dermatoz gibi hastalıklarda inflamatuvar reaksiyon ve kronik ağrıyı NGF ve TrkA'nın arttırdığı tespit edilmiştir (15).

NGF'nin kronik ağrıya sebep olan bir diğer mekanizması ise P-maddesi ve Calcitonin gene related peptide (CGRP) sentez ve transkripsiyonun düzenlemesi ile beraber histamin salınımında da rol oynamasıdır. Anti-NGF antikoları ile NGF'nin bloke edilmesi deney farelerinde termal ve kimyasal hipoaljezi ve P-maddesi ile CGRP down regülasyonu oluşturur. NGF'nin ağrı eşiğini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu gözlemler kronik pankreatitteki ağrının sebebi olan nöral morfolojik değişikliklerin nedeni olarak gösterilir (15). NGF artışı ağrı artışına neden olur (7).

NGF'nin mitojenik ve büyüme-inhibitör etkileri olduğu ile ilgili pek çok tümör çeşidinde çalışma yapılmıştır. NGF'nin bazı nöronal tümörler yanında prostat, meme ve akciğer kanseri gibi nöronal olmayan tümörlerde de tümör hücre büyümesi ve invazyonunu artırırken küçük hücreli akciğer karsinomunda kanser hücrelerinin proliferasyonunu belirgin derecede azalttığı tespit edilmiştir (54,63).

İntrapankreatik ve ekstrapankreatik sinir dokusu tarafından salgılanan nörotrofik faktörlerin PDAK'ın sinir dokularını invaze etmesine eğilim oluşturduğu bilinmektedir. NGF'nin, pankreas sinir ve kanser hücrelerinde eksprese edildiği gösterilmiştir (54). Normal pankreasta, NGF ile duktal hücrelerin sitoplazması orta derecede, asiner hücre sitoplazması zayıf derecede (+) pozitif boyanır (15,72). PDAK hücrelerinin sitoplazmaları yoğun biçimde NGF immün reaktivite gösterir. Normal pankreas ve PDAK'taki sinir demetleri orta derecede NGF immünboyanma gösterir. Normal pankreasın arter ve ven duvarlarında NGF immün boyanması orta derecededir. Stromadaki fibroblastlarda NGF ile immünboyanma yoktur (15,72).

Normal pankreas ve PDAK örneklerin arter ve ven endotel hücrelerinde ve arterlerin kas tabakasında NGF ve Trk mRNA sinyal yoğunluğu arasında herhangi bir fark tespit edilememiştir (72). Nörotrofik faktörler, PDAK hücrelerini kemotaktik etki ile sinir dokusuna gönderebilir, PDAK proliferasyonunu promitojenik etki ile teşvik edebilir (4,54).

NGF, nöronal ve nöronal olmayan tümörlerde hem uyarıcı hem de inhibitör etki eder. PDAK'ta NGF aşırı ekspresedir ve bu aşırı ekspresyon artan PNI ile yakından ilişkilidir. NGF'nin bazı PDAK'ta hücre gelişmesini uyarıcı potansiyeli vardır ve bu etkiye TrkA ve mitojen-aktive protein kinaz (MAP kinaz) aktivasyonu aracılık eder. NGF'nin PDAK hücre gelişiminin düzenlenmesinde yer aldığı saptanmıştır (6).

NT ailesinin bir üyesi olarak NGF, periferel nöronlarda hem sağkalımı hem de diferansiyasyonu stimüle eder. NGF'nin PDAK hücre soylarına mitojenik olduğu gösterilmiştir ve NGF mitojenik etkiyi Ras/Raf/MAP kinaz yolağını aktive ederek gerçekleştirir. Birlikte ele alındığında, NGF PDAK gelişiminde otokrin bir düzenleyici olarak kabul edilmiştir. Sinir hücreleri, PDAK hücreleri ve NGF arasında benzerlikler olması nedeniyle, iki hücre tipi de, sinir dokuları tarafından sağlanan

çevre gibi benzer çevreleri tercih edebilir (4). NGF'nin PDAK'ta sinir ve kanser hücreleri tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir (54).

## **2.9. Pankreas İnfiltratif Duktal Adenokarsinomda Prognoz**

PDAK serilerinin çoğunda 5 yıllık sağkalım %4 veya altındadır. Olguların %90'ı teşhisten sonra 1 yıl içerisinde ölümler (13,73,74). PDAK'ta çoğu olgu (% 80-90) tanı zamanında rezeksiyona uygun değildir ve olgular nadiren 6 aydan uzun yaşarlar. Rezeksiyona uygun PDAK'ı olan olguların yaklaşık %80-90'ı 3 yıldan fazla yaşamazlar (21). Cerrahi sırasında PDAK pankreasta sınırlı olsa da 5 yıllık sağkalım %15-20'yi geçmez (13,73,74). Ancak, Japonya, ABD ve Avrupa'dan yakın zamanda bildirilen bazı serilerde daha iyi sağkalım verileri de vardır. PDAK'ın lokal olarak rekürensisi ameliyat ile alınmasının ardından sık görülür ve sağkalımı belirleyen faktörlerden biridir (21,73).

### **2.9.1. Prognostik Faktörler**

1. Tümör evresi: En önemli prognostik faktördür (13).
2. Mikroskopik derece: İyi diferansiye PDAK daha uzun sağkalım zamanı ile birlikte (13).
3. Tümör boyutu: Küçük tümörlerin (4.5 cm'den küçük çaplı), küratif operasyonlarında risk azdır, sağkalım uzundur ancak rezeksiyona uygun olmayan tümörlerde boyut sağkalıma etkili değildir (13,75).
4. Kan damarı invazyonu ve rezeksiyonda retroperitoneal sınır pozitifliği. Her ikisi de sağkalımı azaltır (13,76).
5. Lenf nodu metastazı: Evreleme sistemine dahil önemli faktördür. Genellikle mikroskopik tespit edilir (13,76).
6. DNA ploidi: Bağımsız prognostik faktör sayılır (13).
7. TGF- $\beta$ 1 ekspresyonu: İyi diferansiye tümörler ile ilişkilidir fakat bağımsız prognostik faktör değildir (13).

8. Rezeksiyona uygun pankreas kanseri olan olgularda ağrı prognostik bir faktördür (7).
9. PNİ önemli prognostik faktördür (4,45,48,75,76).

### 2.10. Kronik Pankreatit

Kronik pankreatit, multifaktöryel etiyojisi olan ilerleyici, yıkıcı ve inflamatuvar bir olaydır (28). Kronik pankreatitin, duktal sistemin PDAK veya taş ile tıkanması, alkolizm (vakaların %75'i), hiperparatiroidizm (hiperkalsemi sonucu olarak), genetik faktörler, kötü beslenme, poliarteritis nodosa, kabakulak infeksiyonu, tüberküloz, sarkoidoz, malakoplaki, primer sklerozan kolanjitin sekonder yayılımı ve HIV infeksiyonu gibi etiyojistik nedenleri vardır (12,13). Mikroskopik fibrozis ve atrofi odakları (histolojik kronik pankreatit) pankreas rezeksiyon veya otopsi örneklerinde sık karşılaşılan bulgular ve sıklıkla “fokal kronik pankreatit” olarak raporlanan patolojik bulgular kronik pankreatit kliniği ile pek örtüşmez (12). Kronik pankreatit lokalize olduğunda klinik, radyolojik ve makroskopik olarak PDAK'ı taklit edebilir ve sonuçta histolojik yapı da sıklıkla neoplaziyi taklit eder. Sürecin başlarında, fibrozis çoğunlukla lobüllerin periferindedir, minimal asiner atrofi vardır ve kronik inflamatuvar hücreler görülür (12,28). Kronik pankreatitteki ağrının sebebi olarak sinaps yapmadan direkt spinal kord'a giren duyu sinirleri gösterilir (15).

Kronik pankreatit ile artmış PDAK riski ilişkili olarak değerlendirilmekle birlikte ikisi arasında neden sonuç ilişkisi kurmak zordur. Kronik pankreatit vakalarının yarısında K-ras mutasyonu ile yakın ilişki tespit edilmiştir fakat bunun malign dönüşüm ile ilişkisi tespit edilememiştir (13,28).

Yapılan bir çalışmada 255 PDAK'lı olgunun 26 (%10)'sında belirgin pankreatit tespit edilmiş bunun da genelde PDAK tanısının gecikmesi dolayısıyla olduğu ileri sürülmüştür (13). NGF, kronik pankreatitte nöropeptid salınmasına bağlı nörojenik inflamasyonda önemli rol oynar (7). Birçok inflamatuvar hastalık çeşidinde NGF seviyesinin inflamasyonlu organda hızlı artış gösterdiği ve bazı olgularda bunun salgılanan tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) ve interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ )'nin aktivasyonu yoluyla gerçekleştiği bilinmektedir (7,67,71).

## 2.11. Pankreatik Ağrı

Kronik pankreatit olgularının ana şikayeti ‘karın ağrı sendromu’ adı ile bilinen ve ciddi, aralıklı veya uzun süreli ve geçmeyen ağrı ile nitelendirilir. Kronik pankreatitte ağrıyı başlatan ve ağrıyı devam ettiren mekanizmalarla ilgili hiçbir güncel hipotez çeşitli semptomları açıklayamamaktadır (7). Ancak, kronik pankreatitte ağrı oluşum mekanizmaları ile ilgili birkaç hipotez geliştirilmiştir bunlar; ‘intraduktal basınçtaki artış’, ‘interstisyel hipertansiyon’, ‘tek veya multipl striktür yoluyla pankreatik fibrozis’, ‘pankreatik iskemi’ ve ‘pankreatik psödokistler’dir (7,28).

Kronik pankreatit olgularının aksine PDAK olgularında, özellikle de hastalığın erken safhalarında karakteristik klinik semptom görülmez. Yine de, PDAK olgularının hastaneye yatırılmaları zamanında en çok görülen iki semptom kilo kaybı (%92) ve sarılıktır (%82) (7) ayrıca bazı olgularda akut pankreatit, gezici tromboflebit, hipoglisemi veya hiperkalsemi görülebilir (32) karın ve sırt ağrısı da (%72) ilerlemiş PDAK evrelerinde sık görülür ancak erken evre PDAK olgularının sadece %30’u karın ağrısından şikayet ederken sınırlı PDAK olan olguların %60’ında, ilerlemiş PDAK olan olguların ise %80’inde bu şikayet vardır. PDAK’ta karın ağrısı oluşumu ile ilgili tek hipotez, sinir pleksusu dahil komşu organlara kanser hücrelerinin invazyonuna dayanır. Bu nedenle, hem kronik pankreatit hem de PDAK sinir morfolojisinde değişimlere neden olarak bir ‘pankreatik nöropati’ meydana getirebilirler. Sonuç olarak, intrapankreatik sinirlere (bağışıklık sistemi hücreleri veya kanser hücrelerince) verilen zarar sonucunda sinir hemostazı bozulur. Bu nedenle, kronik pankreatit ve PDAK’taki ağrının nöropatik kaynaklı olduğu düşünülebilir (7). NGF’nin, nöropatik ve non-nöropatik ağrının gelişiminde ve nöropatik ağrının tedavisinde etkili olduğu ve karmaşık bir sistem içinde çalıştığı düşünülmektedir (67).

### 2.11.1. Pankreatik Ağrıda Nöro-İmmün Etkileşimler

Kronik pankreatitte, intrapankreatik sinirlerin perinöryumu sıklıkla bağışıklık sistemi hücrelerince infiltre edilir. Sinirlerin perinöral kılıfı hasar görür ve bu

nedenle artık aksonlar ile çevreleyen bağ doku arasında koruyucu bir bariyer görevini göremez. Perinöryumun delinmesi nedeniyle sınırlar ekstrasellüler matrikste bulunan zehirli maddeler ve sitokinlere karşı giderek daha açık hale gelirler. Bunun sonucu olarak, daha fazla bağışıklık hücresi sınırları infiltre ederek lokal 'nörit' oluşturur ve bu kronik pankreatiti olan olgularda ağrı şiddeti ile koreledir. Pankreatitteki hasarlı sınırlar ve immün hücreler arasındaki etkileşime bu nedenle nöro-immün etkileşim denilmiştir (7).

Başka bir hipotez, kronik pankreatitte hissedilen ağrının intrapancreatik sınırlara verilen zarar ile tetiklendiğini önermektedir. Bu hipotez, kronik pankreatit doku örneklerindeki yoğun stroma içinde belirgin şekilde genişlemiş intrapancreatik sınırların sayısındaki artış gözlemine dayanmaktadır. İntrapancreatik sınırların büyümesi ve artması ile ağrının şiddetinin nöronal büyüme ve esnekliği için bir belirleyici olan growth-associated protein 43 (GAP-43) ekspresyonundaki artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, kronik pankreatitteki sınırlardaki yeniden şekillendirmenin ağrı oluşumu ve devamında etkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, çeşitli nörotrofik faktörler incelenerek pankreatik sınırların büyümesine katkıları ve kronik pankreatit ağrısını etkileme potansiyelleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bunlar arasında, NGF ve yüksek affiniteli reseptörü TrkA vardır. Kronik pankreatitte bunların hepsi artacak şekilde düzenlenmektedir (7).

TrkA ve BDNF en çok genişlemiş pankreatik sınırların perinöryumunda ağırlıklı olarak eksprese edilir, ağrı sıklığı ve şiddeti ile doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir (7).

GDNF ligand ailesinin bir üyesi olarak Artemin ve ko-reseptörü GDNF family reseptör  $\alpha 3$  (GFR $\alpha 3$ )'ün kronik pankreatitte aşırı eksprese edildiği tespit edilmiştir. Fonksiyonel olarak nörotrofik faktörlerin fizyolojik şartlar altında sınırların büyümesi ve proliferasyonunu stimüle ettiği ve patofizyolojik şartlar altında onarma ve rejenerasyonu uyardığı gösterilmiştir (7).

NGF, kronik pankreatitte nöropatiyi kötüleştirebilir ve bu yüzden genişlemiş intrapancreatik sınırların oluşumunu hızlandırıp bunun sonucu olarak ağrı iletimindeki eşğin düşmesine neden olduğu düşünülmüştür (7).



GDNF, NGF ve artemin enjeksiyonunun akut periferel hiperalezi oluřturduęu saptanmıřtır (77,78). Artemin ve NGF'nin birlikte enjeksiyonu daha dūřuk stimūlasyon eřiklerinde bile hiperaleziye yol açarak her ikisinin de nosiseptōrlerin duyarlařmasında ve inflamatuvar hiperalezi de önemli etkileri olduęu ortaya konulmuřtur (67,77). GDNF'nin de kronik aęrıda önemli role sahip olduęu dūřünūlmüřtür (71).

### 2.11.2. Nōro-Kanser Etkileşimler

PDAK olgularındaki karın aęrısının komřu organların kanser hūcrelerince invazyona uęramasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Nōropatinin nedeninin, PDAK hūcrelerinin intra ve ekstrapankreatik PNİ olduęu dūřünūlmektedir ve bu durum PDAK örneklerinin %71-98'inde gözlenir lenfatik ve vasküler yayılma ile birlikte PNİ, PDAK'taki ana metastaz yoludur (7).

PDAK hūcrelerinin intrapankreatik PNİ oluřturması, ilk olarak Bockman ve ark. (79) tarafından PDAK hūcrelerinin sinirlerin yakın çevresi ile sınırlandırılmıř olmayıp perinōryuma girdiklerini ve bu nedenle endonōryumda Schwann hūcreleri ve aksonlara çok yakın olduklarını gōstermeleri ile tarif edilmiřtir. Ayrıca, PDAK hūcreleri perinōral ve endonōral bořlukları kullanarak çoęalır ve ileri metastaz yapar. Ancak, pankreatik sinirlere PDAK hūcreleri infiltrasyonunun morfolojik varlığı ile aęrı arasında korelasyon yoktur ve PDAK hūcreleri siniri infiltre etmiř olguların %24'ünde aęrı olmadığı gözlemlenmiřtir (7).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Olgu Seçimi ve Çalışma

Araştırmamıza 2003- 2010 yılları arasında SDÜ Tıp Fak. Araştırma ve Uygulama Hastanesinde tanı almış 33 PDAK olgusu; ayrıca 5 olguya ait normal pankreas alındı. Olgulara ait patoloji preparatları PDAK, PanIN, lenfovasküler invazyon, PNİ, derece, retroperitoneal sınırdaki tümör varlığı, lenf nodu metastazı açısından tekrar değerlendirildi. Beş olguluk normal pankreas, başka nedenle operasyon uygulanmış tümör, kronik pankreatit veya PanIN'i olmayan olgulardı. Gerektiğinde bloklarından tekrar kesitler alındı. PDAK için Adsay ve ark. (35) önerdiği modifiye edilmiş 2000 yılı DSÖ derecelendirme şeması kullanıldı (32) **(Tablo 3)**.

Olgulara ait arşiv dosyaları incelendi. Arşiv dosyalarında olgulara ait klinik, laboratuvar ve radyolojik görüntüleme bilgileri araştırıldı. Telefon ile olgulara veya yakınlarının tamamına ulaşılarak ağrı ve sağkalım süreleri hakkında bilgi alındı.

##### 3.1.1. Ağrı skorlaması

Ağrı skorlaması, Zeng ve ark.(48) kullandığı ağrı skorlaması kullanıldı. Buna göre ameliyat öncesinde ve ameliyat sonrası dönemde, tümörlü olguların tamamının ağrı durumu değerlendirildi. Ağrı dereceleri şöyle sınıflandırıldı; 0: ağrı yok, 1: hafif ağrı (karında rahatsızlık veya ağrı kesici gerektirmeyen ve hareketi kısıtlamayan ağrı), 2: orta dereceli ağrı (narkotik olmayan ağrı kesici ile kontrol altına alınan ağrı), 3: ciddi derecede ağrı (narkotik ağrı kesici gerektiren ve hareketi kısıtlayan ağrı).

#### 3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar için NGF (1:100, Rabbit polyclonal, cat no: ab 6199, Abcam, Cambridge, USA, MA02139-1517) ve GDNF (1:100, Rabbit polyclonal, cat no: sc-328, Santa cruz, USA) antikorları kullanıldı.

Çalışma öncesinde pozitif kontrol olarak NGF ve GDNF için insan beyin dokusu kullanıldı. Seçilen parafin bloklardan lizinli lam üzerine alınan 4-5 mikron kalınlığında kesitler aşağıdaki aşamalardan geçirilerek immünohistokimyasal boyama işlemi uygulandı.

Parafin kesitler 60 derecedeki etüvde 1 saat bekletildi.

- Ksilende iki kez 15'er dakika bekletildi.
- Absolü alkolden iki kez 10'ar dakika geçirilerek dehidrate edildi.
- Preparatlar distile suyla yıkandı.
- Antijen retrieval aşaması uygulandı (PT modulle cihazında pH=6'da 98°C'de 20 dakika ısıtıldı).
- Distile suda yıkandı.
- %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 dakika muamele edildi.
- Distile su ile 5 dakika yıkandı.
- Fosfatla tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda iki kez 5'er dakika yıkandı.
- Ultra V blok solüsyonu 5 dakika uygulandı.
- Ultra V blok solüsyonu akıtılarak primer antikorlar damlatıldı.
- NGF(1:100, Rabbit Polyclonal cat no:ab 6199, Abcam Cambridge USA klon: MA02139-1517) için 60 dakika oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı
- GDNF (1:100, Polyclonal cat no: sc-328, Santa cruz USA) için 60 dakika nemli ortamda inkübasyon yapıldı.
- PBS solüsyonunda 2 kez 5'er dakika yıkandı.
- Biotinylated goat anti-polyvalent solüsyonu 20 dakika bekletildi.
- PBS solüsyonunda 2 kez 5'er dakika yıkandı.
- Streptavidin peroksidaz solüsyonunda 20 dakika bekletildi.
- PBS solüsyonunda 2 kez 5'er dakika yıkandı.

- Diaminobenzidin (DAB) kromojeni 5 dakika bekletildi.
- Kesitler distile suyla yıkandı.
- Mayer'in hematoksileni ile 30 sn süreyle zıt boya yapıldı.
- Çeşme suyunda yıkandı.
- Artan konsantrasyondaki alkollerden (70°, 80°, 96°) geçirilerek rehidratasyon yapıldı.
- Ksilenle yıkandı.
- Mounting medium kullanılarak kapatıldı.
- Negatif kontrol için pozitif kontrol kesitlere primer antikor yerine dilüent solusyon damlatılarak immünohistokimyasal boyama işlemi yapıldı.
- İmmünohistokimyasal yöntemle yapılan GDNF ve NGF boyalarının değerlendirmesinde histolojik skorlama sistemi kullanıldı (**Tablo 5**).

**Tablo 5.** GDNF ve NGF histolojik skorlama sistemi.

	Nükleer Boyanma		Sitoplazmik Boyanma	
			Şiddet	Yaygınlık
GDNF	-		0: Negatif 1: Zayıf 2: Orta 3: Kuvvetli	0: Yok 1: Fokal* 2: Yaygın
NGF	Pozitiflik	Yaygınlık	Şiddet	Yaygınlık
	0: Negatif 1: Pozitif	0: Yok 1: Fokal* 2: Yaygın	0: Negatif 1: Zayıf 2: Orta 3: Kuvvetli	0: Yok 1: Fokal* 2: Yaygın

\*Fokal boyanma: %10'dan daha az boyanma

### 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Windows için geliştirilmiş SPSS (statistical package for the social sciences) 15.0 paket programında yapılmıştır. Değerlendirmeler istatistiksel olarak, Ki-kare, Fisher's Exact, Mann-Whitney U ve Spearman's korelasyon testleri ile araştırılmıştır.

Veri sunumu; sayı, yüzde değerler, ortalama, standart sapma, en küçük-en büyük değerler kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen PDAK'lı 33 olgunun klinikopatolojik özelliklerine göre dağılımları tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** PDAK'lı olguların bazı klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı.

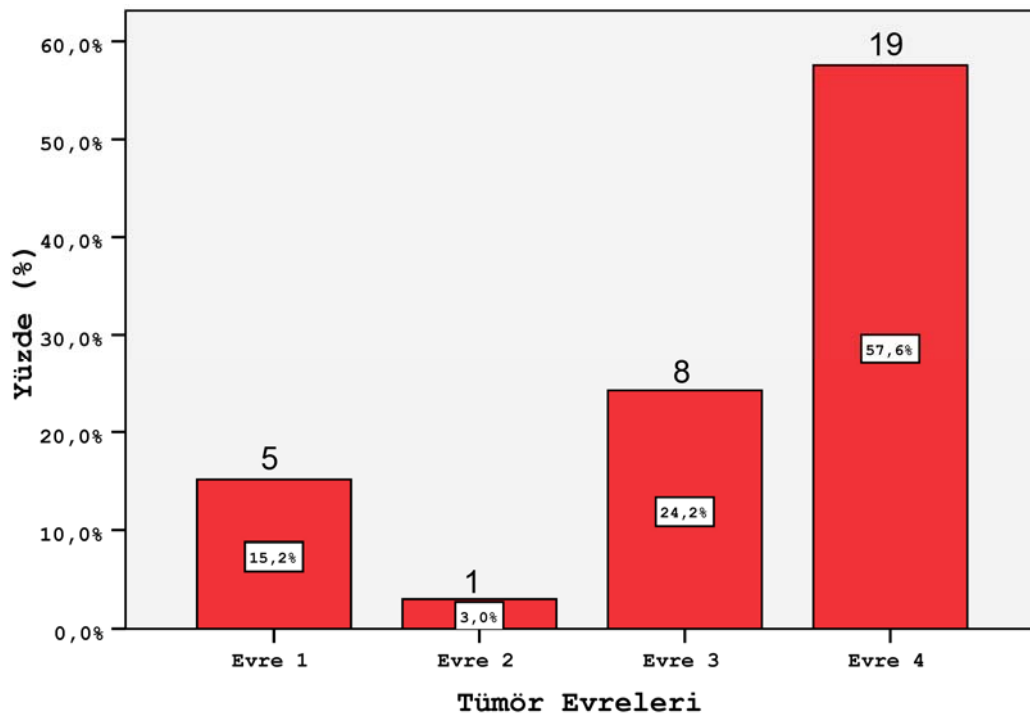
		<b>Pankreatik Duktal Adenokarsinomlu Olgular</b>
<b>Yaş</b> (Ortalama ± S.Sapma)		61,4 ± 10,6
<b>Cinsiyet</b> (Sayı- %)	Erkek	20- 60,6
	Kadın	13- 39,4
<b>Tümör Boyutu (cm)</b> (Ortalama ± S.Sapma)		4,1 ± 2,2
<b>Pankreatektomi</b>	Yapılan	17
	Yapılmayan	16
<b>Tümör Derecesi</b> (Sayı- %)	İyi	12- 36,4
	Orta	10- 30,3
	Kötü	11- 33,3
<b>Perinöral İnvazyon</b> (Sayı- %)	Var	15- 88,2
	Yok	2- 11,8
<b>Damar İnvazyonu</b> (Sayı- %)	Var	9- 52,9
	Yok	8- 47,1
<b>Lenf Nodu Metastazı</b> (Sayı- %)	Var	13- 76,4
	Yok	4- 23,6
<b>Uzak Metastaz</b> (Sayı- %)	Var	19- 57,6
	Yok	14- 42,4

Olguların 17'si (%51,5) rezeksiyona uygun olup pankreatektomi yapılmıştı. Diğerleri inoperabil idi. İnoperabil olan 16 (%48,5) olguya ait 14'ü pankreas biyopsi, 2'si karaciğer biyopsi materyalleri mevcuttu.

PDAK'lı olgularda erkek cinsiyet, kadınlara göre yüksek bulundu. Olguların 12'sinde (%36,4) tümör iyi derece, 10'unda (%30,3) orta derece, 11'inde (%33,3) kötü derece tespit edildi. PDAK'lı olguların 15'inde (%88,2) PNI varken, 9'unda (%52,9) damar invazyonu, 13'ünde (%76,4) lenf nodu metastazı vardı. 16'sı karaciğer (%48,6), 2'si akciğer (%6), 1'i kemik (%3) metastazı olmak üzere 19 olguda (%57,6) uzak metastaz mevcuttu (**Tablo 6**).

Pankreatektomi yapılan 17 olgunun 1'inde (%5,8) retroperitoneal sınır tutulumu varken, 15'inde (%88,2) tutulum yoktu, 1 olguda (%5,8) retroperitoneal sınır tutulumu değerlendirilemedi. Pankreatektomi yapılan 17 olgu ve biyopsi yapılan 1 olgu olmak üzere toplam 18 olguda tümör komşuluğunda PanIN vardı, tespit edilen en yüksek dereceye göre 10 olguda PanIN-2 ve 8 olguda PanIN-3 mevcuttu.

Olguların patolojik tanı anındaki tümör evrelerine baktığımızda; 19'u (%57,6) evre 4 iken, 8'i (%24,2) evre 3, 5'i (%15,2) evre 1 ve 1'i (%3) ise evre 2 olarak bulundu (**Şekil 9**).



**Şekil 9.** Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomlu olguların, evrelerine göre yüzde dağılımları.

Araştırmaya dahil edilen PDAK'lı olgular, ortalama 9,4 ay (1-14) takip edildi. Olguların 28'inin (%84,8) öldüğü, 5'inin ise (%15,2) halen yaşadığı görüldü. Ölen PDAK'lı olguların tanıları konulduktan sonraki sağkalım süreleri ortalaması 6,9 ay (1-48) olarak tespit edildi. Halen yaşayan PDAK'lı olguların tanı aldıktan sonraki toplam sağkalım süreleri ortalaması ise 23,6 ay (4-31) bulundu.

Sağkalım analizi Kaplan-Meier sürvi analizi ve Cox regresyon testi ile yapıldı.

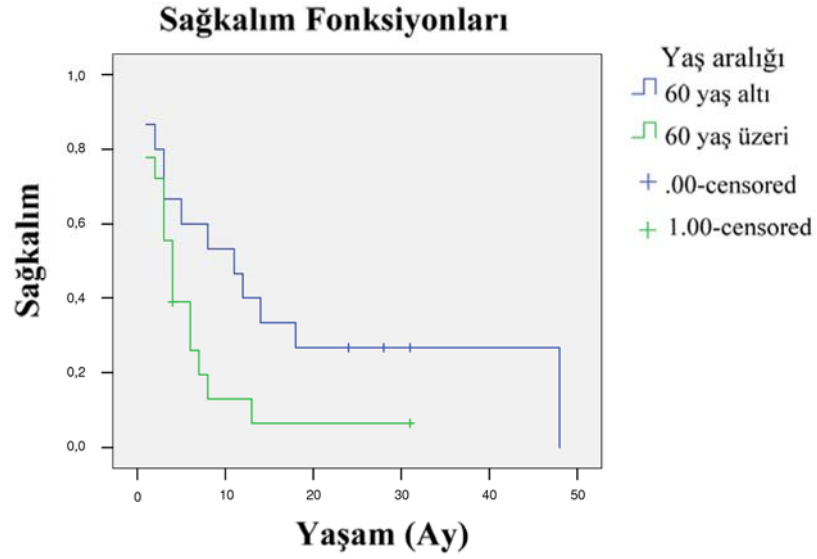
PDAK'lı olguların tamamına ait izlem, evre, histopatolojik derece ve ağrı skoru karşılaştırıldı buna göre derece ve ağrı skoru ile sağkalım arasında anlamlı ilişkili saptandı (**Tablo 7**).

**Tablo 7.** PDAK'lı olguların izlem, evre, histopatolojik derece ve ağrı skorunun karşılaştırılması.

<b>Olgu No</b>	<b>İzlem Ay (sağ/eks)</b>	<b>Evre</b>	<b>Derece</b>	<b>Ağrı skoru</b>
1	1 (eks)	3	1	2
2	2 (eks)	4	1	3
3	12 (eks)	1	2	2
4	4 (eks)	4	3	3
5	48 (eks)	4	1	2
6	6 (eks)	3	2	2
7	18 (eks)	4	1	2
8	8 (eks)	4	3	2
9	14 (eks)	1	2	0
10	7 (eks)	4	2	3
11	1 (eks)	4	3	3
12	11 (eks)	4	3	3
13	8 (eks)	4	3	3
14	5 (eks)	3	3	3
15	3 (eks)	4	2	2
16	1 (eks)	4	2	2
17	3 (eks)	4	1	0
18	1 (eks)	4	3	1
19	4 (eks)	3	3	3
20	3 (eks)	4	1	2
21	3 (eks)	1	3	2
22	1 (eks)	2	1	2
23	13 (eks)	4	1	3
24	4 (eks)	1	2	0
25	1 (eks)	3	2	0
26	3 (eks)	4	3	3
27	4 (eks)	3	2	0
28	2 (eks)	4	2	2
29	4 (sağ)	3	3	1
30	24 (sağ)	4	1	0
31	28 (sağ)	4	1	0
32	31 (sağ)	1	1	0
33	31 (sağ)	3	1	0

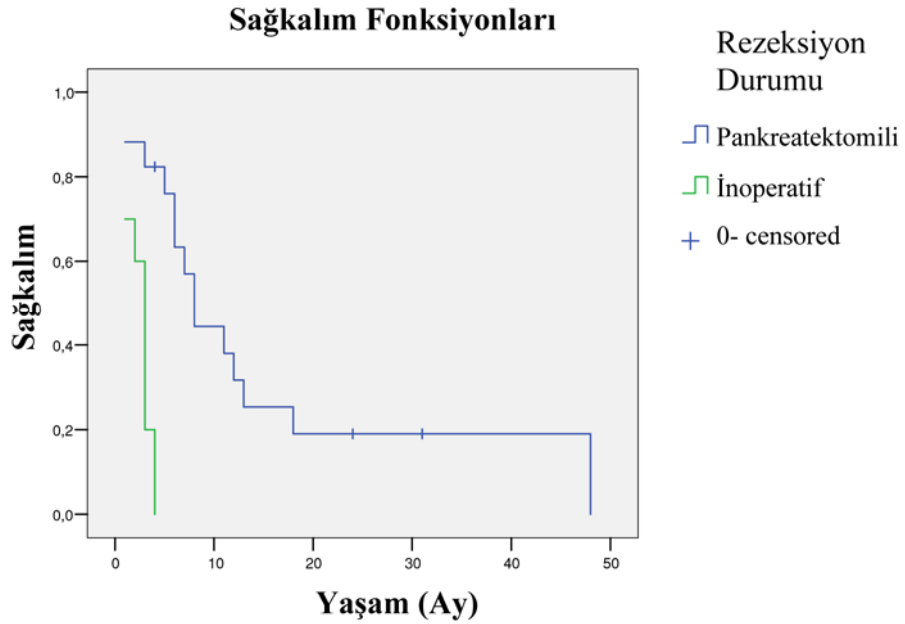


Sağkalım, 60 yaşından daha genç (42-58) olgularda, 60 yaş üzeri (61-79)'ne göre daha fazla idi ( $p= 0,048$ ) (Şekil 10).



Şekil 10. Altmış yaş üstü ve altındaki pankreas kanserli olgularda sağkalım.

Sağkalım, rezeksiyona uygun olmayan (inoperatif) olgularda pankreatektomi yapılan olgulara göre belirgin olarak kısa idi ( $p= 0,000$ ) (Şekil 11).



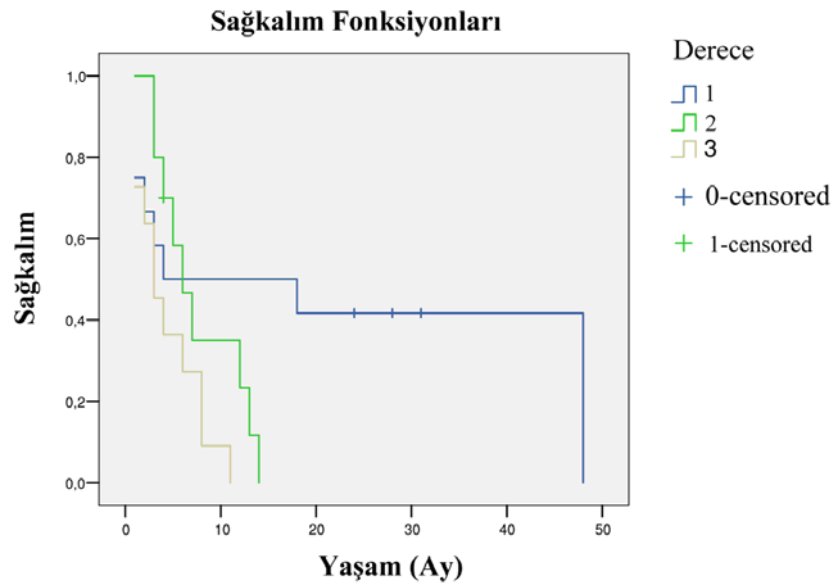
Şekil 11. Pankreatektomi yapılan olgular ile rezeksiyona uygun olmayan (inoperatif) olgular arasındaki sağkalım ilişkisi.

PDAK'lı olgularda sağkalım, cinsiyet ( $p= 0,682$ ), PNI varlığı ( $p= 0,849$ ), lenfovasküler invazyon ( $p= 0,524$ ), lenf nodu metastazı ( $p= 0,734$ ), uzak metastaz varlığı ( $p= 0,815$ ) ve evre ( $p= 0,17$ ) ile ilişkili bulunmadı.

Retroperitoneal sınırdaki tümör varlığında daha kısa sağkalım gözlenmekle birlikte, istatistik olarak anlamlı değildi ( $p= 0,151$ ).

Tümör çapı 2 cm ve daha az olan (TNM evreleme sistemine göre T1) olgular, tümör çapı daha yüksek olanlara göre farklı sağkalım göstermedi ( $p= 0,966$ ). Ancak tümör çapı arttıkça sağkalım süresi azalmıştı ( $p=0,010$ ).

PDAK derecesi ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptandı ( $p= 0,031$ ). Derece 1 tümör, derece 2 ve 3 tümöre göre daha uzun sağkalım gösterdi (**Şekil 12**).



**Şekil 12.** Tümör derecelendirmesi ile sağkalım arasındaki ilişki.

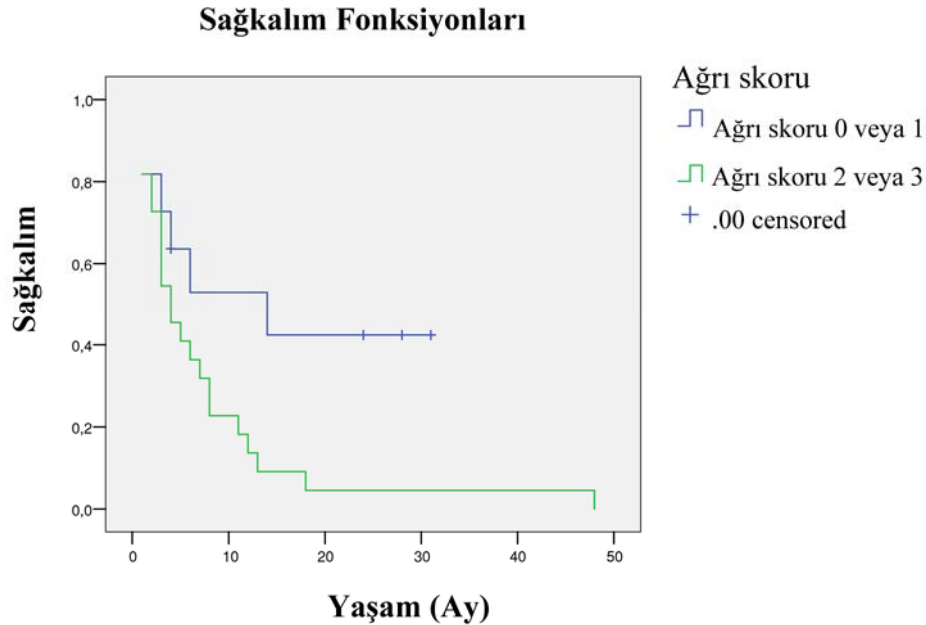
Olgu grubunun ağrı skorlarının dağılımı tablo 8'de belirtilmiştir.

**Tablo 8.** Pankreas infiltratif duktal adenokarsinomlu olguların ağrı skorlarına göre dağılımı.

AĞRI SKORU	Sayı	%
Yok	9	27,3
Hafif	2	6,1
Analjeziğe Yanıt Var	12	36,4
Enjeksiyona Yanıt Var	10	30,2
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>100,0</b>

Olguların ağrı eşiği skorlarına bakıldığında 12'sinde (%36,4) analjeziklere yanıt olduğu görüldü (**Tablo 8**).

Ağrı skoru 2 veya 3 olan PDAK'lı olgularda sağkalım, 0 veya 1 olan olgulara göre anlamlı olarak daha kısa idi ( $p= 0,032$ ) (**Şekil 13**).



**Şekil 13.** Ağrı skoru ile sağkalım arasındaki ilişki.

Olguların biyopsi materyallerinde NGF ve GDNF ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. NGF ve GDNF pankreas normal asiner hücrelerde, duktus epitel hücrelerinde, periferik sinirlerde, PanIN ve PDAK'ta; olguların %100'ünde pozitif boyanmalar gösterdi. NGF nükleer ve sitoplazmik, GDNF yalnızca sitoplazmik boyandı. Nontümöral lobülde ve duktusta yaygın GDNF boyanması izlendi (**Şekil 14-20**).

**Tablo 9.** NGF ile PDAK, PanIN ve normal pankreas dokusunda ortalama boyanma skorları.

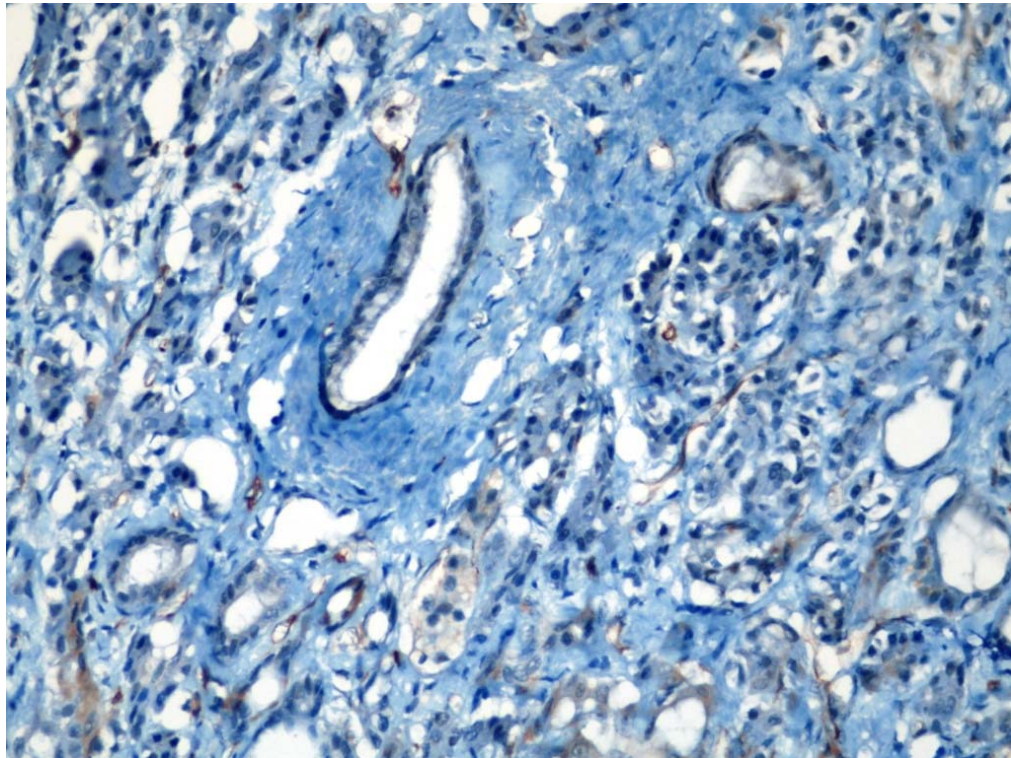
NGF	Sitoplazmik boyanma şiddeti Ortalama (min-max)	Nükleer boyanma yaygınlığı Ortalama (min-max)
PDAK	1,16 (1-3)	1,63 (1-2)
PanIN	1,18 (1-3)	1,27 (1-2)
Normal duktus	1,3 (1-3)	1,8 (1-2)
Normal lobül	1,26 (1-3)	1,53 (1-2)

**Tablo 10.** GDNF ile PDAK, PanIN ve normal pankreas dokusunda ortalama boyanma skorları.

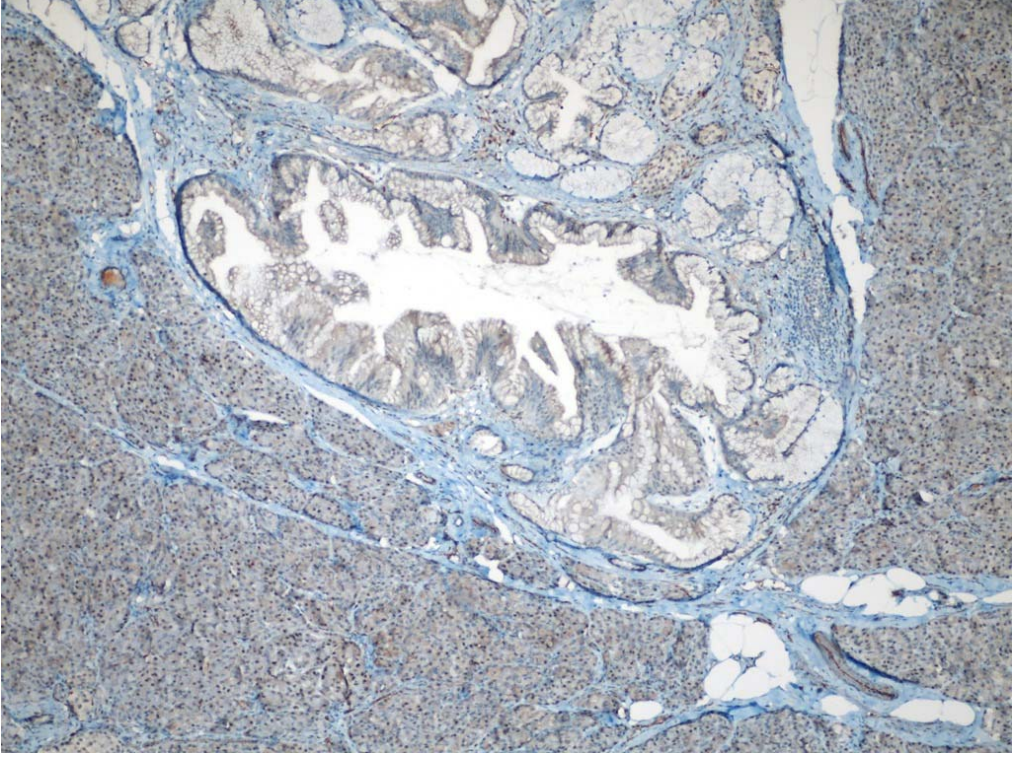
GDNF	Sitoplazmik boyanma şiddeti	Sitoplazmik boyanma yaygınlığı
	Ortalama (min-max)	Ortalama (min-max)
PDAK	2,36 (1-3)	1,96 (1-2)
PanIN	2,72 (1-3)	1,94 (1-2)
Normal duktus	3 (3-3)	2 (2-2)
Normal lobül	1,88 (1-3)	2 (2-2)

NGF ile PDAK'ta, PanIN'de ve normal pankreas dokusunda nükleer ve sitoplazmik boyanmalar izlendi (**Tablo 9**).

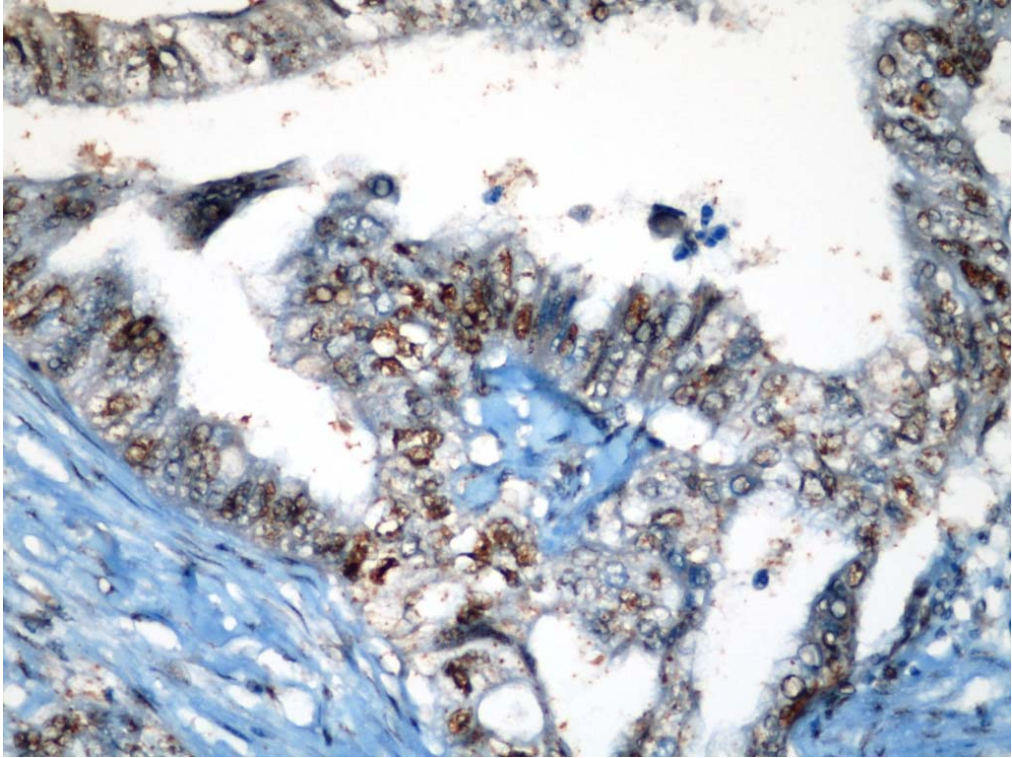
PDAK'lı olgularda, GDNF ile duktuslarda şiddetli pozitiflik gözlenirken, PanIN ve PDAK'a doğru daha az şiddetli boyandığı dikkati çekti, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ( $p>0,05$ ) (**Tablo 10**).



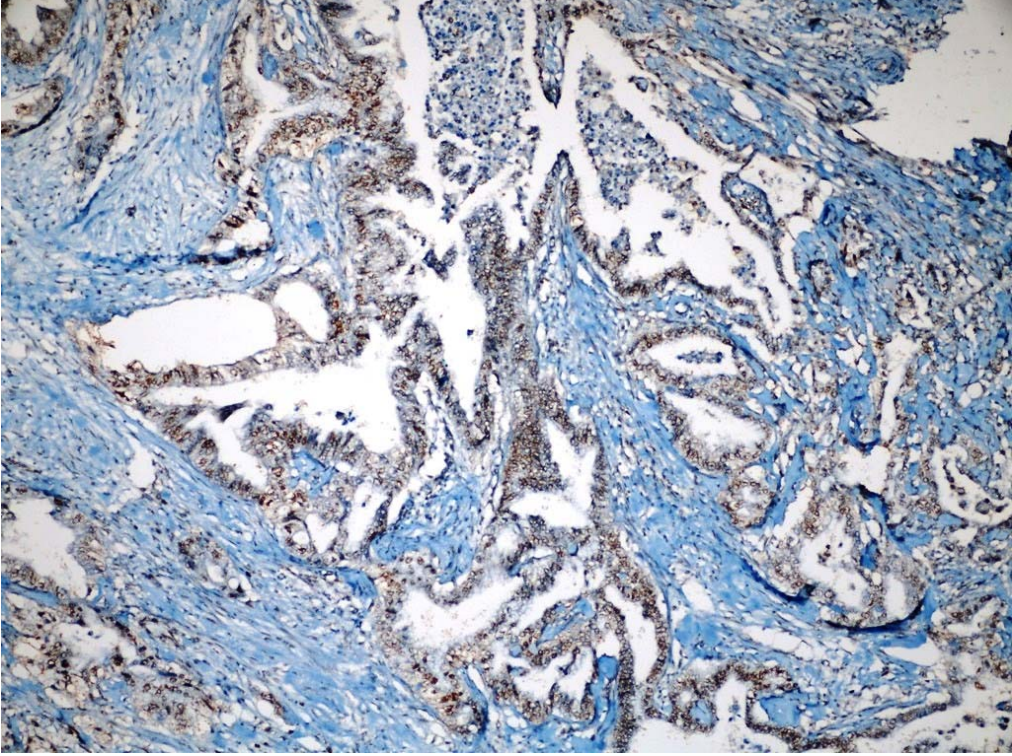
**Şekil 14.** Normal pankreasta NGF ile nükleer ve zayıf sitoplazmik boyanma (DABX200).



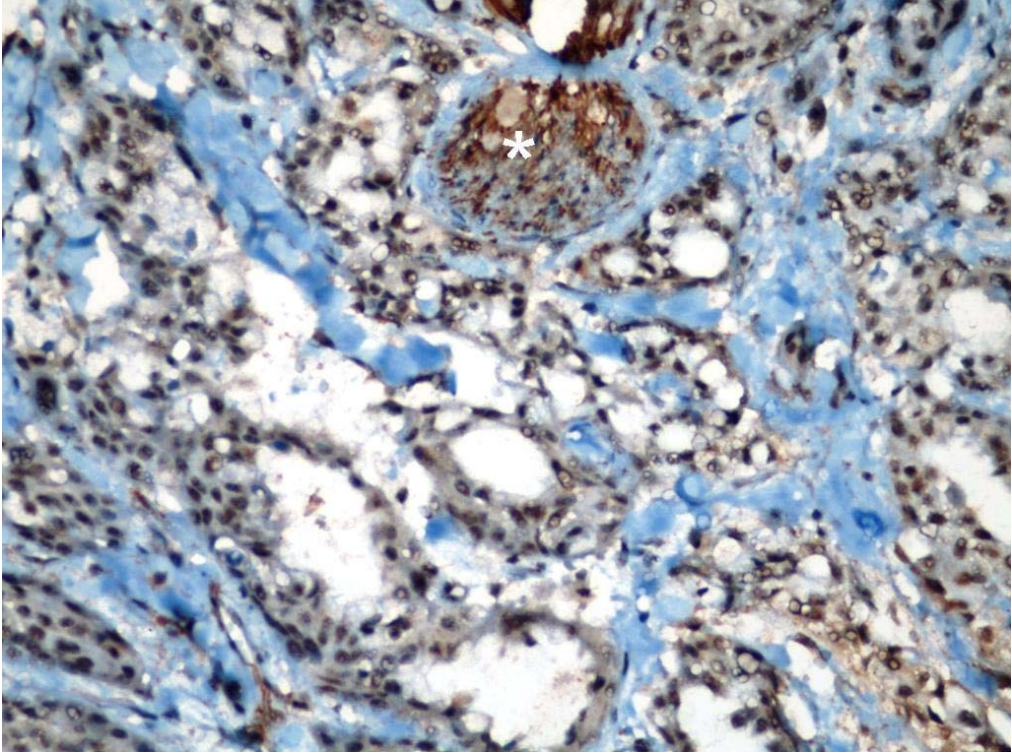
**Şekil 15.** Tümörlü bir olguya ait pankreasta NGF ile normal pankreas lobülünde yaygın nükleer pozitiflik ve PanIN'de zayıf sitoplazmik pozitiflik (DABX100).



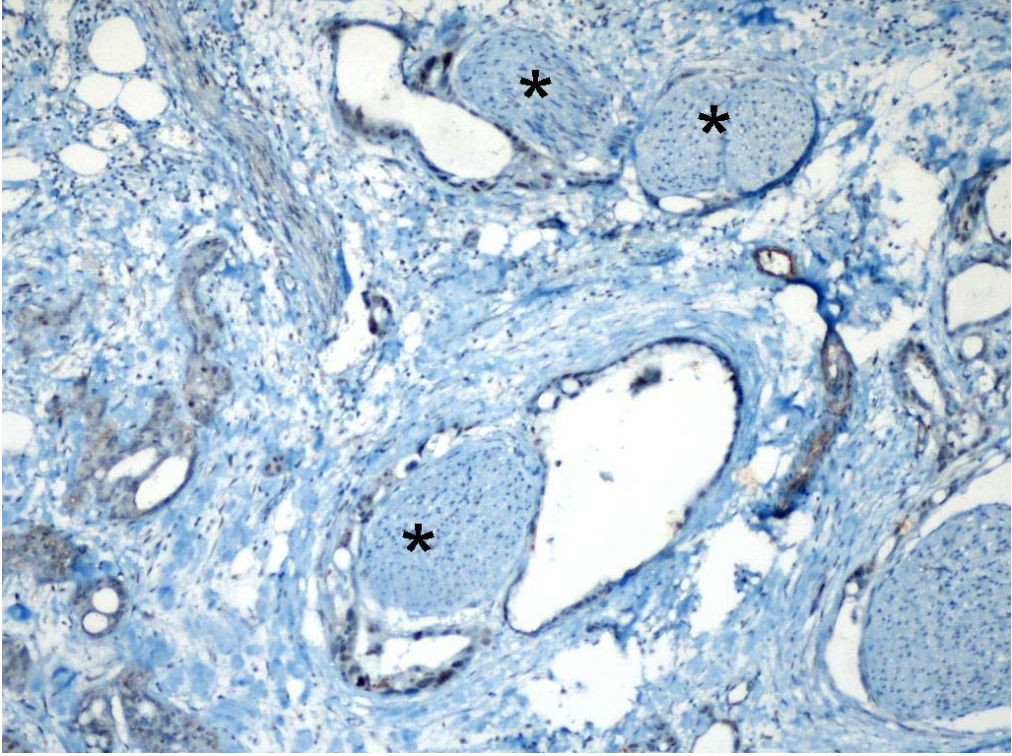
**Şekil 16.** Yüksek derece PanIN (PanIN-3)'de NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX400).



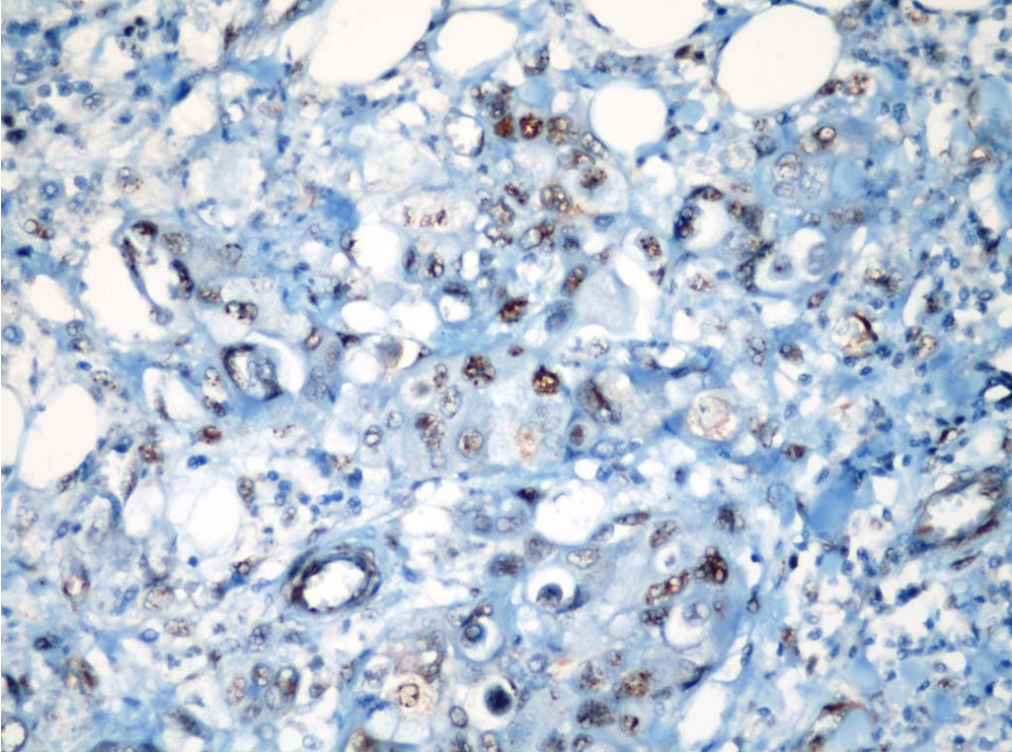
**Şekil 17.** İyi diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX100).



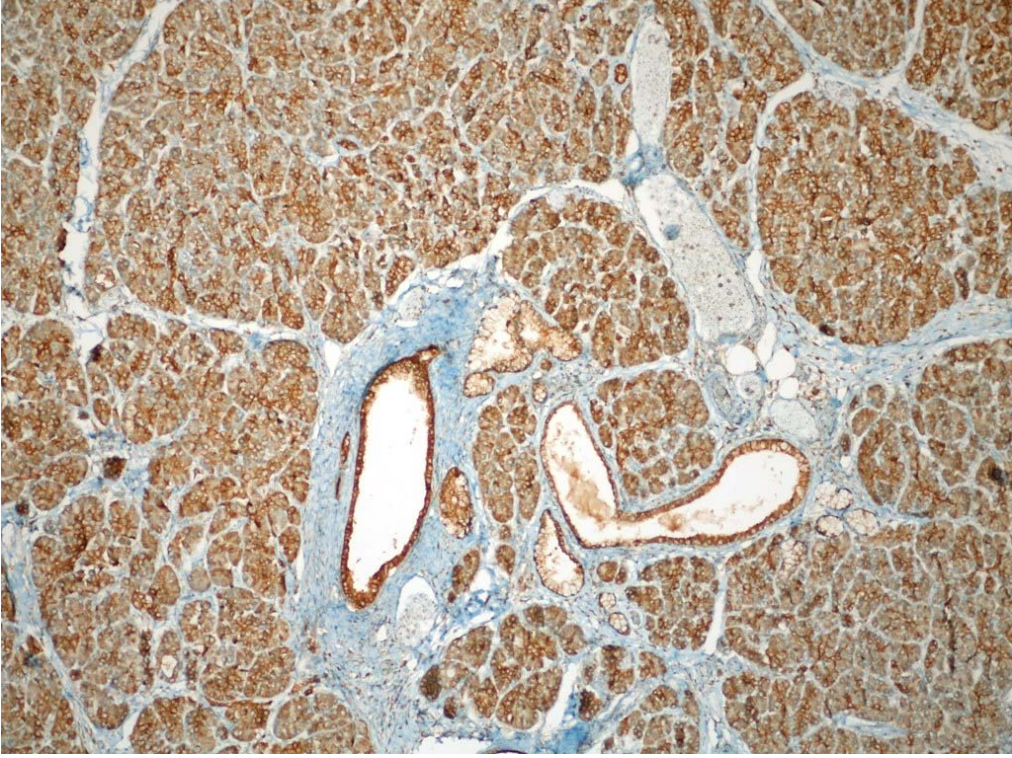
**Şekil 18.** Orta derecede diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer ve zayıf sitoplazmik pozitiflik. \*Periferik sinir lifi (DABX200).



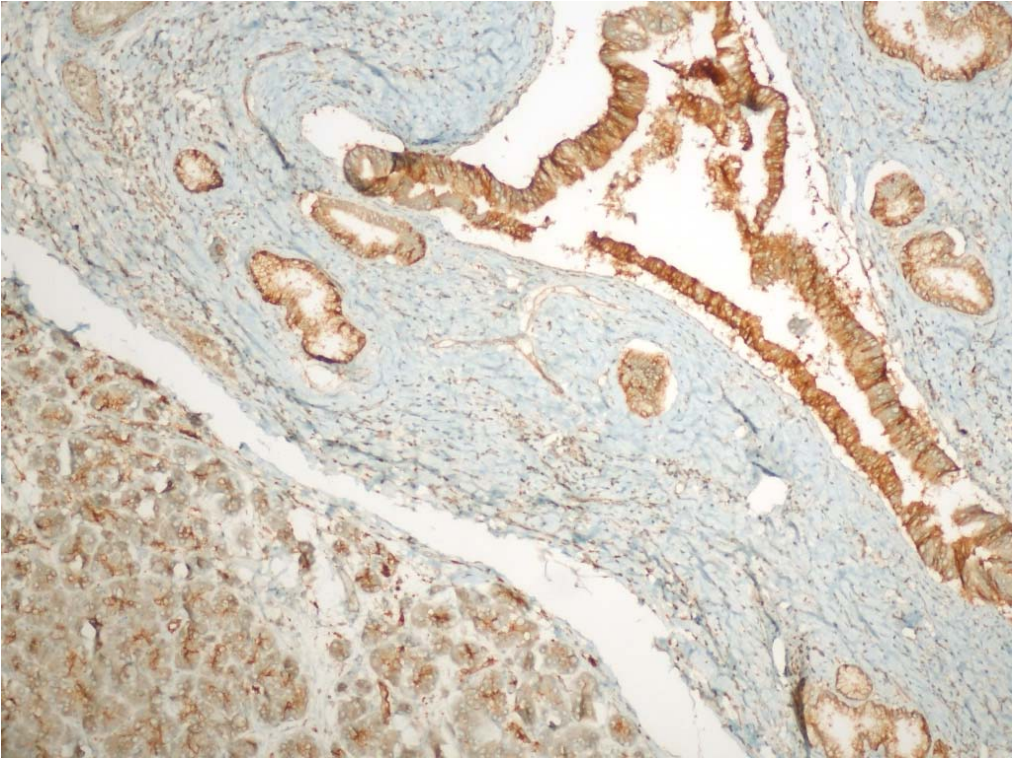
**Şekil 19.** Perinöral invazyon gösteren tümörde NGF ile fokal nükleer ve zayıf sitoplazmik boyanma. \*Perinöral invazyon (DABX100).



**Şekil 20.** Kötü diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda NGF ile yaygın nükleer pozitiflik (DABX400).

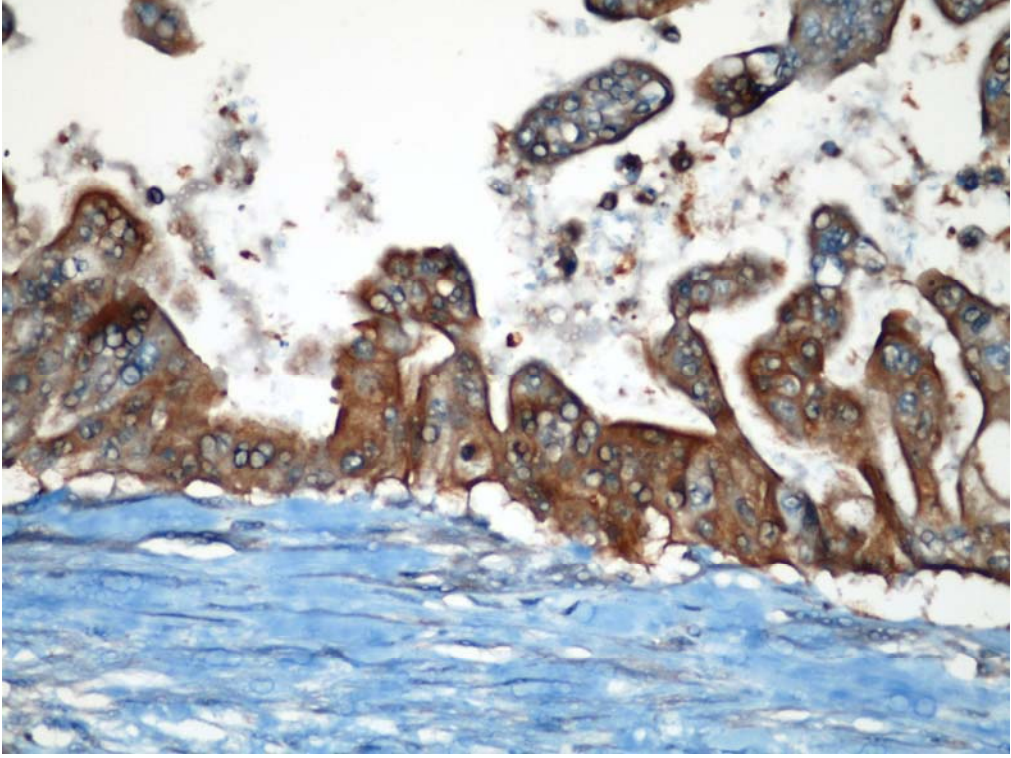


**Şekil 21.** Normal pankreasda GDNF ile yaygın sitoplazmik pozitiflik (DABX100).

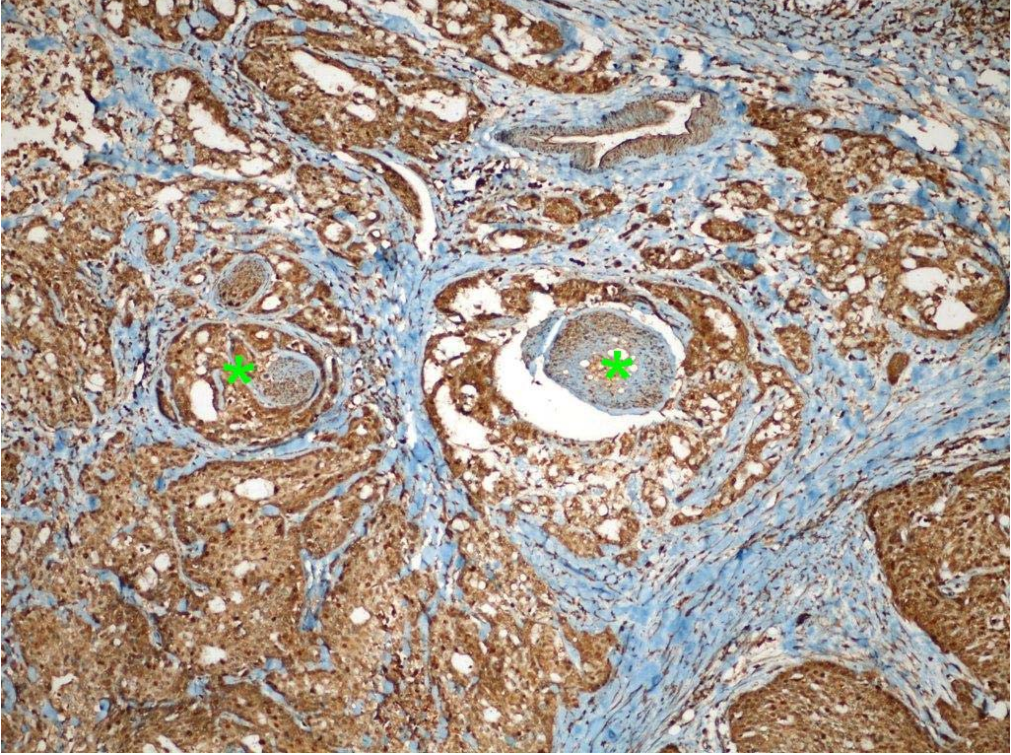


**Şekil 22.** Düşük derece PanIN (PanIN-1) ve normal duktuslarda GDNF ile pozitiflik (DABX100).

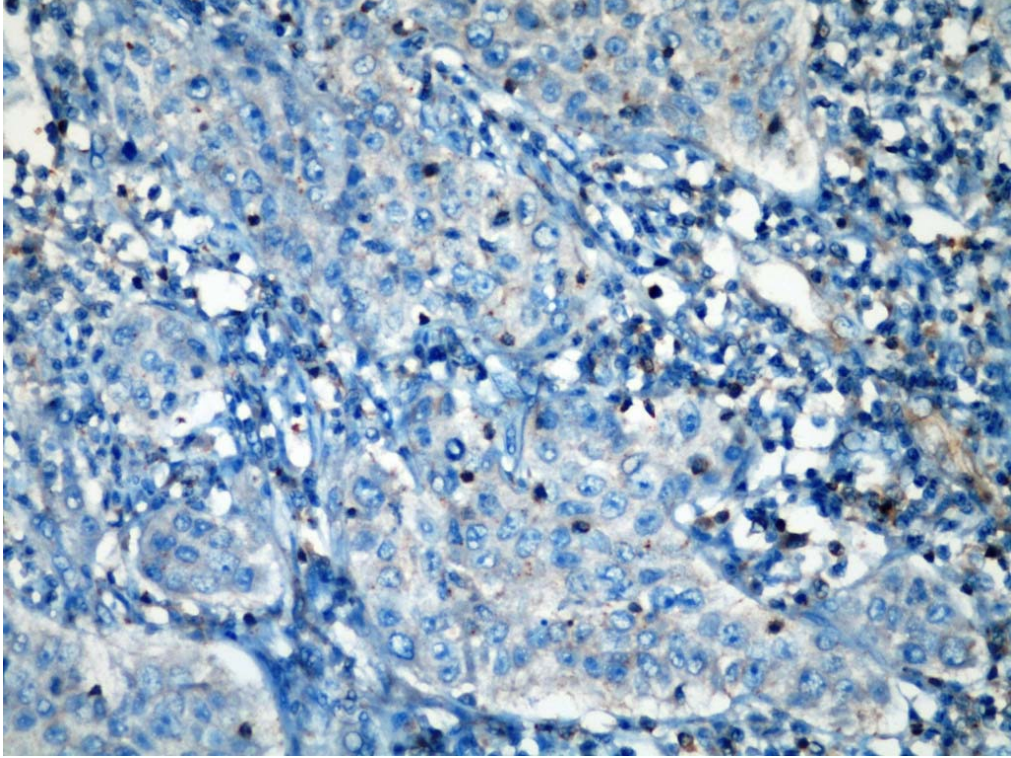




**Şekil 23.** Yüksek derece PanIN (PanIN-3)'de GDNF ile şiddetli sitoplazmik pozitiflik (DABX400).



**Şekil 24.** Orta derecede diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda GDNF ile şiddetli sitoplazmik pozitif boyanma. \*Perinöral invazyon (DABX100).



**Şekil 25.** Kötü diferansiye pankreas infiltratif duktal adenokarsinomda GDNF ile zayıf sitoplazmik pozitif boyanma görülmektedir. İnflamatuvar hücrelerde pozitif boyanma (DABX400).

Kontrol grubu pankreasta, PDAK'lı olguların nontümöral pankreasına göre NGF ile daha az ve zayıf boyanma görüldü. Ancak istatistiki olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).GDNF ile farklılık saptanmadı.

**Tablo 11.** PDAK'ta NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile tümör evresinin karşılaştırılması

PDAK EVRESİ	PDAK'ta NGF Sitoplazmik Boyanma Şiddeti	
	Zayıf (Sayı- %)	Orta- Kuvvetli (Sayı- %)
<b>Evre 1 ve Evre 2</b>	4- 66,7	2- 33,3
<b>Evre 3 ve Evre 4</b>	22- 95,7	1- 4,3

Fisher's Exact testi: 4.311

$p= 0,100$

PDAK'lı olguların tümör NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile tümör evresinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Evre 3 ve 4 PDAK, evre 1 ve 2 PDAK'lara göre daha zayıf boyanmıştır, ancak bu oran istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=$

0,100). PDAK evreleri arttıkça, PDAK NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ve yaygınlığı azalmaktadır, ancak aralarındaki bu ilişki anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). PDAK'lı olguların PDAK NGF nükleer boyanması ile tümör evresi arasında ilişki görülmedi ( $p= 0,641$ ) (**Tablo 11**).

PDAK evresi ile GDNF boyanması arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p >0,05$ ).

**Tablo 12.** PDAK'lı olgularda GDNF panIN boyanma şiddeti ile tümör evresinin karşılaştırılması.

GDNF	PanIN Boyanma Şiddeti		
	Zayıf (Sayı- %)	Orta (Sayı- %)	Kuvvetli (Sayı %)
<b>Evre 1 ve Evre 2</b>	-	2- 66,7	1- 33,3
<b>Evre 3 ve Evre 4</b>	1- 6,7	1- 6,7	13- 86,7

Ki- kare testi: 6.514

$p=0,038$

Evre 3- 4 PDAK'lı olgularda GDNF panIN boyanma şiddeti %86,7 evre 1- 2'ye göre (%33,3) yüksek bulundu. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ( $p=0,038$ ) (**Tablo12**).

**Tablo 13.** PDAK evresi ile PanIN GDNF boyanma şiddeti ve yaygınlığının karşılaştırılması.

GDNF	PanIN Boyanma Şiddeti (n: 18)	PanIN Boyanma Yaygınlığı (n: 18)
<b>Evre1-2-3-4*</b>	r: 0,560	r: 0,153
	$p=0,016$	$p=0,544$

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK evresi arttıkça, PDAK'lı olgularda PanIN GDNF boyanma şiddeti artmaktaydı. Aralarındaki bu ilişki orta güçlü düzeyde ve anlamlı bulundu ( $r= 0,560$ ,  $p=0,016$ ) (**Tablo 13**).

**Tablo 14.** PDAK derecesi ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.

NGF	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Şiddeti (n: 29)	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Yaygınlığı (n: 28)	PDAK'ta Nükleer Boyanma Yaygınlığı (n: 30)
PDAK derecesi İyi- Orta- Kötü*	r=0,043	r= -0,235	r=0,025
	p=0,826	p=0,228	p=0,894

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK'ta NGF boyanması ile tümör derecesi arasında anlamlı ilişki bulunmadı (**Tablo 14**).

**Tablo 15.** PDAK derecesi ile PanIN'de NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.

NGF	PanIN'de Sitoplazmik Boyanma Şiddeti (n: 18)	PanIN'de Sitoplazmik Boyanma Yaygınlığı (n: 18)	PanIN'de Nükleer Boyanma Yaygınlığı (n: 18)
PDAK derecesi İyi- Orta- Kötü*	r=-0.324	r=-0,174	r=0,718
	p=0,332	p=0,609	p=0,013

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK derecesi arttıkça, PDAK'lı olgularda NGF ile panIN'de nükleer boyanma yaygınlığı da artmaktaydı. Aralarındaki bu ilişki orta güçlü düzeyde olup istatistiksel olarak anlamlıydı (r= 0,718, p=0,013) (**Tablo 15**).

**Tablo 16.** PDAK derecesi ile GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.

GDNF	PDAK'ta Boyanma Şiddeti (n: 33)	PDAK'ta Boyanma Yaygınlığı (n: 33)
PDAK derecesi İyi- Orta- Kötü*	r=-0,062	r=-0.217
	p=0,731	p=0,226

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK'ta GDNF boyanması ile tümör derecesi arasında anlamlı ilişki bulunmadı (**Tablo 16**).

PDAK tanısı alan olgularda tümör boyutlarının, PDAK'ta NGF ve GDNF boyanma özelliklerine göre karşılaştırılması korelasyon testi ile yapıldı.

**Tablo 17.** Tümör boyutu ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.

NGF	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Şiddeti (n: 29)	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Yaygınlığı (n: 28)	PDAK'ta Nükleer Boyanma Yaygınlığı (n: 30)
<b>Tümör Boyutu*</b>	r= 0,096	r=0,023	r=0,324
	p=0,620	p=0,909	p=0,081

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK tümör boyutu ile PDAK NGF pozitifliği arasında pozitif korelasyon izlendi (**Tablo 17**).

PDAK'lı olgularda tümör boyutu ile tümör GDNF boyanma özellikleri arasında ilişki saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 18.** PDAK'lı olgularda tümör boyutu ile tümöre komşu PanIN'de GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.

GDNF	PanIN'de Boyanma Şiddeti (n: 18)	PanIN'de Boyanma Yaygınlığı (n: 18)
<b>Tümör Boyutu*</b>	r=0,584	r=0,211
	p=0,011	p=0,401

\*: Spearman's korelasyon.

PDAK'lı olgularda tümör boyutu arttıkça tümöre komşu PanIN'de GDNF ile boyanma şiddeti artmaktaydı. Aralarındaki bu ilişki orta güçlü düzeyde ve anlamlı tespit edildi ( $r=0,584$ ,  $p=0,011$ ) (**Tablo 18**).

PDAK tanısı alan olgularda, kan damarı invazyonu olup olmaması durumunun boyanma özelliklerine göre karşılaştırılması ki-kare testi ile yapıldı.

Prognostik faktörler olan lenfovasküler ve retroperitoneal sınırdaki tümör varlığında NGF ve GDNF boyanmaları arasında farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ).

Lenf nodu metastazlı olgularda, olmayanlara göre nontümöral lobülde NGF ile daha zayıf boyanma izlendi ( $p=0,017$ ). Ayrıca normal duktuslarında da daha az NGF boyanması gözlemlendi ( $p=0,038$ ).

**Tablo 19.** PDAK olgularında ağrı skoru ile NGF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.

NGF	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Şiddeti (n: 29)	PDAK'ta Sitoplazmik Boyanma Yaygınlığı (n: 28)	PDAK'ta Nükleer Boyanma Yaygınlığı (n: 30)
Ağrı Skoru *	$r=-0,214$	$r=0,024$	$r=0,034$
	$p=0,265$	$p=0,904$	$p=0,860$

\*: Spearman's korelasyon testi.

Ağrı skoru ile PDAK'ta NGF ve GDNF boyanma özellikleri arasında fark bulunmadı. Ayrıca ağrı skoru ile PanIN ve nontümöral pankreasta boyanma farklılığı yoktu ( $p>0,05$ ) (**Tablo 19,20**).

**Tablo 20.** PDAK olgularında ağrı skoru ile GDNF boyanma özellikleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması

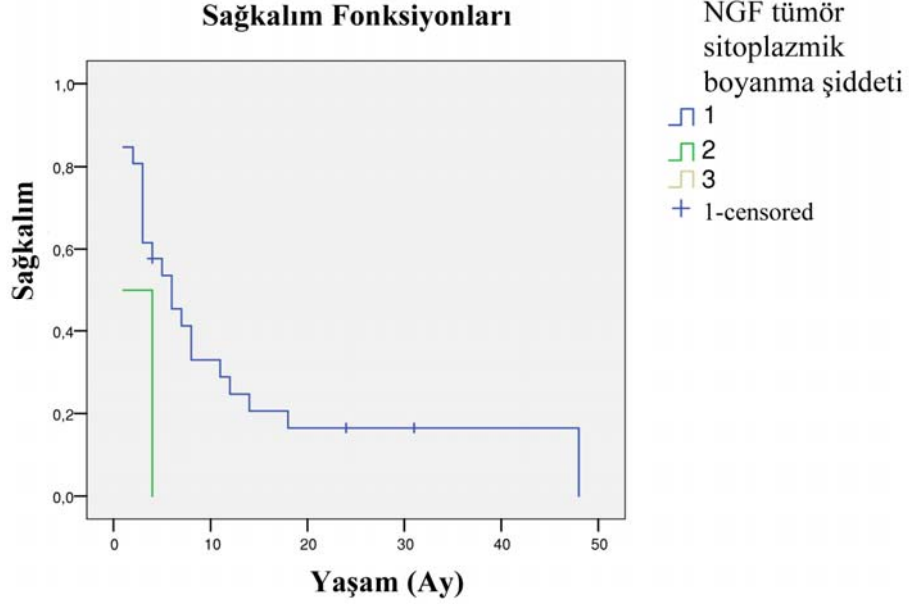
GDNF	PDAK'ta Boyanma Şiddeti (n: 33)	PDAK'ta Boyanma Yaygınlığı (n: 33)
Ağrı Skoru *	$r=0,012$	$r=-0,224$
	$p=0,947$	$p=0,209$

\*: Spearman's korelasyon testi.

PDAK tanısı alan olgularda, ağrı skoru ile PNI'nin histopatolojik olarak gösterilmesi arasında anlamlı ilişki görülmedi ( $p=0,361$ ).

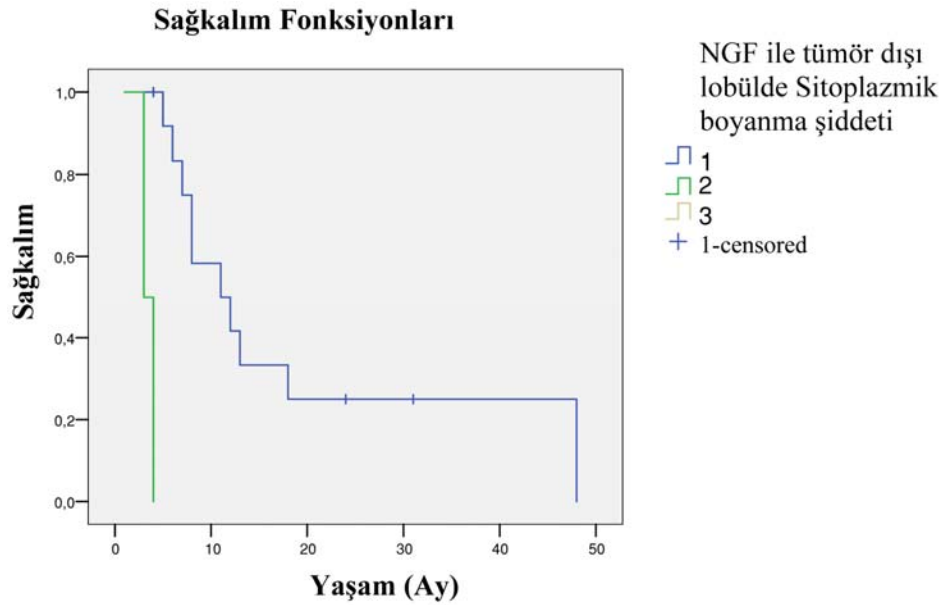
PDAK ve tümör dışı pankreas dokularında NGF ve GDNF pozitifliği arasında anlamlı ilişki görülmedi ( $p>0,05$ ).

PDAK'ta şiddetli NGF pozitifliği, kötü prognoz ile ilişkili saptandı. PDAK'ta zayıf NGF pozitifliği gösteren olgular daha uzun sağkalım gösterdi ( $p= 0,043$ ) (Şekil 26).



Şekil 26. PDAK'ta NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile sağkalım ilişkisi.

PDAK'lı olgularda, PDAK dışı pankreas lobülünde ( $p= 0,000$ ) ve duktuslarında ( $p= 0,001$ ) kuvvetli sitoplazmik NGF pozitifliği, kötü prognoz ile ilişkili bulundu (Şekil 27).



Şekil 27. Nontümöral pankreas lobülünde NGF sitoplazmik boyanma şiddeti ile sağkalım arasındaki ilişki.

Sağkalım yönünden, GDNF ile PDAK'ta kuvvetli boyanma daha kısa sağkalım göstermekle birlikte, istatistiki olarak anlamlı değildi ( $p= 0,217$ ). PanIN ve nontümöral dokuda GDNF boyanması ile sağkalım arasında ilişki görülmedi ( $p> 0,05$ ).



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

PDAK, dünyada en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 8. sıradadır (2). Türkiye’de Sağlık Bakanlığı 2005 yılı kanser istatistiklerine göre PDAK 100.000 kişide 1,6-2 arasında görülmektedir. En sık görülen kanser türleri içerisinde pankreas kanseri 12. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 11. sıradadır (24). Isparta ilinde en sık görülen kanser türleri içerisinde 13. sıradadır (25). En ölümcül kanserlerden biridir (22,23). Olguların %80’i 60-80 yaşları arasındadır. 40 yaşın altında çok nadir görülür (21). Daha genç yaşta ortaya çıkan PDAK erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülürken, ileri yaşlarda kadın erkek arasındaki fark ortadan kalkar ve görülme oranları eşitlenir (10,21).

Çalışmamızda olguların 13 (%39,4)’ü kadın, 20 (%60,6)’si erkekti. Olgular 42 ile 79 yaş aralığında dağılım göstermekte olup yaş ortalaması  $61,4 \pm 10,6$  olarak saptandı. 33 olgunun 23 tanesinde sigara içme öyküsü vardı. Isparta ilimizde PDAK’ın erkek olgularda kadın olgulara göre daha sık görüldüğünü tespit ettik.

Olguların üçte ikisinde pankreasın baş bölgesinde tümör tutulumu meydana gelerek safra kanalında ve sıklıkla pankreas kanalında da tıkanmaya neden olur (20).

PDAK’ta beş yıllık sağkalım oranı %5’in altında olup, rezeksiyon uygulanan olgularda bile bu oran %24’ün altındadır (80). Araştırmamıza dahil edilen PDAK’lı olgular, ortalama 9,4 ay (1-14) takip edildi. Olguların 28’inin (%84,8) öldüğü, 5’inin ise (%15,2) halen yaşadığı görüldü. Ölen PDAK’lı olguların tanıları konulduktan sonraki sağkalım süreleri ortalaması 6,9 ay (1-48) olarak tespit edildi. Halen yaşayan PDAK’lı olguların tanı aldıktan sonraki toplam sağkalım süreleri ortalaması ise 23,6 ay (4-31) bulundu. Pankreatektomi yapılanlarda biraz daha uzun yaşam süresi saptamamıza rağmen PDAK olgularımız literatürle uyumlu olarak kötü prognoza sahipti.

Rezeksiyondan sonra PDAK’ta kötü prognoz nedenleri arasında lokal rekürrens, karaciğer metastazı, lenf nodu metastazı, PNİ ve tedaviye kötü yanıt bulunmaktadır. PDAK’ta sık görülen PNİ, küratif rezeksiyonu sınırlar ve abdominal ağrı, retropankreatik tümör yayılımı ve kötü prognoza neden olur (80). Çalışmamızda pankreatektomi uygulanmış 17 olgudan 13 (%76,4)’ünde lenf nodu metastazı, 15

(%88,2)'inde PNİ, 9 (%52,9)'unda damar invazyonu görüldü. Ortalama tümör boyutu  $4,1 \pm 2,2$  cm olarak saptandı. Çalışmamızda tümör boyutu, damar invazyonu, lenf nodu metastazı ile sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p > 0,05$ ).

Çalışmamızda ayrıca literatürden farklı olarak PNİ, sağkalım ile ilişkili değildi ( $p = 0,849$ ).

Okusaka ve ark. (81) PDAK olgularının sağkalım süresinin ağrı şiddeti ile korele olup olmadığını çalışmış ve ağrısı olmayan olguların medyan sağkalım süresinin 29 ay; orta derecede ağrısı olanların medyan sağkalım süresinin 19 ay olduğunu ve şiddetli ağrısı olanların ise sadece medyan 9 ay yaşayabildiğini bulmuşlardır. Diğer bir deyişle, şiddetli ağrısı olan olgular, ağrısı olmayan olgularla karşılaştırıldığında istatistiki önemde daha kısa yaşamıştır. Ayrıca, intrapankreatik sinirlerin invazyonu karın ağrısı sıklığı ile korele iken, şiddetiyle korele değildir. Retroperitoneal doku ve ekstrapankreatik sinir pleksusunun invazyonu ve ayrıca PDAK'ın bulunduğu yer karın ağrısı ile ilişkili değildir. Bu nedenle, Okusaka ve ark. (81) rezeksiyona uygun PDAK'ı olan olgularda ağrının prognostik bir faktör olabileceği sonucuna varmışlardır. Çalışmamızda telefon ile olgular veya yakınları tarafından aldığımız bilgiler doğrultusunda ağrı kesiciye ihtiyacı olan PDAK'lı olguların daha kısa sağkalım süresine sahip olduğunu tespit ettik ( $p = 0,032$ ).

PDAK'ta PNİ kaynağını daha iyi anlayabilmek için ve sinir-kanser etkileşimini daha ayrıntılı ortaya koyabilmek için çeşitli nörotrofik faktörler incelenmiştir. NGF ve TrkA mRNA seviyeleri PDAK'ta önemli oranda artmıştır ve daha şiddetli ağrı ile ilişkilidir. NGF ve TrkA mRNA ekspresyonu, PNİ olan olgularda, PNİ olmayan olgulara göre daha yüksektir. Bu gözlemler, NGF/TrkA metabolik yolunun PDAK hücrelerinin intrapankreatik sinirler boyunca yayılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak, PDAK'ta NGF ve TrkA'nın aşırı ekspresyonu sadece sinir sistemini etkilemez, PDAK hücresi proliferasyonunu arttırarak kanser biyolojisini de etkiler (7).

GDNF, Artemin ve BDNF dahil, diğer nörotrofik faktörler de PDAK'ta aşırı eksprese edilir ve PDAK hücrelerinin invazyon yapma eğilimini arttırır (7). Çalışmamızda olguların 24 (%72,7)'ünde ağrı vardı. Ağrı skoru yüksek olan (2-3) olgularda sağkalımın ağrısı olmayan veya az olan (0-1) olgulara göre anlamlı şekilde

daha kısa olduğu bulundu ( $p=0,032$ ). Ağrı skoru ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit etmemize rağmen literatürden farklı olarak PNI ile sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,849$ ).

PDAK'ın mikroskopik, invaziv olmayan neoplastik epitelyal proliferasyonlar olan pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanIN'ler)'den geliştiği bilinmektedir. PanIN'lerin PDAK'a ilerlemesinde K-ras aktivasyonu, p16/CDKN2A tümör baskılayıcı genin inaktivasyonu ve TP53 ve DPC4/SMAD4 tümör baskılayıcı genlerin mutasyonla fonksiyon kaybı gibi genetik olaylar rol oynar (22). Çalışmamızda pankreas karsinomu komşuluğunda değişik derecelerde PanIN varlığı tespit edildi. Bu bulgular da pankreas kanseri gelişiminde PanIN'lerin öncü lezyon olduğu görüşünü desteklemektedir.

Ito ve ark. (47) 51 PDAK'lı olguda immünohistokimyasal yöntem ile GDNF ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında GDNF'nin güçlü şekilde eksprese olduğu bulunmuştur ve intrapankreatik nöral invazyonun GDNF ekspresyonu ile güçlü şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada duktal hücrelerde, tümör hücrelerinde ve sinirde (+) pozitif boyanma izlenirken asiner hücrelerde boyanma görülmemiştir. Ancak asiner hücrelerde GDNF reseptörü olan ret pozitifliği rapor etmişlerdir (47).

Çalışmamızda immünohistokimyasal yöntemle GDNF ve NGF'nin ekspresyonlarını ve bunların normal pankreas dokusu, PanIN ve PDAK'ta boyanma patternlerini değerlendirdik. Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak asiner hücrelerde pozitif boyanma görüldü.

PDAK'ın sinir invazyonu insidansı %45 -%100 arasında değişir (36). PDAK'ların yarısında kan damarı özellikle ven invazyonu görülmektedir (13). PDAK, retroperitoneal dokulara ve çeşitli lokal peripankreatik lenf nodu gruplarına erken yayılma gösterir. Bölgesel lenf nodlarının tutulumu olguların yüzde 50'sinde görülür ve para-aortik lenf nodlarının tutulumu olguların yaklaşık yüzde 10'unda görülür (21). Karaciğer metastazı sıklıkla akciğerlere, plevra ve kemiğe metastazları ileri evre tümörlerde görülür (21). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak, olguların %88,2'sinde PNI, %76,4'ünde lenf nodu metastazı ve tanı anında 16'sında (%48,6)

karaciğer, 2'sinde (%6) akciğer, 1'inde (%3) kemik metastazı olmak üzere toplam 19 (%57,6) uzak metastaz saptandı.

Pour ve ark. (82) çalışmalarında PDAK'ta (%88), intrapankreatik allogreftde %89 oranında PNİ bunu takiben lenfatik invazyon (%33) ve vasküler invazyonun (%2) olduğunu bulmuşlardır. Kayahara ve ark. (83) makroskopik açıdan kürativ rezeksiyon yapılmış PDAK ve hastalığı tekrarlamış 30 olguda rekürrens modelini incelemiştir. Postmortem incelemede lokal retroperitoneal rekürrens %80, karaciğer metastazı %66, peritoneal yayılım %53 ve lenf nodu rekürrensi %47 olarak bulunmuştur. 15 antemortem yapılan çalışmada, retroperitoneal rekürrens en sık izlenmiştir bunu karaciğer metastazı takip etmiştir (83).

PNİ, lenfatik veya vasküler invazyon olmadan da izlenebilir ve bazı tümörlerde metastatik yayılımın tek yoludur. Sinir invazyonu, orta perinöryumda PDAK hücrelerinin bulunması olarak tanımlanır (36). PDAK'taki PNİ, intrapankreatik sinirlerden başlayıp ekstrapankreatik nöral pleksusa yayılım yapabilir. PDAK'ta sinir invazyonu insidansının sıklığı, pankreatik ve çölyak arter sinir pleksusunun anatomik yakınlığı ile bir diğer olası neden olarak nörotropizm ile açıklanmaktadır (7).

Günümüzde PNİ'nin altında yatan moleküler mekanizmalar ile ilgili gelişmeler sınırlıdır. İn vitro çalışmalarda gösterilen nörit oluşumunda artış, aksonal migrasyonun PNİ'da anahtar rol oynayabileceğini ileri sürmektedir (7).

Aksonal gelişme nörotrofik büyüme faktörleri ve aksonal aracılı moleküllerin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Nöronal gelişim üzerine güçlü etkileri nedeniyle nörotrofinlerin PNİ yolağındaki olası rolleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Fonksiyonel olarak nörotrofik faktörlerin fizyolojik şartlar altında sinirlerin büyümesi ve proliferasyonunu stimüle ettiği ve patofizyolojik şartlar altında onarma ve rejenerasyonu uyardığı gösterilmiştir (7). NGF, BDNF, GDNF ve NT-3 gibi nörotropik faktörlerin pankreas kanserinde olası fonksiyonları ve ekspresyon patternleri çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır (84).

NGF ve onun yüksek afiniteli reseptörü TrkA'nın, embriyonik ve postnatal hayatta periferik ve santral sinirlerin gelişimi, yaşamını sürdürmesi, diferansiyasyonu

ve nörotransmitter düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu rapor edilmiştir (15,54,64,65,70).

NGF'nin mitojenik ve büyüme-inhibitör etkileri olduğu ile ilgili pek çok tümör çeşidinde çalışma yapılmıştır. NGF ailesinden NGF- $\beta$ 'nin meme kanseri, prostat kanseri ve hepatoselüler karsinomun başlangıç ve ilerlemesinde rol oynadığı bildirilmiştir (85). NGF aşırı ekspresyonunun baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunda lenf nodu metastazı, uzak metastaz, yüksek TNM evresi ve kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (86).

PDAK'ta NGF- $\beta$  aşırı ekspresyonunun tümör hücrelerinin apoptozisini engellediği ve PNİ ile korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür (85). Zhu ve ark. (72) immünopresipitasyon ve Western Blot teknikleri kullanarak PDAK hücre dizilerinde NGF ile aktive olmuş TrkA ve p75NGFR gen ekspresyonu ile ilgili proteinleri bulmuşlardır.

PDAK'ta NGF'nin rolünü araştıran bir diğer çalışmada PNİ yapmış PDAK örneklerinde PNİ yapmamış olanlara göre belirgin bir fark bulunmuştur (45,72). Ağrısı olan olgularda olmayanlara göre belirgin derecede yüksek NGF tespit edilmiştir (72).

PNİ olup daha kötü prognozlu olması muhtemel olan bu gruba tedavide adjuvan tedavi, aort ve vena kava boyunca retroperitoneal sinir dokusu rezeksiyonunu içeren agresif cerrahi girişim tavsiye edilir. Ağrı da NGF ve TrkA ile ilişkili olduğu için bunları hedef alan tedavilerde ağrı azaltılabilir. Özet olarak, NGF/TrkA sistemi PDAK hücrelerinin sinir infiltrasyonu ve ağrı için kritiktir (72). Zhu ve ark. (72) yapmış oldukları çalışmalarda PNİ nedeni olarak PDAK hücrelerinin sitoplazmalarında NGF'nin güçlü bir şekilde gösterilmesi ve pankreas sinirlerinin perinöryumunda TrkA'nın yüksek oranda bulunmasını ileri sürmüşlerdir. Schneider ve ark. (70) ise NGF'nin sinir dokusu tarafından kemotaktik bir faktör gibi üretildiğini göstermiştir. PDAK hücrelerindeki NGF immünoreaktivitesi yoğun olup (%82,4), sinir dokusunda ise sadece orta seviyede saptanmıştır. Bu durumlar, PDAK'ta, NGF'nin doğrudan PDAK hücrelerince salgılanıyor olabileceği hipotezini desteklemektedir (4).

Zhu ve ark. (6) parakrin ve/veya otokrin şekilde NGF ile arttırılmış PDAK hücre büyümesi ve invazyonunu in vivo göstermişlerdir. Yapılan bir çalışma PDAK hücrelerinin yüksek immünoaktivite ve pozitif NGF oranı, NGF'nin otokrin şekilde PDAK gelişimini harekete geçirmesinin yanı sıra, PDAK hücrelerinin de parakrin mekanizmalarıyla sinirlerin büyümesini stimüle ettiğine işaret etmektedir (4). Ayrıca, NGF'nin melanositlerde kemotaksiyi tetiklemesi gibi PDAK hücrelerince üretilen NGF sinirler için de kemotaksis görevi görebilir ve sinirsel büyüme ile PDAK hücrelerine teması kolaylaştırabilir (4). Bunun karşılığında, PDAK hücrelerince üretilen NGF'nin devam eden etkileri altındaki genişlemiş ve çoğalmış pankreas sinirleri PDAK hücrelerine eğilimli olur. Bütün bunlar nöroepitelyal etkileşim ile yaratılan mikroçevrede PNİ başlamasına neden olabilir (6,87). Çalışmamızda olguların %100'ünde NGF ekspresyonu bulundu. NGF ekspresyonu ile ağrı skoru ve PNİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilemedi ( $p>0,05$ ).

Yapılan çalışmalarda NGF aşırı ekspresyonunun çeşitli kanser hücrelerinin invazivliğini artırdığı ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (86). Çalışmamızda NGF ekspresyonunun sağkalım ile ilişkili olduğu, NGF ekspresyonunun yüksek olduğu olgularda ekspresyonun düşük olduğu olgulara göre sağkalım süresinin daha kısa olduğu tespit edildi ( $p=0,043$ ). Ayrıca çalışmamızda tümöre komşu pankreas lobül ve duktuslarında kuvvetli NGF (+) pozitifliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptadık ayrıca tümör derecesi arttıkça tümöre komşu PanIN alanlarında NGF ile daha yaygın boyanma saptadık ( $p=0,013$ ). Tümör dışı nedenlerle pankreas biyopsisi yapılan olgularda NGF ekspresyonu tümörlü olguların nontümöral pankreaslarında izlenene göre istatistiki olarak önem göstermesede daha zayıf boyanmalar gösterdi ( $p>0,05$ ). Bu bulgu pankreas karsinogenezinin erken safhalarında NGF'nin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Dopaminerjik nöronların büyümesi ve diferansiyasyonunda etkili olan bir protein olarak tanımlanan GDNF, bir nörotrofik faktördür. (45,46,47). GDNF'nin santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminde pek çok nöronun gelişiminde, enterik sinir sisteminin gelişiminde, böbrek morfogenezinde ve spermatogenezin düzenlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (45,48,49). GDNF glial hücrelerde sentezlenir ve gliomlar ve diğer kanserlerin gelişimi ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür (88). Son çalışmalar GDNF'nin kromafin hücreler, PDAK, safra yolları

karsinomu ve nöroblastom mitogenezinde rolü olduğunu göstermiştir (88). PDAK ve diğer kanserlerde kanser hücre proliferasyonu, karsinogenez ve nörokanser etkileşimde rol oynadığı belirtilmiştir (80).

Okada ve ark. (44) GDNF nin PDAK hücreleri üzerinde kemokinetik etkileri olduğunu, PDAK hücrelerinin çölyak ganglion invazyonuna yönlendirildiğini saptamıştır, birçok PDAK hücre soylarında c-ret protoonkogeninin aşırı eksprese edildiğini bulmuşlardır. Bu gen ürünü, reseptör-tirozin kinaz süper ailesinin bir üyesi olarak GDNF reseptörüdür. Yazarlar, PDAK hücrelerinin spesifik sinir invazyonunun GDNF'nin reseptörü olan c-ret protoonkogen ürünü ile etkileşimi sonucu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Yaptıkları in vitro invazyon analizleri, tüm pankreas hücre soylarının hem birlikte kültüre edilen nöroblastom hem de GDNF eksprese eden ve üreten glioblastoma hücrelerine göç ettiğini göstermiştir. Ayrıca, kültüre edilmiş glioblastom ve nöroblastom hücrelerinden oluşan uygun ortamda uyarılan göç yanıtı nedeninin anti-GDNF olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ancak yazarlar anti-GDNF antikorunun eklenmesinin, PDAK hücrelerinin glioblastom ve nöroblastomda uygun ortamda uyarılan göç yanıtının tümüyle inhibe edilmesine neden olabileceğine işaret etmektedirler (44). Iwahashi ve ark. (89) safra kanalı kanserlerinde GDNF ekspresyonunun nöral invazyon ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Ben ve ark. (80) çalışmalarında 94 PDAK olgusunda immünohistokimyasal yöntemle L1 hücre adezyon molekülü (L1-CAM) ve GDNF ekspresyonlarının nöral invazyon ile ilişkisini değerlendirmiştir. Olguların 34 (%36,2)'ünde L1-CAM, 57 (%60,6)'sinde GDNF aşırı ekspresyonu saptanmıştır. L1-CAM ve GDNF ekspresyonları ile cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu ve diferansiyasyonu arasında korelasyon bulunmamıştır. Bununla birlikte PNI ile L1-CAM ve GDNF ekspresyonları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular eşliğinde L1-CAM ve GDNF'nin PNI sürecinde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Çalışmada L1-CAM ekspresyonu ağrı skoru ile anlamlı şekilde korelasyon gösterirken GDNF ekspresyonu ile korelasyon saptanmamıştır. L1-CAM ve GDNF negatif grupta ortalama sağkalım süresinin L1-CAM ve GDNF pozitif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun olduğu bulunmuştur. Çalışmanın

sonucu olarak L1-CAM ve GDNF bağımsız prognostik faktörler olarak saptanmıştır (80).

Çalışmamızda pankreas kanserli olguların tamamında (%100) GDNF ile değişik şiddet ve yaygınlıkta sitoplazmik boyanma tespit edildi. Tümörde GDNF aşırı ekspresyonu ile cinsiyet, yaş, tümör diferansiyasyonu, PNI, vasküler invazyon, tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve ağrı skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ). Bununla birlikte tümöre komşu PanIN'de GDNF ekspresyonu PDAK evresi arttıkça boyanma şiddeti artmaktaydı, aralarındaki bu ilişki orta güçlü düzeyde ve anlamlı bulundu ( $r=0,560$ ,  $p=0,016$ ). Ayrıca tümör boyutu arttıkça tümöre komşu PanIN'de GDNF ile boyanma şiddeti artmaktaydı, aralarındaki bu ilişki orta güçlü düzeyde ve anlamlı bulundu ( $r=0,584$ ,  $p=0,011$ ).

Çalışmamızda normal pankreasda GDNF'nin aşırı eksprese edildiği, PanIN ve tümöre doğru gidildikçe bu ekspresyonun azaldığı tespit edildi.

Çalışmamızda pankreas kanserinde yaygın GDNF ve NGF ekspresyonları saptamamıza rağmen boyanma şiddet ve yaygınlıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p>0,05$ ). Bu sonuç bize GDNF ve NGF'nin farklı mekanizmalar aracılığı ile etki ettiğini düşündürmektedir.

PDAK'ta, PNI için katkıda bulunan mekanizmalar hâlâ tam olarak anlaşılammıştır. Adezyon molekülleri, nörotrofik faktörler ve büyüme faktörlerinin etkileri araştırılmıştır. Nöral invazyonu tetikleyen ve artıran moleküllerin araştırılması PDAK'ın invazyon ve metastazını engellemek için yeni hedefler oluşturabilir (80).

Sonuç olarak GDNF ve NGF'nin PDAK'ın klinik davranışında etkileri olabilir. Bizim çalışmamız az sayıda vakayı içeren retrospektif bir çalışmadır. GDNF ve NGF'nin PDAK gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmalarının daha ileri çalışmalarla araştırılmasının hastalığın prognozunu belirlemesi, erken tanı ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde katkıda bulunacağı kanısındayız.



## ÖZET

### **Pankreasın İnfiltratif Duktal Adenokarsinomlarında Nerve Growth Factor ve Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor Ekspresyonunun Perinöral İnvazyon ve Prognostik Faktörler ile İlişisinin Araştırılması**

Pankreasın infiltratif duktal adenokarsinomu (PDAK), en ölümcül kanserlerden biridir.

Çalışmamızda NGF ve GDNF'nin PDAK ve öncü lezyonlardaki ekspresyonu ve bu belirleyicilerin klinikopatolojik özellikler ve prognoz üzerine etkisini incelemeyi amaçladık. Araştırmamıza 2003- 2010 yılları arasında SDÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 33 PDAK alındı.

PDAK komşuluğunda 18 olguda PanIN varlığı tespit edildi.

Çalışmaya dahil edilen pankreatektomi uygulanmış 17 olgudan 13 (%76,4)'ünde lenf nodu metastazı, 15 (%88,2)'inde PNI, 9 (%52,9)'unda damar invazyonu görülmüştür. Olguların 24 (%72,7)'ünde ağrı vardı. Çalışmamızda ağrı skoru yüksek olan (2-3) olgularda sağkalımın ağrısı olmayan veya az olan (0-1) olgulara göre anlamlı şekilde daha kısa olduğu bulundu ( $p=0,043$ ). Ağrı skoru ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit etmemize rağmen literatürden farklı olarak PNI ile sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ).

NGF ekspresyonunun yüksek olduğu olgularda ekspresyonun düşük olduğu olgulara göre sağkalım süresinin daha kısa olduğu tespit edildi. Tümöre komşu pankreas lobül ve duktuslarında kuvvetli NGF (+) pozitifliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptadık ve tümör derecesi arttıkça tümöre komşu PanIN alanlarında NGF ile daha yaygın boyanma saptadık.

GDNF aşırı ekspresyonunun tümör evresi ile ilişkili olduğunu ( $p=0,016$ ), ileri evre tümörlerde GDNF ekspresyonunun arttığını tespit ettik. Tümörde GDNF ekspresyonundaki artışın daha düşük sağkalım gösterdiği fakat bunun istatistiki olarak anlamlı olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ).

Çalışmamızda normal pankreasda GDNF'nin aşırı eksprese edildiği, PanIN ve tümöre doğru gidildikçe bu ekspresyonun azaldığı tespit edildi. Çalışmamızda PDAK'ta yaygın GDNF ve NGF ekspresyonları saptamamıza rağmen boyanma şiddet ve yaygınlıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p>0,05$ ). Bu sonuç bize GDNF ve NGF'nin tümörde farklı etki ettiğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** İmmünohistokimya, pankreas infiltratif duktal adenokarsinom, nerve growth factor, glial cell-derived neurotrophic factor

## SUMMARY

### **Investigating the relationship of Nerve Growth Factor and Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor with Perineural Invasion and Prognosis at Pancreatic Infiltrative Ductal Adenocarcinoma**

Pancreatic infiltrative ductal adenocarcinoma (PDAC), has very high mortality rate.

In our study, we examine the expressions of NGF and GDNF in PDAC and precursor lesions. We aimed to investigate the effects of these markers on clinicopathologic features and prognosis. Our cohort consisted of 33 patients with PDAC who were diagnosed at the pathology department of Medical Faculty of University of SD between 2003-2010.

PanIN was found next to the PDAC in 18 cases.

Seventeen patients had pancreatectomy 13 (% 76,4) of them had lymph node metastasis, 15(%88,2) had perineural invasion (PNI), 9(%52,9) of them had vascular invasion. Twenty four (%72,7) of the patients had pain. In our study, the patients who had high scores of pain (2-3) had less survival rates than patients who didn't have pain or had low scores of pain (0-1). Although we detected a significant relationship between pain score and survival, we didn't find a significant relationship between PNI and survival contrary to the previous reports ( $p>0,05$ ).

The cases that had high rates of NGF expression had shorter survival. We found that high positive of expression of NGF in the pancreatic lobes and ducts next to the PDAC was related with poor prognosis. There was a positive correlation with NGF nuclear immunoreactivity in PanIN and the grade of PDAC.

We found a relationship between GDNF overexpression and tumor stage ( $p=0,016$ ). Advanced stages of tumors have high GDNF expression rates. High GDNF expressing tumors had worse survival but this was not statistically significant ( $p>0,05$ ).

In normal pancreatic tissue there was overexpression of GDNF and this overexpression was decreasing from PanIN to PDAC. In our study we detected diffuse expressions of GDNF and NGF in PDAC, but there was no significant relationship between intensity extend of staining ( $p>0,05$ ). We can conclude that GDNF and NGF have different effects on tumor.

**Keywords:** Immunohistochemistry, pancreatic infiltrative ductal adenocarcinoma, nerve growth factor, glial cell-derived neurotrophic factor

## KAYNAKLAR

1. Hruban RH, Wilentz RE. Pankreas. Sav A, Özdamar ŞO ed. Robbins ve Cotran Hastalığın Patolojik Temeli, 7.baskı, Ankara, Güneş tıp kitabevleri, 2009;939-952.
2. Anderson KE, Mack T, Silverman D. Cancer of the pancreas. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF ed. Cancer epidemiology and prevention, New York, Oxford University,2006;721-762.
3. Dai H, Li Rile, Wheeler T, Ozen M, Ittmann M, Anderson M, et al. Hum Pathol 2007;38:299-307.
4. Ma J, Jiang Y, Jiang Y, Sun Y and Zhao X. Expression of growth factor and tyrosine kinase receptor A and correlation with perineural invasions in pancreatic cancer. J Gastroenterol Hepatol 2008;23:1852-1859.
5. Fiore M, Mancinelli R, Aloe L, Laviola G, Sornelli F, Vitali M, et al. Hepatocyte growth factor, vascular endothelial growth factor, glial cell-derived neurotrophic factor and nevre growth factor are differentially affected by early chronic ethanol or red wine intake. Toxicol Lett 2009;188:208-213.
6. Zhu Z, Kleeff J, Kayed H, Wang L, Kroch M, Büchler W, et al. Nevre growth factor and enhancement of proliferation, invasion, and tumorigenicity of pancreatic cancer cells. Mol Carcinog 2002;35:138-147.
7. Ceyhan GO, Michalski CW, Demir İE, Müller MW, Friess H. Pancreatic pain. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2008;22(1):31-44.
8. Arıncı K, Elhan A. İç organlar. Anatomi 1. cilt, Ankara, Güneş kitabevi, 2001;261-265.
9. Moore KL, Dalley AF. Abdomen, Clinically oriented anatomy. USA, Lippincot Williams and Wilkins, 1999;257-261.
10. Safalı M. Pankreas patolojisi. Mocan Kuzey G ed.Temel Patoloji, Ankara, Güneş kitabevi, 2007;517-524.
11. Dere F. Abdominopelvik organlar. Anatomi atlası ve ders kitabı. Adana, Nobel tıp kitabevi, 1999;948-953.
12. Klimstra DS, Hruban RH, Pitman MB. Pancreas. Mills SE ed. Histology for pathologists. USA, Lippincott Williams and Wilkins, 2007;723-752.
13. Rosai J Pancreas and ampullar region. Rosai and Ackerman's surgical pathology. China, Elsevier, 2004;1061-1073.
14. Arıncı K, Elhan A. İç organlar. Anatomi. 1. cilt, Ankara, Güneş kitabevi, 2006:261-265.
15. Friess H, Zhu ZW, Dimola FF, Kulli C, Graber HU, Sandberg AA, et al. Nevre growth factor and its high-affinity receptor in chronic pancreatitis. Ann Surg 1999;230(5):615-624.
16. Sadler TW. Development of the gastrointestinal tract. Langman's medical embryology. China, Lippincott Williams and Wilkins, 2010;222-223.
17. Kockel L, Storm A, Delacour A, Nepote V, Hagenbüchle O, Wellauer PK et al. An amylase/cre transene marks the whole endoderm but the primordia of liver and ventral pancreas. Genesis 2006;44:287-296.
18. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Development of the gastrointestinal tract. Larsen's human embryolog. China, Elsevier, 2009;450-452.

19. Aytekin Y, Solakoğlu S ed. Sindirim kanalına bağlı bezler. Temel histoloji, Ankara, Nobel tıp kitabevi, 2006;328-331.
20. Pour P.M ,Pandey K.K,Batra S.K.What is the origin of pancreatic adenocarcinoma?. Mol Cancer 2003;2(13):1-10.
21. Klöppel G, Klimstra D. Tumors of the exocrine pancreas. In: Fletcher CDM ed. Diagnostic histopathology of tumors, China, Elsevier, 2007;463-470.
22. Prasad SKR, Zeng R, Smyrk TC. Epidemiology and genetics of pancreatic cancer. Pathology of pancreatic neoplasms. In: Reznik RH ed. Pancreatic cancer, New York, Cambridge University,2009;1-17.
23. Layfield LJ, Jarboe EA. Cytopathology of the pancreas: neoplastic and nonneoplastic entities. Ann Diagn Pathol 2010;14:140-151.
24. Eser SY. Türkiye’de kanser insidansı. Tuncer AM ed. Türkiye’de kanser kontrolü, Koza Matbaacılık, Ankara, 2009; 45-50.
25. Çiriş İ, Bozkurt K, Aydoğan B, İnan G, Sert S, Karahan N, et al. Cancer incidence in the city of Isparta. 17. ulusal patoloji kongresi özet kitabı, İstanbul, 2007;27.
26. Malats N, Porta M, Corominas JM, Pinol JL, Rifa J and Real FX Ki-ras Mutations in exocrine pancreatic cancer:association with clinico-pathological characteristics and with tobacco and alcohol consumption . Int J Cancer 1997;70:661-667.
27. Şahin F, Taşpınar M, Sunguroğlu A. Pankreatik kanserin moleküler patogenezi. Türk Klin J Med Sci 2007;27:560-566.
28. Bhanot U and Möller P. Mechanisms of parenchymal injury and signaling pathways in ectatic ducts of chronic pancreatitis:implications for pancreatic carcinogenesis. Lab Invest 2009;89:489-497.
29. Elghazi L, Weiss A.J, Barker D.J, Callaghan J, Staloch L, Sandgren EP, et al. Regulation of pancreas plasticity and malignant transformation by akt signaling. Gastroenterology 2009;136(3):1091-1103.
30. Hruban RH, Adsay NV. Molecular classification of neoplasms of the pancreas. Hum Pathol 2009;40:612-623.
31. Jones J, Zhang X, Parsons D.W, Cheng J,Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. Science 2008;321(5897):1801-1806.
32. Hamilyon SR, Aaltonen LA. Tumours of the exocrine pancreas. WHO of tumours. Pathology & genetics. Tumours of the digestive system. IARC, Lyon, 2000;221-230.
33. Lyszka L, Zielinska E, Pajak J, Golka D. Colloid carcinoma of the pancreas: review of selected pathological and clinical aspects. Pathology 2008;40(7):655-663.
34. Lauenstein T.C, Martin DR, Sarmiento JM, Kalb B, Moreira R, Carew J, et al. Pancreatic adenocarcinoma tumor grade determination using contrast-enhanced magnetic resonance imaging. Pancreas 2010; 39( 1):71-79.
35. Adsay NV, Basturk O, Bonnett M, Kilinc N, Andea AA, Feng J, et al. A proposal for a new and more practical grading scheme for pancreatic ductal adenocarcinoma. Am J Pathol 2005;29:724-733.
36. Liu B and Lu KY. Neural invasion in pancreatic carcinoma. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2002;1(3):469-476.

37. Nakao A, Harada A, Nonami T, Kaneko T, Takagi H. Clinical significance of carcinoma invasion of the extrapancreatic nerve plexus in pancreatic cancer. *Pancreas* 1996;12(4):357-361.
38. Takahashi T, Isshikura H, Motohara T, Okushiba S, Dohke M, Katoh H. Perineural invasion by ductal adenocarcinoma of the pancreas. *J Surg Oncol* 1997;65:164-170.
39. Suzuki M, Takahashi T, Ouchi K. Perineural tumor invasion and its relation with the lymphogenous spread in human and experimental carcinoma of bile duct. A computer aided 3-D reconstruction study. *Tohoku J Exp Med* 1994;172:17-28.
40. Kenmotsu M, Gochi A, Ishii H. Relationship between perineural invasion and local recurrence of rectal carcinoma: a preliminary study with immunohistochemical staining with anti-NCAM: preliminary report. *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 1990;91:1759-1763.
41. Kayahara M, Nagakawa T, Futagami F. Lymphatic flow and neural plexus invasion associated with carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Cancer* 1996;78:2485-2491.
42. Takahashi T, Ishikura H, Kato H. Intrapankreatic, extratumöral perineural invasion. An indicator for the presence of retroperitoneal neural plexus invasion by pancreas carcinoma. *Acta Pathol Jpn* 1992;42:99-103.
43. Doğan AL, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Derg* 2004;35:34-42.
44. Okada Y, Takeyama H, Sato M, Morikawa M, Sobue K, Asai K, et al. Experimental implication of celiac ganglionotropic invasion of pancreatic cancer cells bearing c-ret proto-oncogene with reference to glial cell line-derived neurotrophic factor. *Int J Cancer* 1999;81:67-73.
45. Veit C, Genze F, Menke A, Hoeffert S, Gress TM, Gierschik P, et al. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase is required for glial cell line-derived neurotrophic factor-induced migration and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res* 2004;64:5291-5300.
46. Funahashi H, Okada Y, Sawai H, Takahashi H, Matsuo Y, Takeyama H, et al. The role of glial cell line-derived neurotrophic factor and integrins for invasion and metastasis in human pancreatic cancer cells. *J Surg Oncol* 2005;91:77-83.
47. Ito Y, Okada Y, Sato M, Sawai H, Funahashi H, Murase T, et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor family members and their receptors in pancreatic cancers. *Surgery* 2005; 138:788-794.
48. Zeng Q, Cheng Y, Zhu Q, Wu X, Huang K, et al. The relationship between overexpression of Glial cell-derived Neurotrophic Factor and its RET receptor with progression and prognosis of human pancreatic cancer. *J Int Med Res* 2008;36:656-664.
49. Şahinkanat T, Okur N, Atnalı böbreğe eşlik eden aksesuar böbrek: ender bir oluşum. *Türk Ürol Derg* 2007;33(3):372-374.
50. Ceyhan GO, Giese NA, Erkan M, Kerscher AG, Wente MN, Giese T, et al. The neurotrophic factor artemin promotes pancreatic cancer invasion. *Ann Surg* 2006;244:274-281.
51. Doxakis E, Davies AM. Retinoic acid negatively regulates GDNF and neurturin receptor expression and responsiveness in embryonic chicken sympathetic neurons. *Mol Cell Neurosci* 2005;29:617-627.

52. Iwahashi N, Nagasaka T, Tezel G, Iwashita T, Asai N, Murakumo Y, et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor correlates with perineural invasion of bile duct carcinoma. *Cancer* 2002;94:167-174.
53. Srinivasan S, Anitha M, Mwangi S, Heuckeroth RO. Enteric neuroblasts require the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/forkhead pathway for GDNF-stimulated survival. *Mol Cell Neurosci* 2005;29:107-119.
54. Okada Y, Eibl G, Guha S, Duffy JP, Reber HA, Hines OJ. Nerve growth factor stimulates MMP-2 expression and activity and increases invasion by human pancreatic cancer cells. *Clin Exp Metastasis* 2004;21:285-292.
55. Airaksinen MS, Titievsky A, Sarma M GDNF family neurotrophic factor signaling: four masters, one servant? *Mol Cell Neurosci* 1999;13:313-325.
56. Nishino J, Mochida K, Ohfuji Y, Simazaki T, Meno C, Ohishi S, et al. GFR alpha3, a component of the artemin receptor is required for migration and survival of the superior cervical ganglion. *Neuron* 1999;23:725-736.
57. Anders R, Forgie A, Wyatt S, Chen Q, de Sauvage FJ, Davies AM. Multiple effects of artemin on sympathetic neurone generation, survival and growth. *Development* 2001;128:3685-3695.
58. Buj Bello A, Buchman VL, Horton A, Rosenthal A, Davies AM. GDNF is an age specific survival factor for sensory and autonomic neurons. *Neuron* 1995;15:821-828.
59. Doxakis E, Wyatt S, Davies AM. Depolarisation causes reciprocal changes in GFR $\alpha$ 1 and GFR $\alpha$ 2 receptor expression and shifts responsiveness to GDNF and neurturin in developing neurons. *Development* 2000;127:1477-1487.
60. Forie A, Doxakis E, Buj Bello A, Wyatt S, Davies AM. Differences and developmental changes in the responsiveness of PNS neurons to GDNF and neurturin. *Mol Cell Neurosci* 1999;13:430-440.
61. Kotzbauer PT, Lampe PA, Heuckeroth RO, Golden JP, Creedon DJ, Johnson EMJ. Neurturin, a relative of glial cell line derived neurotrophic factor. *Nature* 1996;384:467-470.
62. Trup M, Ryden M, Jornvall H, Funakoshi H, Timmusk T, Arenas E, Ibanez CF. Peripheral expression and biological activities of GDNF a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *J Cell Biol* 1995;130:137-148.
63. Zhu Z, Friess H, Wang L, Bogardus T, Kore M, Kleeff J, Büchler W. Nerve growth factor exerts differential effects on the growth of human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2001;7:105-112.
64. Faydacı G, Tarhan F, Gül AE, Erbay E, Kuyumcuoğlu U. Mesane çıkım obstrüksiyonunda nerve growth factor reseptörünün rolü. *Türk Ürol Derg* 2004;30(1):72-79.
65. Bayar M, Özer B, Beştaş A, Çeribaşı S, Özercan İ. Effects of anti-NGF on apoptosis in rats with experimentally induced sepsis model. *Türk Klin Med Sci* 2010;30(4):1127-33.
66. Huang F, Liu Q, Zhang L, Zhang X, Zhao D, Li Z et al. Neuroprotective effects of NGF combined with GM1 on DRG and spinal cord neurons in sciatic nerve injured rats. *J Neurosci* 2010;27(2):160-169.
67. Berker E. Nöropatik ağrı ve fizyopatolojik mekanizmalar. *Türk Fiz Rehab Derg* 2005;51:1-5.

68. Dang C, Zhang Y, Ma Q, Shimahara Y. Expression of nerve growth factor receptors is correlated with progression and prognosis of human pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21:850-858.
69. Trim N, Morgan S, Evans M, Issa R, Fine D, Afford S, et al. Hepatic stellate cells Express the low affinity nerve growth factor receptor p75 and undergo apoptosis in response to nerve growth factor stimulation. *Am J Pathol* 2000;156(4):1235-1243.
70. Schneider MB, Standop J, Ulrich A, Wittel U, Friess H. Expression of nerve growth factors in pancreatic neural tissue and pancreatic cancer. *J Histochem Cytochem* 2001;49:1205-1210.
71. Işık A. Ağrının fizyopatolojisi. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg* 2005;51:B8-B13.
72. Zhu Z, Friess H, Dimola FF, Zimmermann A, Graber HU, Korc M, et al. Nerve growth factor expression correlates with perineural invasion and pain in human pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 1999;17(8):2419-2428.
73. Saftoiu A, Vilmann, P. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis and staging of pancreatic cancer. *J Clin Ultrasound* 2009;37:1-17.
74. Torer N, Kayaselçuk F, Nursal TZ, Yıldırım S, Tarım A, Noyan T, et al. Adhesion molecules as prognostic markers in pancreatic adenocarcinomas. *J Surg Oncol* 2007;96:419-423.
75. Mitsunaga S, Hasebe T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, et al. Detail histologic analysis of nerve growth plexus invasion in invasive ductal carcinoma of the pancreas and its prognostic impact. *Am J Surg Pathol* 2007;31:1636-1644.
76. Hirai I, Kimura W, Ozawa K, Kudo S, Suto K, Kuzu H, et al. Perineural invasion in pancreatic cancer. *Pancreas* 2002;24( 1):15-25.
77. Eitt C, McIlwrath S.L, Lawson J.J, Malin SA, Molliver DC, Cornuet PK, et al. Artemin overexpression in skin enhances expression of TRPV1 and TRPA1 in cutaneous sensory neurons and leads to behavioral sensitivity to heat and cold. *J Neurosci* 2006;26(33):8578-8587.
78. Malin SA, Molliver DC, Koerber HR. Glial cell line-derived neurotrophic factor family members sensitize nociceptors in vitro and produce thermal hyperalgesia in vivo. *J Neurosci* 2006;26:8588-8599.
79. Bockman DE, Buchler M, Beger HG. Interaction of pancreatic ductal adenocarcinoma with nerves leads to nerve damage. *Gastroenterology* 1994;107:219-230.
80. Ben QW, Wang JC, Liu J, Zhu Y, Yun F, Yao WY. Positive expression of L1-CAM is associated with perineural invasion and poor outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2010;17:2213-2221.
81. Okusaka T, Okada S, Ueno H. Abdominal pain in patients with resectable pancreatic cancer with reference to clinicopathologic findings. *Pancreas* 2001;22:279-284.
82. Pour PM, Egami H, Takiyama Y. Patterns of growth and metastases of induced pancreatic cancer in relation to the prognosis and its clinical implications. *Gastroenterology* 1991;100:529-536.
83. Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, Oht T, Takeda T and Miyazaki I. An evaluation of radical resection for pancreatic cancer based on the mode of recurrence as determined by autopsy and diagnostic imaging. *Cancer* 1993;72:2118-23.
84. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer. *Cancer* 2009;115:3379-3391.

85. Xu L, Liu C, Gao G, Yu X, Zhang R, Wang J. Nerve growth factor- $\beta$  expression is associated with lymph node metastasis and nerve infiltration in human hilar cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2010;34:1039-1045.
86. Li H, Nang X, Chen Q, Yang Y, Li J, Li Y. Nerve growth factor and vascular endothelial growth factor: retrospective analysis of 63 patients with salivary adenoid cystic carcinoma. *Int J Oral Sci* 2010;2(1):35-44.
87. Yang G, Wheeler TM, Kattan MW. Perineural invasion of prostatic carcinoma cells is associated with reduced apoptotic index. *Cancer* 1996;78:1267-1271.
88. Hoe W, Wan GQ, Peng ZN, Too HP. Glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF) family of ligand confer chemoresistance in a ligand-specific fashion in malignant gliomas. *J Clin Neurosci* 2009;16:427-436.
89. Iwahashi N, Nagasaka T, Tezel G, Iwashita T, Asai N, Murakumo Y, et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor correlates with perineural invasion of bile duct carcinoma. *Cancer* 2002;94:167-174.